

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ЗАЩИТА СЕРДЦА ОТ ИШЕМИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ: РОЛЬ СТРЕСС-ЛИМИТИРУЮЩИХ СИСТЕМ И СТАБИЛИЗАЦИИ СТРУКТУР МИОКАРДА

Меерсон Ф. З.

В течение последних десяти лет увеличился спектр фармакологических средств, применяемых для лечения сердца и сосудов. Однако, фармакологическая профилактика тех же заболеваний довольно ограничена и не всегда удачна. В связи с этим, быстро развивается адаптационная профилактика и терапия сердечно-сосудистых заболеваний. Это направление науки и практики опирается на известное теперь положение о перекрестном защитном эффекте адаптации [2, 3, 5, 14], который состоит в том, что адаптация к определенному фактору повышает не только устойчивость к нему, но также защищает от многих других факторов и болезней. Так, адаптация к умеренным систематическим физическим нагрузкам уменьшает атерогенные нарушения липидного обмена [24, 28], улучшает функцию сердца при ишемической болезни [21, 25] и даже после перенесенного инфаркта миокарда [1]. Интенсивные физические тренировки заметно тормозят развитие сахарного диабета [29], а ходьба сдерживает развитие аденомы предстательной железы и т.д.

Впервые использованная в нашей стране адаптация к умеренной периодической гипобарической гипоксии в гипобарокамерах оказалась эффективным терапевтическим средством при аритмиях [10], при тяжелых неврозах, параноидной форме шизофрении [6] и, вместе с тем, при таких аллергических заболеваниях, как бронхиальная астма у детей и взрослых [17], аллергодерматозы и аутоиммунный тиреоидит [18, 19]. Методики и механизм терапевтических эффектов адаптации к двум упомянутым факторам рассмотрен нами в отдельных монографиях [3, 5, 17, 30].

В этой статье мы рассмотрим возможности защиты сердца путем предварительной адаптации организма к повторным умеренным стрессорным воздействиям, механизмы этой защиты и перспективу ее использования на практике.

Стресс-лимитирующие системы

Само выражение “защитные эффекты адаптации к стрессу” может вызвать недоумение, т.к. у стресса плохая репутация. Известно, что сильный стресс, обусловленный безвыходными ситуациями, может индуцировать практически все неинфекционные, а иногда и инфекционные заболевания. Однако, более внимательная оценка показывает, что эта индукция реализуется далеко не всегда. Действительно, двадцатый век оказался эпохой мировых и гражданских войн, концентрационных лагерей, геноцида и автогеноцида, когда люди одной и той же национальности активно истребляли друг друга и т.д. Вместе с тем, человечество с большими жертвами, но в целом вполне успешно вышло из этой пандемии стрессорных ситуаций и продолжает осуществлять свой жизненный путь. По суще-

ству это означает, что в живом организме, наряду с механизмом стресс-реакции, функционируют механизмы, которые своевременно ограничивают - лимитируют эту реакцию и предупреждают стрессорные повреждения. Действительно, схема на рис. 1 показывает, что центральные стресс-лимитирующие системы блокируют образование стресс-гормонов и выход их в кровь, а, следовательно, и контакт с рецепторами клеточных мембран. Локальные стресс-лимитирующие системы блокируют не только контакт стрессорных гормонов с рецепторами мембран, но и предупреждают их повреждающий эффект непосредственно на клеточных структурах. При повторных умеренных стрессорных воздействиях - например, при повторных кратковременных иммобилизационных стрессах, стресс-лимитирующие системы активируются, стресс-реакция уменьшается и реализуются защитные эффекты адаптации. Так, на рис. 2 показаны результаты экспериментов нашей лаборатории [15, 30]. Видно, что адаптация к кратковременным стрессорным воздействиям предупреждает аритмии, возникающие непосредственно после острой ишемии у бодрствующих животных. В первые 3 минуты коронаро-окклюзии у контрольных и адаптированных животных регистрируются одинаковые изменения ЭКГ, свидетельствующие об острой ишемии миокарда. Однако в дальнейшем - на 3-5 минутах окклюзии - в контроле возникают различного типа аритмии - множественные экстрасистолы, желудочковая тахикардия и, наконец, самая тяжелая форма - фибрилляция желудочков. У адаптированных животных в ответ на ишемию в большинстве случаев аритмии либо вообще не возникают, либо наблюдается только экстрасистолия. Количественно это выражалось в том, что из 20 адаптированных животных только у 4 возникали ишемические аритмии, причем фибрилляции сердца и гибели животных не наблюдалось, тогда как в контроле из 20 животных от фибрилляции погибло 6 животных и у 14 наблюдались аритмии. Антиаритмический эффект предварительной адаптации проявляется у животных и при сформировавшемся инфаркте миокарда, т.е. через 2-е суток после перевязки коронарной артерии. Показано [8], что инфаркт более, чем в 3 раза снижает порог фибрилляции желудочков, т.е. величину электрического раздражения сердца, вызывающего фибрилляцию. Иными словами, инфаркт приводит к повышению уязвимости миокарда для аритмогенных факторов. Другим проявлением нарушения электрической стабильности сердца и повышенной “готовности” к аритмиям при инфаркте оказывается снижение резистентности водителей ритма к тормозному влиянию блуждающего нерва и возникновение очагов эктопической

автоматии в миокарде, что выражается в появлении экстрасистол на фоне вагусной брадикардии. Выяснилось, что у животных, предварительно адаптированных к стрессу, при инфаркте не наблюдалось подобных проявлений снижения электрической стабильности сердца. Таким образом, адаптация эффективно предупреждает повышение уязвимости сердца для аритмогенных факторов, вызываемое острым инфарктом [8, 30]. Существенно, что эффективным оказалось использование адаптации к стрессу не только как фактора профилактики нарушений сердечного ритма при ишемических повреждениях, но и в качестве терапевтического средства при постинфарктном кардиосклерозе. Известно, что при постинфарктном кардиосклерозе в самом постнекротическом соединительнотканном рубце и особенно в его краевой, пограничной с интактным миокардом, зоне всегда имеются вкрапления кардиомиоцитов, переживших острую ишемию, которые сохраняют биоэлектрическую активность и близкую к норме морфологическую структуру. Установлено, что эти клетки характеризуются сниженным потенциалом покоя, уменьшением амплитуды и скорости нарастания потенциала действия и другими нарушениями биоэлектрической активности, что составляет основу для возникновения в определенных условиях аритмий [23]. Таким условием, например, является вагусная брадикардия, на фоне которой выявляются очаги эктопической активности [7, 22]. Было показано, что адаптация к стрессу крыс с постинфарктным кардиосклерозом в значительной мере устраняет у них нарушения электрической стабильности сердца [7, 30]. В этих исследованиях адаптацию к коротким воздействиям иммобилизационного стресса начинали у животных через 15 суток после коронароокклюзии, т.е. в условиях, когда в миокарде в основном уже сформировался и четко определился визуально постинфарктный рубец. Адаптацию проводили в течение 2-х недель, а затем, т.е. через 1 месяц после создания инфаркта, у адаптированных и неадаптированных животных определяли порог фибрилляции сердца и эктопическую активность, выявляемую при брадикардии, вызываемой стимуляцией блуждающего нерва. Оказалось, что такая "адаптационная терапия" полностью устраняла падение порога фибрилляции сердца, характерное для неадаптированных животных с постинфарктным кардиосклерозом. Так у неадаптированных животных с постинфарктным кардиосклерозом порог фибрилляции был примерно в 2 раза меньше, чем в контроле ($2,9 \pm 2$ мА vs. $6,4 \pm 0,2$ мА), а у адаптированных животных с постинфарктным кардиосклерозом порог фибрилляции составлял $6,3 \pm 0,5$ мА, т.е. не отличался от контроля. Кроме того, адаптация существенно (в 4 раза) уменьшила эктопическую активность сердца, оцениваемую по количеству экстрасистол, возникших на фоне вагусной брадикардии. Таким образом адаптация в значительной мере устраняла отдаленные нарушения электрической стабильности сердца и повышенную "готовность" к аритмиям у животных, перенесших инфаркт. Эти эффекты с большой долей вероятности осуществляются за счет упомянутых выше стресс-лимитирующих систем. Однако, другие защитные эффекты адаптации, кото-

рые будут перечислены далее, не поддаются такому простому объяснению.

Феномен адаптационной стабилизации структур (ФАСС)

Установлено, что предварительная адаптация к повторным иммобилизационным стрессам защищает хромосомальный аппарат клеток костного мозга при введении в организм мутагена [5], ограничивает размеры ишемического некроза после перевязки коронарной артерии [20], в 6 раз уменьшает смертность животных от сублетальной гипоксии при вдыхании смеси с 6% O_2 в течение 2 часов [31], а также предупреждает образование язвенных поражений слизистой желудка при введении в него 100% этанола [26]. Эта удивительная по своей силе защита наводит на мысль, что в процессе адаптации к стрессорным воздействиям в клетках органов активируются какие-то мощные механизмы защиты клеточных структур и развивается феномен адаптационной стабилизации структур (ФАСС), указанный на рис. 1. На основе этой гипотезы [4] я предложил группе сотрудников нашей лаборатории исследовать влияние такой адаптации на устойчивость изолированных сердец и различных структур миокардиальных клеток к широкому спектру повреждающих факторов. Адаптацию к стрессор-

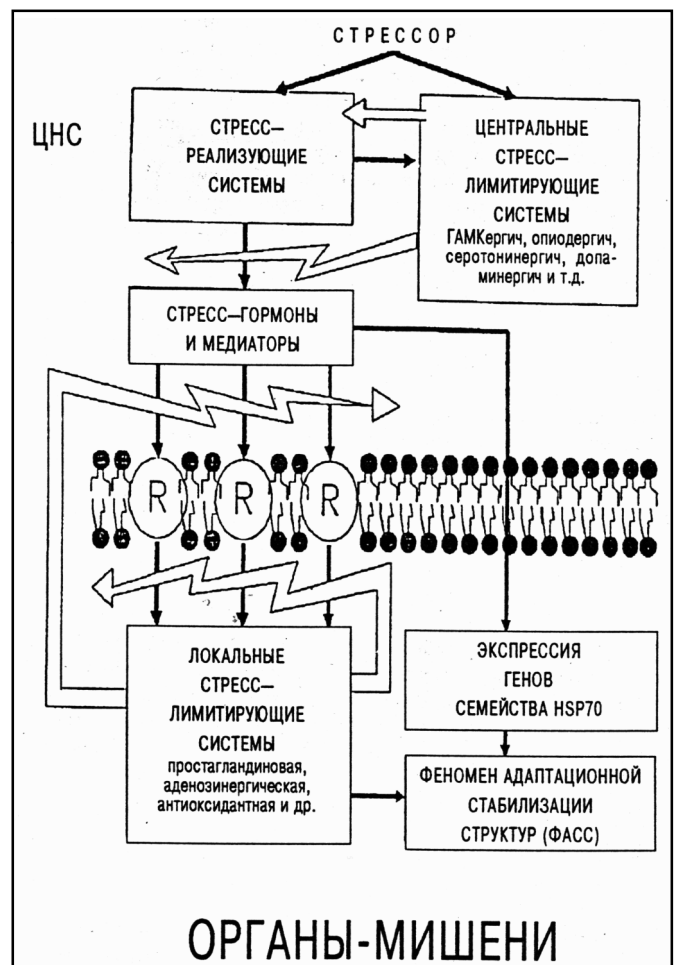


Рис. 1 Активация стресс-лимитирующих систем и формирование феномена адаптационной стабилизации структур при адаптации к стрессу.

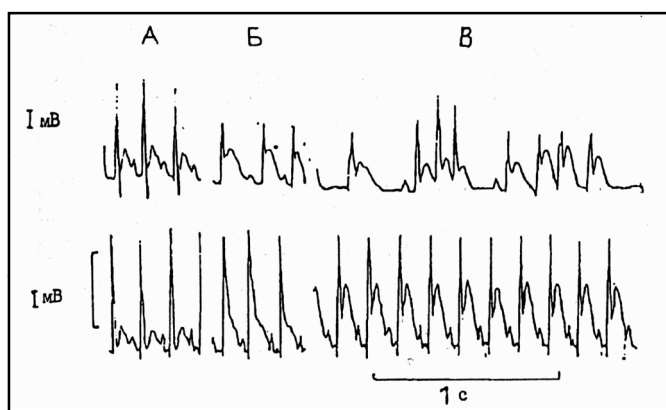


Рис. 2 Влияние предварительной адаптации к кратковременным стрессорным воздействиям на нарушения ритма после перевязки левой коронарной артерии у бодрствующих животных. Верхняя ЭКГ - контроль, нижняя ЭКГ - адаптация к иммобилизационному стрессу. А - до перевязки артерии; Б - через 30 сек. после перевязки; В - через 5 мин. после перевязки.

ным воздействиям производили путем кратковременной иммобилизации животных в положении на спине в течение 12 дней: 1-й день - 15 мин., 2-й день - 30 мин., 3-й день - 45 мин., остальные дни по 60 мин. через день. Фиксация животных проводилась путем привязывания за 4 конечности без фиксации головы.

Вместе с И.Ю.Мальшевым мы изучали влияние такой предварительной адаптации на резистентность изолированных сердец к различным повреждающим факторам [12]. Кривые на рис. 3 показывают реакцию сердец в контроле и после адаптации к иммобилизационному стрессу на реперфузию после тотальной ишемии. При реперфузии сердца животных, адаптированных к иммобилизационному стрессу, характеризовались резко повышенной устойчивостью к повреждению. Наиболее определенно защитный эффект адаптации проявлялся на 5-й минуте реперфузии, когда амплитуда сокращений сердец адаптированных животных оказалась в 8,8 раз выше, чем в контроле. На рис. 3 видно, что ускоренное постишемическое восстановление амплитуды сокращений при адаптации обусловлено более быстрым исчезновением контрактуры. Антиконтрактурный эффект адаптации к стрессу при реперфузии сопровождался антиаритмическим действием. Так, суммарная длительность тахикардии и фибрилляции желудочков в расчете на одно сердце, составляла в контроле 246 ± 16 с, а при адаптации к иммобилизационному стрессу - 119 ± 12 с ($p < 0,001$). Далее кривые на рис. 3 показывают, что адаптация к стрессу приводила к прямой защите сердца от реперфузионного повреждения и по такому важному критерию, как выход в перфузат креатинфосфокиназы. В контроле активность этого фермента в перфузате на 5-й минуте реперфузии достигла 719 ± 34 мЕ/мин/г массы сердца.

Таким образом, адаптация к иммобилизационному стрессу обладает выраженным мембранопротекторным действием и однозначно защищает сердце от реперфузионного повреждения.

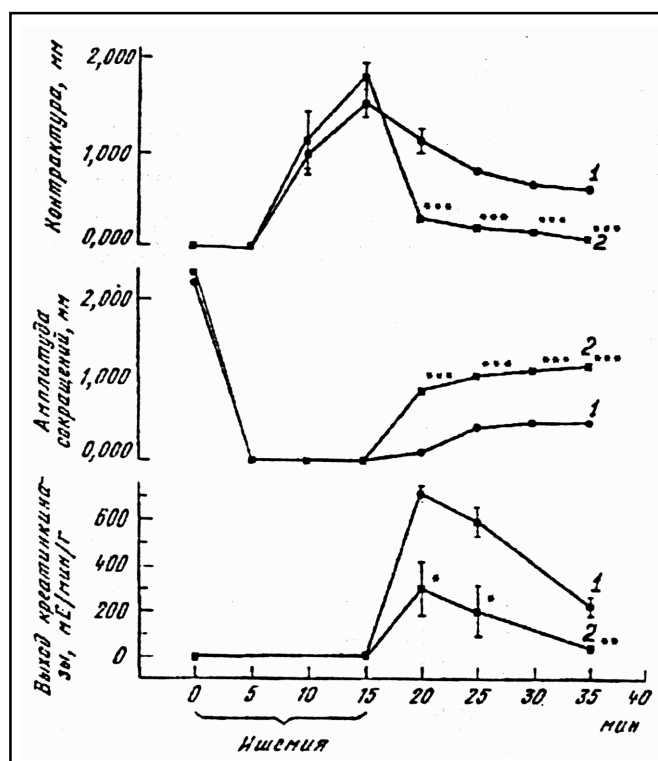


Рис. 3 Влияние предварительной адаптации к стрессорным воздействиям на контрактуру, амплитуду сокращений и выход креатинкиназы в перфузат изолированного сердца крысы при ишемии и последующей реперфузии. Абсцисса - время от начала эксперимента, мин; ординаты - соответствующие показатели; 1 - контроль, $n=7$; 2 - адаптация, $n=7$. Все результаты представлены как $M \pm m$. Значимость различий между контролем и адаптацией, %: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

В кардиологии вторым после ишемии и реперфузии фактором, повреждающим сердце, является избыток катехоламинов. Мы показали, что в результате перфузии изолированного сердца адреналином в концентрации 5×10^{-5} М развиваются контрактура, депрессия амплитуды сокращения и аритмии. Установлено, что в сердцах адаптированных животных эти повреждения были выражены существенно меньше, чем в контроле. Так, количество экстрасистол, возникающих под влиянием адреналина, при адаптации было меньше в 6,5 раза, а длительность атрио-вентрикулярной блокады - в 2 раза (по сравнению с контролем). Существенно, что адренергическое повреждение сердца, так же, как и реперфузионное, реализуется в значительной мере за счет возникновения в кардиомиоцитах избытка Ca^{2+} . Поэтому на следующем этапе мы изучали влияние адаптации на устойчивость сердца к кальциевой перегрузке.

На рис. 4 представлен типичный эксперимент, характеризующий влияние адаптации к стрессу на устойчивость изолированного сердца к контрактурному и аритмогенному эффекту высоких концентраций Ca^{2+} . Видно, что уве-

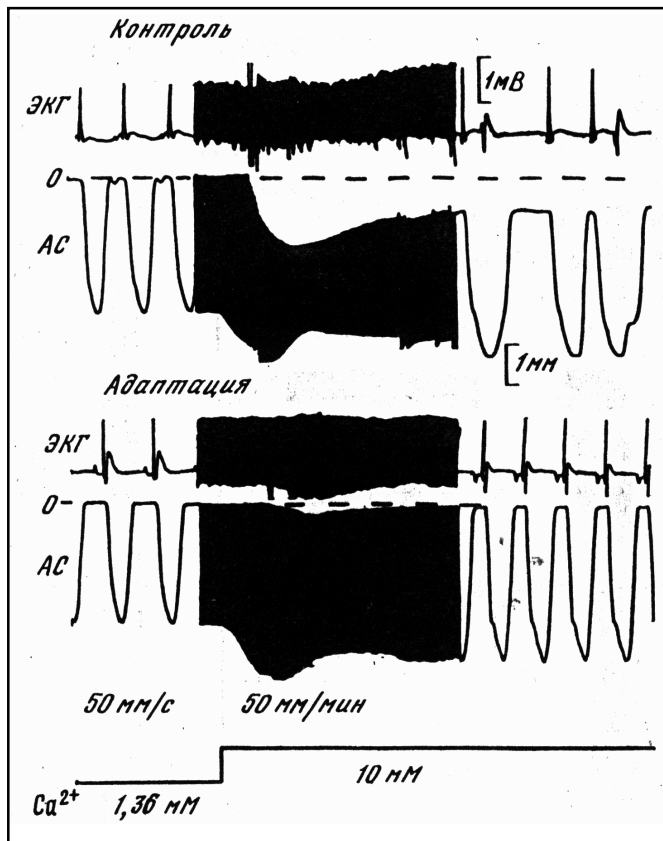


Рис. 4 Влияние предварительной адаптации к стрессорным воздействиям на электрическую и механическую активность изолированного сердца крысы при действии высоких концентраций кальция. В верхней части записи - электрокардиограмма (ЭКГ); в нижней части - изменение апико-базальной длины сердца (АС - амплитуда сокращения).

личение концентрации Ca^{2+} в перфузионном растворе в 7 раз привело через 15-20 с в контроле к появлению желудочковых экстрасистол. У сердец адаптированных животных в этом эксперименте экстрасистолы отсутствовали. Оценка сократительной функции, которую регистрировали в изотонических условиях, показала, что под влиянием увеличения концентрации Ca^{2+} у контрольных сердец диастолическое расслабление оказалось нарушенным и возникла большая транзиторная контрактура, сопровождающаяся снижением амплитуды сокращений. У сердец адаптированных животных контрактура оказалась незначительной, соответственно не было и депрессии амплитуды сокращений. Максимальная величина контрактуры для сердец адаптированных животных была в 5 раз меньше по сравнению с контролем.

Аналогичный защитный эффект адаптации к стрессу проявлялся и при другом способе кальциевой перегрузки, а именно - при "кальциевом парадоксе", воспроизводимом на изолированном сердце, т.е. в условиях, когда после периода перфузии бескальциевым раствором восстанавливали перфузию сердца с нормальной концентрацией Ca^{2+} в перфузионном растворе. Показано (см. рис. 5), что в конт-

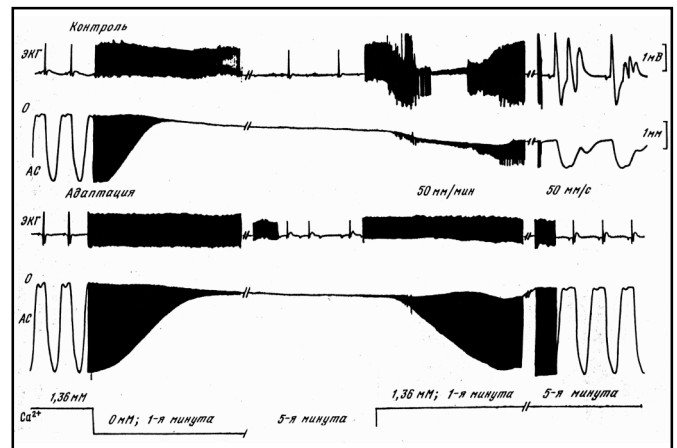


Рис. 5 Влияние адаптации к стрессорным воздействиям на электрическую и механическую активность изолированного сердца крысы при восстановлении нормальной концентрации кальция после периода бескальциевой перфузии. Обозначения те же, что на рис. 4.

роле такое восстановление нормальной перфузии приводило к депрессии амплитуды сокращений более, чем на 70%, при этом контрактура составляла до 40% от исходной амплитуды сокращений и наблюдались нарушения ритма в виде экстрасистол и желудочковой тахикардии. У сердец адаптированных животных все эти нарушения при "кальциевом парадоксе" были существенно меньше: амплитуда сокращений была выше в 1,5-2 раза, контрактура примерно на 50% меньше, по сравнению с контролем, количество экстрасистол было почти в 2 раза меньше, а желудочковая тахикардия вообще не развивалась. Таким образом, предварительная адаптация организма к коротким стрессорным воздействиям многократно повышает резистентность изолированного сердца к контрактурному и аритмогенному эффектам кальциевой перегрузки.

В целом эксперименты на изолированном сердце свидетельствуют, что защитные эффекты адаптации реализуются не только на уровне организма, но и на уровне органов, в частности - сердца.

Далее в исследованиях биоэлектрической активности кардиомиоцитов и сократительной функции папиллярной мышцы сердца, проводимых совместно с И.Ю. Малышевым, мы показали, что антиконтрактурный и антиаритмический эффекты адаптации имеют свой конкретный электрофизиологический эквивалент [11]. Кривые на рисунке 6 позволяют сравнить динамику развития контрактуры и депрессии потенциала покоя в кардиомиоцитах папиллярных мышц сердца крысы в покое и после замены обычного перфузионного раствора на гипонатриевый раствор, который, как известно, индуцирует большое входение кальция в кардиомиоциты. Контрактура, закономерно развивающаяся под влиянием гипонатриемии, у сердец адаптированных животных оказалась в 6 раз меньше, чем в контроле. При этом депрессия потенциала покоя в "адаптированных" сердцах была достоверно меньше и составляла 15 мВ против 25 мВ в контроле.

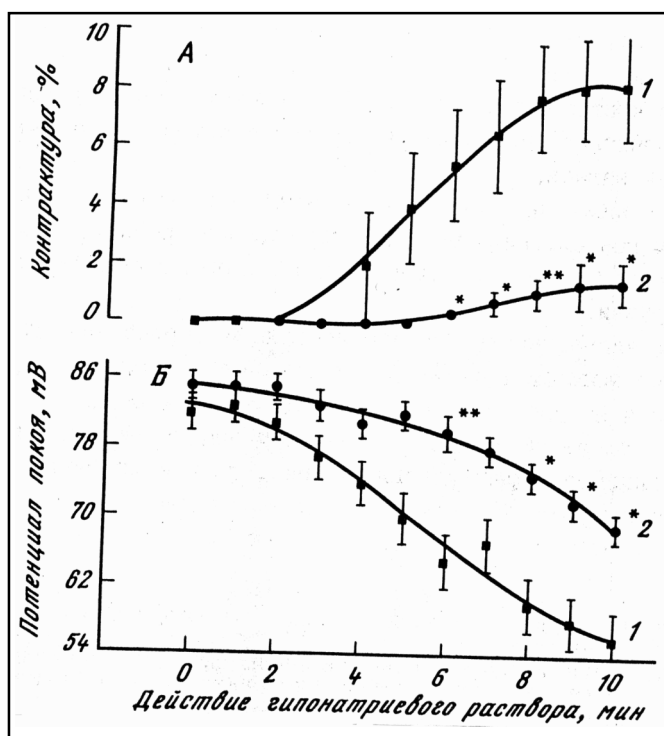


Рис. 6 Влияние предварительной адаптации к стрессорным воздействиям на контрактуру покоящихся папиллярных мышц (А) и депрессию потенциала покоя (Б), вызываемых перфузией гипонатриевым раствором. А: по оси ординат - контрактура, % от исходной длины мышцы; по оси абсцисс - время от начала действия гипонатриевого раствора, мин. Б: по оси ординат - потенциал покоя, мВ; по оси абсцисс - время от начала действия гипонатриевого раствора, мин. 1 - контроль, n=8; 2 - адаптация к стрессу, n=7.

На рисунке 7 представлены изменения биоэлектрической активности и сократительной функции папиллярной мышцы сердца при увеличении концентрации Ca^{2+} и навя-зывании высокой частоты сокращений. В контроле увели-чение внешней концентрации Ca^{2+} с 2,5 до 18 мМ при час-тоте стимуляции 180 имп/мин приводило к значительному уменьшению длительности потенциала действия кардио-миоцитов и почти полному подавлению сократительной функции папиллярной мышцы. У “адаптированных” па-пиллярных мышц при тех же условиях длительность по-тенциала действия укорачивалась значительно меньше и сократительная функция поддерживалась на более высо-ком уровне.

С большой долей вероятности антиконтрактурные, антиаритмические и электрофизиологические защитные эффекты адаптации обусловлены тем, что адаптация каким-то образом увеличила активность и устойчивость к повреждению мембранных механизмов, ответственных за удаление избытка Ca^{2+} из кардиомиоцитов. Имея это в виду, мы вместе с Ю.В.Архипенко и Т.Г.Сазонтовой исследовали влияние адаптации на функцию Ca^{2+} -насоса саркоплазматического ретикулума (СПР) и его устойчивость к автолизу при длительном хранении гомогенатов миокарда при

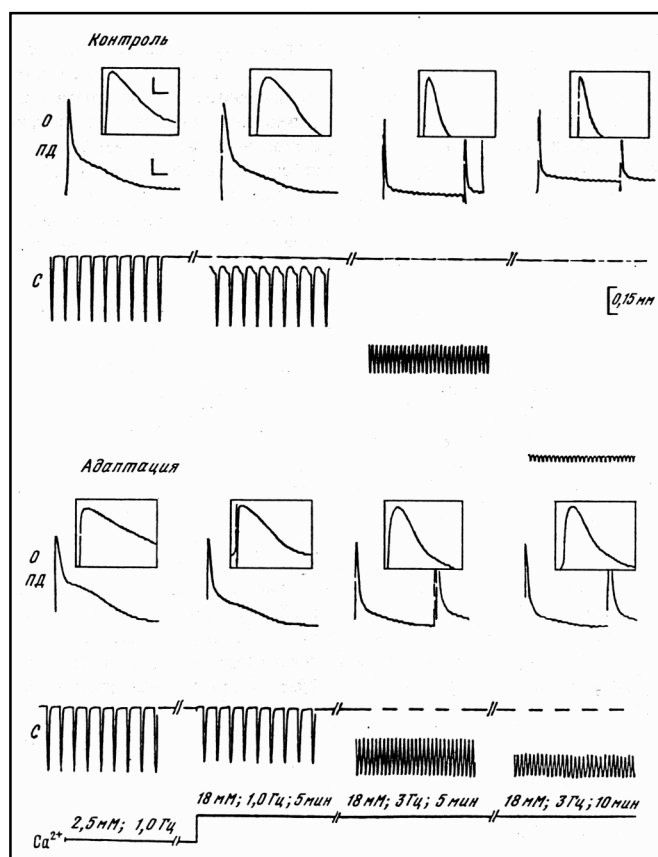


Рис. 7 Влияние предварительной адаптации к стрессорным воздействиям на потенциал действия и сокращение папиллярной мышцы при сочетанном действии высокой концентрации кальция и изменений частоты стимуляции. ПД - запись потенциала действия; калибровка - 2- мВ и 50 мс. На вставках - верхняя часть того же потенциала калибровка - 20 мВд и 5 см; С - запись изотонического сокращения. Пунктирная линия соответствует исходному полному диастолическому расслаблению. Момент смены исходного раствора (2,5 мМ Ca^{2+}) на гиперкальциевый (18 мМ Ca^{2+}) указан ступенькой.

4° С [16]. Исследования показали, что, как в контроле, так и при адаптации, скорость поглощения Ca^{2+} в СПР увеличивается по мере роста концентрации этого катиона в среде. Однако в контроле величина этого показателя достигает плато при концентрации Ca^{2+} $1\text{--}2 \times 10^{-5}$ М, а при адаптации она при тех же концентрациях продолжает нарастать. Скорость транспорта Ca^{2+} в СПР у адаптированных животных повышена как при физиологических, так и при высоких концентрациях кальция. Очевидно, что это само по себе может играть роль в повышении устойчивости сердца при адаптации к токсическим концентрациям Ca^{2+} и адреналина. Однако, главный результат этих экспериментов был получен при изучении влияния адаптации к стрессу на активность Са-насоса СПР при длительном хранении, т.е. фактически на устойчивость СПР к автолизу.

Кривые на рисунке 8 отражают динамику падения активности транспорта Ca^{2+} в СПР, который хранили при 4°С.

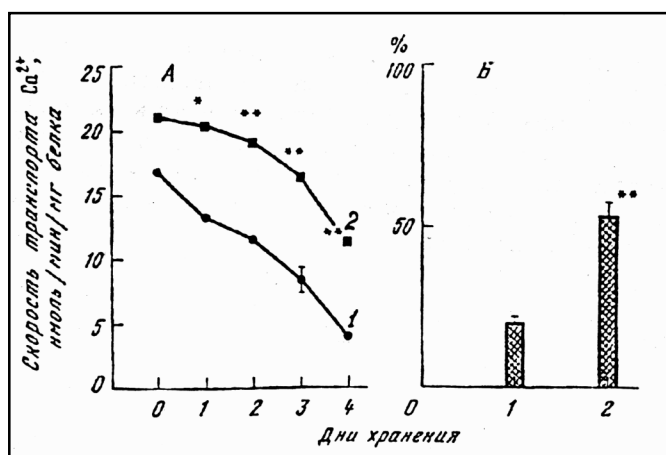


Рис. 8 Влияние предварительной адаптации к стрессорным воздействиям на динамику скорости транспорта Ca^{2+} в СПР при длительном хранении гомогенатов миокарда при 4°C . А - динамика скорости транспорта Ca^{2+} в течение четырех дней хранения гомогената миокарда; по оси абсцисс - дни хранения; по оси ординат - транспорт Ca^{2+} ; 1 - контроль, n=4; 2 - адаптация, n=4; Б - скорость транспорта Ca^{2+} через четыре дня хранения, % к исходной скорости, принятой за 100%; 1 - контроль, 2 - адаптация.

В контроле этот процесс линейен и к 4-му дню хранения остается, примерно, 20% первоначальной скорости транспорта Ca^{2+} . В серии "адаптация" скорость транспорта Ca^{2+} при хранении снижается медленнее, чем в контроле, и к 4-му дню хранения оказывается в 2,7 раза выше, чем в контроле.

Другим критерием состояния мембранных структур миокарда может служить динамика накопления в гомогенатах свободного Ca^{2+} , выходящего из СПР и митохондрий. В контроле через 3 дня хранения содержание Ca^{2+} в среде поднимается на 62% от исходного уровня. Адаптация к стрессорным воздействиям приводит к замедлению роста уровня катиона в среде, и содержание Ca^{2+} через 4 дня хранения достоверно не отличалось от исходного. Этот факт практически полного отсутствия утечки Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} -депо свидетельствует о радикальном увеличении стабильности мембранных структур в процессе адаптации.

Для оценки обнаруженной нами адаптационной стабильности мембран СПР целесообразно было выяснить, имеем ли мы дело с частным явлением, присущим только этим структурам, или с общей закономерностью, которой подчиняются и другие органеллы клетки. Для решения этого вопроса была изучена динамика инактивации дыхания и фосфорилирования изолированных митохондрий при хранении суспензий этих органелл при 4°C . В этих исследованиях было показано, что в условиях полного разобщения окисления с фосфорилированием потребление кислорода при окислении сукцината в препаратах митохондрий адаптированных животных исходно не отличалось от контроля. Однако при хранении потребление кислорода в митохондриях адаптированных животных падало значитель-

но медленнее, чем в контроле, и через 2 суток оказалось на 50% выше контрольного. Аналогичным образом адаптация к стрессу влияла и на динамику фосфорилирования, и в результате после 2 суток хранения скорость фосфорилирования оказалась в 2 раза выше, чем в контроле.

Таким образом, результаты однозначно свидетельствовали, что при адаптации к стрессорным воздействиям на уровне сердца реализуется механизм, обеспечивающий стабилизацию структур сарколеммы, СПР, митохондрий, т.е., по существу, основных структур кардиомиоцита.

Этот феномен, проявляющийся, как мы могли убедиться выше, на уровне целого сердца и выделенных из него органелл, был обозначен нами как феномен адаптационной стабилизации структур (ФАСС).

Полученные данные привели нас к предположению, что ФАСС, за счет прямой стабилизации ферментов митохондриальной мембраны - КФК и АТФ-транслоказы - или за счет ограничения избыточного поступления в клетку и митохондрии Ca^{2+} , может обеспечивать функционирование системы окислительного фосфорилирования в миокарде при тяжелой ишемии и последующей реперфузии, т.е. в такой патологической ситуации, когда энергообеспечение заведомо страдает.

Для проверки этого предположения мы, совместно с В.Л. Лакомкиным, выполнили специальное исследование, в котором в одних и тех же экспериментах регистрировали внутрижелудочковое давление у изометрически сокращавшихся изолированных сердец и концентрацию фосфосодержащих соединений в миокарде этих сердец. Давление в полости желудочков регистрировали с помощью электроманометров Statham P23 фирмы Cold, а концентрацию фосфосодержащих соединений - с помощью ЯМР спектрометра СХР-200 фирмы Bruker, в магнит которого было установлено сокращающееся сердце. Кривые на рис. 9 позволяют сравнивать

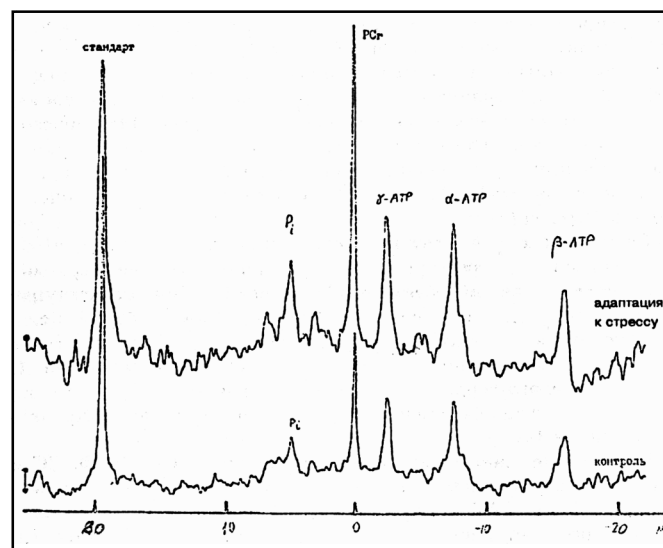


Рис. 9 Спектр ^{31}P - ЯМР сердца адаптированных к стрессу (верхняя кривая) и контрольных (нижняя кривая) крыс. При равном стандартном сигнале отмечается значительное увеличение сигнала, соответствующего (Pcr) у адаптированных животных на 15-20 мин.

спектры ЯМР, зарегистрированные на сердцах контрольного и адаптированного животного между 15 и 20 мин. реперфузии. Видно, что при равной величине стандартного сигнала у “адаптированного” сердца пик, отражающий содержание КФ в миокарде, значительно выше, чем в контроле.

Этот результат, как показали специальные эксперименты, выполненные нами совместно с лабораторией В.Сакса, не связан с защитным эффектом адаптации на уровне мембраны митохондрий. Дыхание и окислительное фосфорилирование в суспензии изолированных митохондрий оказалось одинаковым в сердцах контрольных и адаптированных животных. Наиболее вероятная причина обнаруженного явления состоит в том, что адаптация обеспечила сохранение кальциевого гомеостаза кардиомиоцитов при постишемической реперфузии и именно таким образом сохранила функцию митохондрий. Таким образом, адаптация к стрессорным воздействиям предупреждает повреждение мембран СПР, перегрузку митохондрий кальцием и, тем самым, сохраняет энергообеспечение кардиомиоцитов при ишемии и реперфузии.

Все изложенное свидетельствует о том, как ФАСС реализуется на уровне цитоплазматических структур кардиомиоцита. Возникает вопрос, формируется ли при этом ФАСС на уровне генетической матрицы ДНК в клеточных ядрах. Для решения этого вопроса исследовали влияние адаптации к стрессу на резистентность изолированных ядер клеток миокарда к повреждающему действию экзогенной одонитевой ДНК [13]. Устойчивость ядерной ДНК оценивали методом проточной цитофлуориметрии ДНК, который предусматривает окрашивание выделенных ядер специфично связывающимся с ДНК флуоресцентным красителем - бромистым этидием. При этом количество связавшегося красителя и, соответственно, величина пика флуоресценции положительно коррелирует с количеством ядер с нормальным диплоидным содержанием ДНК. При распаде ДНК величина пика соответственно уменьшается. Гистограммы, зарегистрированные в типичном эксперименте (см. рис. 10), отражают влияние адаптации к иммобилизационному стрессу на величину пика флуоресценции ядер миокарда с нормальным диплоидным содержанием ДНК. Видно, что до введения в суспензию ядер одонитевой ДНК высота пика флуоресценции ядер при адаптации (рис. 10Б) такая же, как в контроле (рис. 10А). Следовательно число ядер с нормальным диплоидным содержанием ДНК было также одинаковым. Добавление к суспензии ядер одонитевой ДНК приводило в контроле к существенному уменьшению амплитуды пика флуоресценции ядер уже при концентрации одонитевой ДНК 50 мкг/мл, что свидетельствовало о значительном распаде ядерной ДНК. При добавлении одонитевой ДНК к суспензии ядер, выделенных из клеток миокарда адаптированных животных (рис. 10Б), явление распада ДНК отчетливо выявлялось только при концентрации одонитевой ДНК 200 мкг/мл, т.е. в 4 раза большей. Количественная оценка гистограмм показала, что при добавлении одонитевой экзогенной ДНК в концентрации 50 мкг/мл в контроле деградировало 43% ядерной ДНК, а после адаптации к стрессу - лишь 8%. Этот

защитный эффект адаптации сохранялся и при увеличении концентрации экзогенной ДНК.

Таким образом, ФАСС может формироваться не только на уровне цитоплазмы, но и на уровне генетической матрицы ДНК.

Оценивая возможный молекулярный механизм ФАСС, можно было думать, что решающую роль в нем играет адаптационная активация локальных стресс-лимитирующих систем: антиоксидантной, простагландиновой, аденозинергической. Однако, против этого предположения свидетельствует важный факт, установленный в нашей лаборатории при изучении адаптации к высотной гипоксии. Эта адаптация вызывает сильную активацию указанных выше локальных стресс-лимитирующих систем, обладает сильным антиишемическим защитным эффектом на уровне сердца, но ФАСС при этой адаптации заметно слабее, чем при адаптации к стрессу, и защита на уровне клеточных ядер, которую мы только что рассматривали, вообще отсутствует. Это позволяет думать, что в основе ФАСС лежит более древний и, соответственно, более эффективный клеточный механизм, обладающий очень широким спектром защитных эффектов. Одним из механизмов такого рода являются белки семейства HSP70, т.е. белки теплового шока с молекулярной массой 70-72 кДа, представленные у всех без исключения живых организмов, от бактерии до человека. Они были обнаружены при тепловом повреждении, однако в реальных условиях природы их синтез индуцируется при воздействии самых различных факторов, и поэтому их называют теперь стресс-

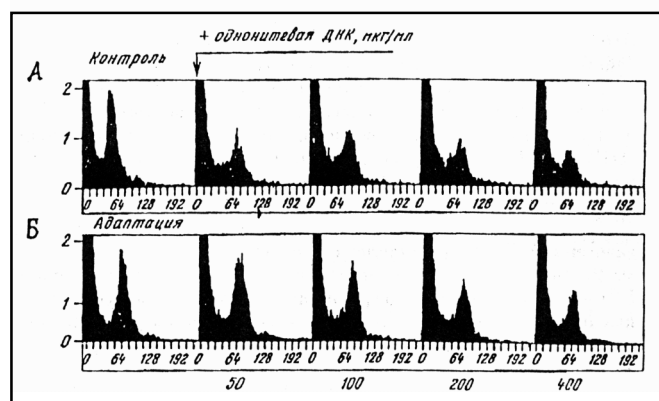


Рис. 10 Влияние предварительной адаптации к стрессорным воздействиям на резистентность ядерной ДНК сердечных клеток к повреждающему действию одонитевой ДНК. А - гистограмма распределения ядерной ДНК в контроле; Б - то же после адаптации к стрессорным воздействиям. На гистограммах: ось ординат - количество ядер, тыс; ось абсцисс - интенсивность флуоресценции ДНК-связывающего красителя в относительных единицах, канала анализатора; слева от стрелки - гистограммы распределения суспензии ядер в контроле и при адаптации без добавления одонитевой ДНК; справа от стрелки - гистограммы распределения суспензии ядер после добавления одонитевой ДНК в концентрациях - 50, 100, 200, 400 мкг/мл (указано под гистограммами).

белками. Для нас было важно, что эти белки обладают замечательной способностью дезагрегировать или ренатурировать поврежденные клеточные структуры. На этом основании мы предположили, что они могут играть важную роль в механизме ФАСС. Для проверки этого предположения необходимо было, во-первых, выяснить, повышает ли адаптация резистентность к тепловому повреждению, при котором защитная роль HSP давно доказана, и, во-вторых, непосредственно определить, индуцирует ли адаптация к стрессу накопление HSP в миокарде.

Результаты наших экспериментов показали, что в процессе адаптации организма к стрессу сердце приобретает повышенную устойчивость к термическому повреждению. В экспериментах на изолированном перфузируемом сердце крысы было установлено, что 15-минутная перфузия раствором, нагретым до 42° С, вызывает в контроле большую депрессию амплитуды сокращения (с $2,4 \pm 0,06$ мм до $0,44 \pm 0,15$ мм), контрактуру до 36% исходной амплитуды сокращений, а главное - приводит к массивному выходу в перфузат креатинкиназы (маркера повреждения миокарда), активность которой достигает $295 \pm 11,0$ МЕ/мин/г. Адаптация к стрессу значительно ограничивала депрессию амплитуды сокращений, контрактуру миокарда и выход креатинкиназы. Так, например, на 15-й минуте действия горячего раствора выход креатинкиназы в перфузат для сердец адаптированных животных был в 37 раз меньше, чем в контроле. Весьма существенно, что увеличение термостабильности сердца, как и повышение устойчивости миокарда к реперфузионному повреждению, никогда не возникало после однократного иммобилизационного воздействия, а всегда развивалось после серии таких воздействий, т.е. формировалось как результат адаптации. Это, само по себе, позволило полагать, что при ФАСС происходит накопление HSP.

Для проверки этого предположения мы, совместно с А.В.Замотринским и И.Ю.Малышевым, оценивали содержание, изоформный состав и субклеточное распределение HSP70 в миокарде при адаптации к стрессу, сопоставляя эти показатели с таковыми в контроле и при тепловом шоке. При оценке содержания, изоформного состава и субклеточного распределения HSP70 использовали двумерный электрофорез по O'Farrell. Электрофорез во втором направлении проводили в 10% ПААГ по Laemmli. Гели окрашивали азотнокислым серебром по Morrissey. Идентификацию и характеристику изоформ HSP70 осуществляли по молекулярному весу и изоэлектрической точке (использованные методические приемы см. в монографии Меерсон Ф.З., Малышев И.Ю., 1993).

Исследования показали, что адаптация к иммобилизационным стрессам приводила к накоплению в миокарде не менее пяти полипептидов с молекулярной массой около 72 кДа и изоэлектрическими точками в диапазоне от 6,3 до 5,7. В контроле эти фракции не выявлялись. Оценка влияния адаптации на спектр ядерных HSP, на спектр HSP, связанных с хроматином и ядерными мембранами, и на спектр HSP нуклеоплазмы показала следующее: при адаптации выявляется не менее двух индуцибельных белков,

отсутствующих в контрольных ядерных экстрактах, их молекулярная масса составляла 70-72 кДа, а изоэлектрическая точка была около 6,2-6,3. Электрофоретический анализ белков, связанных с хроматином и ядерными мембранами, показал, что фракция, соответствующая белкам с молекулярной массой 72 кДа, ни в контроле, ни при адаптации не обнаруживается. С учетом этого обстоятельства мы предположили, что основным местом накопления этих индуцибельных белков в ядре при адаптации к стрессу является нуклеоплазма. В целом, сопоставление характеристик индуцибельных белков, накапливающихся в миокарде при адаптации к иммобилизационному стрессу, с характеристиками высокоиндуцибельных белков HSP70-72 позволяет полагать, что индуцибельные белки (с молекулярной массой 72 кДа), накапливающиеся при адаптации в миокарде крыс, можно отнести к индуцибельным HSP70-72 из семейства HSP70.

Важно отметить, что однократное иммобилизационное воздействие не приводило к появлению HSP70 ни в цитоплазме, ни в нуклеоплазме. Следовательно, идет речь именно об адаптационном накоплении этих белков.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют, что адаптация к стрессу сопровождается накоплением в миокарде HSP70: в цитоплазме накапливаются 5 изоформ HSP70, а в нуклеоплазме - 2 изоформы. Одновременно с этим происходит выраженное повышение устойчивости сердца и выделенных из миокарда цитоплазматических и ядерных структур к повреждающим факторам. Это уже, само по себе, позволяет сделать предположение о важной роли HSP70 в формировании ФАСС.

О механизме регуляторной индукции накопления HSP и действия этих белков в клетке

Положение о важной роли ФАСС в механизме адаптационной защиты и о роли HSP в формировании ФАСС выдвигает на первый план вопрос о регуляторных факторах, которые при повторных стрессах могут индуцировать экспрессию генов, кодирующих HSP.

Схема на рис. 11 показывает три возможных механизма накопления HSP при адаптации к стрессу. Первый из них состоит в том, что стрессорные гормоны и трансммиттеры активируют Са-мобилизующие рецепторы органов-мишеней. В результате активность фосфолипазы С увеличивается, и это влечет за собой активацию инозитолтрифосфат-диацилглицеролового регуляторного каскада. Это приводит к активации протеинкиназы С и изменению внутриклеточного рН. Указанные сдвиги, в свою очередь, активируют гены. Показано [32], что именно такой механизм может привести к увеличению транскрипции генов, кодирующих HSP. Второй механизм, представленный на схеме, состоит в том, что вызванная стрессом активация β -адренорецепторов влечет за собой активацию аденилатциклазы, накопление цАМФ, и, как следствие, открытие кальциевых каналов. В результате развивается активация протеинкиназ, которая, в соответствии с данными [33], влечет за собой увеличение транскрипции генов, кодирующих HSP. Наконец, третий механизм, представленный на схеме, состоит в том, что кортикостероиды, содержание кото-

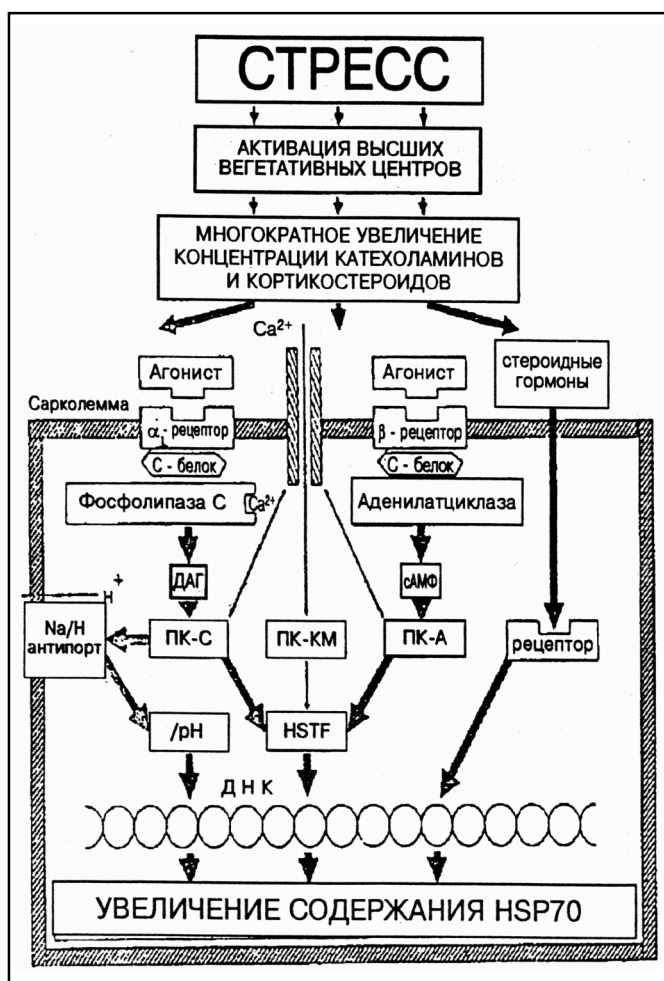


Рис. 11 Схема механизма стресс-индуцированной активации синтеза белков теплового шока (HSP). DAG - диацилглицерол, PK-C - протеинкиназа С, PK-KM - кальмодулин-зависимая протеинкиназа, PK-A - протеинкиназа А, HSTF - белок, активирующий транскрипцию HSP гена.

рых в крови возрастает при стрессе во много раз, связываются со своими рецепторами в цитоплазме клеток органов-мишеней. После этого рецепторы приобретают высокое сродство с ДНК, связываются с ДНК и активируют транскрипцию и синтез белков. Показано, что семейство HSP70 входит в число белков, синтез которых возрастает под влиянием кортикостероидов [27].

Первый из представленных на схеме механизмов был экспериментально изучен нами совместно с Ю.Н.Копыловым и Г.Н.Балденковым [9]. Оказалось, что развитие ФАСС действительно сопровождается активацией инозитолтрифосфат-диацилглицеролового регуляторного каскада с одновременным накоплением HSP. Этот и другие показанные на схеме механизмы накопления HSP заслуживают дальнейшего изучения.

При дальнейшем изучении защитного эффекта HSP выяснилось, что эти белки накапливаются и обладают защитным эффектом не только в сердце, но и в мозгу, печени и других органах [12]. Иными словами, ФАСС - не локаль-

ное, а генерализованное явление защиты от многочисленных стрессов, механизм защиты целого организма. Этот факт весьма важный и многообещающий для клиники. Однако, само собой разумеется, что иммобилизационное стрессорное воздействие, которое мы использовали во всех, описанных выше, экспериментах, не приемлемо для человека.

Адаптация, вызванная электростимуляцией, воспроизводит ФАСС и защиту сердца

Трудно найти воздействие, которое, будучи безболезненным, само по себе вызывало бы стресс и воспроизводило эффекты адаптации к стрессу. В исследованиях, проведенных нами совместно с Е.Я.Воронцовой и С.А.Радзиевским, мы использовали с этой целью электростимуляцию (ЭС) с помощью электростимулятора "Lasper CS-504" в экспериментах на крысах. Крыс предварительно приучали к условиям опыта, в котором регистрировали частоту дыхания с помощью специальной маски. В уши бодрствующих крыс втыкали очень тонкие игольчатые электроды. В последней трети каждого дыхательного цикла через электроды пропускали электроток с импульсами 1,5 мА и 1,5 мс. При первичном воздействии такой ЭС импульсы вызывали гипервентиляцию. В предварительных опытах измеряли с помощью платиновых электродов, введенных в мозг, ток, проходящий при такой ЭС через мозг. Измерения показали, что плотность электроимпульсов составляет около электродов примерно 1 мА на квадратный сантиметр кожи и тканей. Примерно в 8 раз она меньше по средней линии головы. В коре больших полушарий плотность тока примерно 0,4 мА, в подкорковом слое - примерно 0,06 мА на квадратный сантиметр. Таким образом, процедура ЭС отличается от акупунктуры, поскольку ток проходит непосредственно через мозг. Важно, что ЭС не вызывает агрессивной реакции у бодрствующих крыс даже при первом сеансе. Во время последующих сеансов ЭС животные находились в сонном состоянии и тахипноэ было синхронно с частотой импульсов. Следует отметить, что во время 1-го сеанса ЭС, подобно тому, как это наблюдалось при адаптации к иммобилизационному стрессу, у животных регистрировалась стресс-реакция, однако после 10 сеансов эта реакция исчезала. Иными словами, во время сеансов ЭС развивалась адаптация к стрессу. Так, показано, что при 1-м сеансе ЭС концентрация кортикостерона в крови животных повышалась в 4,5 раза по сравнению с контролем, а уровень β-эндорфина в крови не менялся. Такие же изменения, как известно, наблюдаются при стрессе. После 10 сеансов ЭС концентрация кортикостерона в крови снизилась и не отличалась от контроля, а уровень β-эндорфина в крови увеличился, примерно в 2,5 раза, что типично для адаптации к стрессу. Кроме того, было показано, что курс ЭС предупреждает повышение концентрации кортикостерона в крови при иммобилизационном стрессе. Следовательно, мы регистрировали угнетение стресс-реакции. Такое же угнетение наблюдается и при адаптации к иммобилизационному стрессу. Таким образом, ЭС вызывает адаптацию к стрессу.

Далее нами было показано, что курс ЭС уменьшает смертность животных при сублетальной гипоксии с 65%

до 31%, т.е. вдвое. Показано, что курс ЭС полностью “убирает” артерио-венозный шунт, который наблюдается в легких во время сублетальной гипоксии. Однако, главный антигипоксический механизм такой адаптации вряд ли может быть объяснен только на уровне дыхания и кровообращения. Действительно, известно, что конечным повреждающим фактором при сублетальной гипоксии является снижение потребления кислорода тканями. Показано, что после адаптации потребление кислорода тканями при гипоксии возрастает на одну треть. Однако, сам по себе этот факт не может объяснить уменьшение смертности в 2 раза. По-видимому, существенный вклад в этот феномен вносит также повышение резистентности тканей к повреждению, вызванное ФАСС. Так или иначе, очевидно, что такой мягкий и фактически физиотерапевтический фактор, как ЭС, является мощной защитой организма.

Эти данные позволяют полагать, что адаптация к ЭС может быть использована для защиты сердца от нарушений сократительной функции при ишемии и реперфузии. Действительно, в экспериментах на изолированном сердце крысы было показано, что в ответ на тотальную 20-минутную ишемию сердца как интактных, так и адаптиро-

ванных к ЭС животных, сердца отвечали резким падением амплитуды сокращения и развитием контрактуры. Однако, во время реперфузии восстановление амплитуды сокращения и обратное развитие контрактуры происходило у сердец адаптированных к ЭС животных значительно быстрее и интенсивнее, чем у неадаптированных. В результате после 20 минут реперфузии амплитуда сокращения была у “адаптированных” сердец более, чем в 2 раза больше, чем у неадаптированных. Таким образом, в процессе адаптации к ЭС, так же, как и при адаптации к иммобилизационному стрессу, повышается резистентность сердца к реперфузионным повреждениям.

В наших исследованиях было установлено также, что адаптация к ЭС обладает защитным эффектом при экспериментальном инфаркте миокарда. Показано, что у адаптированных к ЭС крыс площадь зоны некроза, формирующейся в миокарде через 2-е суток после коронароокклюзии, на 44% меньше, чем у неадаптированных. Это означает, что адаптация к стрессу, вызванному ЭС, за счет цитопротекторного эффекта, т.е. ФАСС, защищает сердце при инфаркте и, по-видимому, за счет того же механизма защищает целый организм.

Литература

1. Люсов В.А., Горбаченков А.А., Козинский Н.А., Холодова О.Е. Программа и результаты 10-недельной физической тренировки больных, перенесших инфаркт миокарда и больных со стенокардией напряжения. Кардиология. - 1982. - № 1. - С. 49-52.
2. Меерсон Ф.З. Общий механизм адаптации и профилактики. М., Медицина - 1973. - 358 С.
3. Меерсон Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и стресс-лимитирующие системы организма. Физиология адаптационных процессов. Руководство по физиологии. М., Наука. - 1986. - С. 521-632.
4. Меерсон Ф.З. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца. Кардиология. - 1990. - № 3. - С. 6-12.
5. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: Механизмы и защитные эффекты адаптации. М., Нурохия Medical LTD., 1993.
6. Меерсон Ф.З., Авруцкий Г.Я., Недува А.А., Твердохлиб В.П., Чемный А.Б., Будза В.Г., Кулешов Б.И., Магалиф А.А. Применение адаптации к периодической гипоксии для лечения больных параноидной формой шизофрении. Новые методы лечения психических заболеваний. - М., 1989. - С. 120-126.
7. Меерсон Ф.З., Белкина Л.М., Дюсенов С.С. Устранение нарушений электрической стабильности сердца при постинфарктном кардиосклерозе с помощью адаптации к кратковременным стрессорным воздействиям и антиоксиданта ионола. Бюлл. эксперим. биол. мед. - 1986. - № 11. - С. 536-538.
8. Меерсон Ф.З., Белкина Л.М., Дюсенов С.С., Салтыкова В.А., Шабунина Е.В. Предупреждение нарушений электрической стабильности сердца при экспериментальном инфаркте с помощью предварительной адаптации к кратковременным стрессорным воздействиям и антиоксиданта ионола. Кардиология. - 1986. - № 8. - С. 19-24.
9. Меерсон Ф.З., Копылов Ю.Н., Балденков Г.Н. α_1 -десенсибилизация сердца при адаптации к стрессорным воздействиям. Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 1991. - Т. 37. - С. 3-6.
10. Меерсон Ф.З., Коц Я.И., Волович В.Б., Алешин И.А., Твердохлиб В.П., Устинова Е.Е. Положительный эффект адаптации к периодической гипоксии в условиях барокамеры на идиоматические аритмии. Кардиология. - 1989. - № 6. - С. 53-56.
11. Меерсон Ф.З., Малышев И.Ю. Влияние адаптации к стрессорным воздействиям на биоэлектрическую активность, сократительную функцию и резистентность папиллярной мышцы к избытку внутриклеточного кальция. - Бюлл. эксперим. биол. мед. - 1989. - № 11. - С. 536-540.
12. Меерсон Ф.З., Малышев И.Ю. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца. М., Наука. - 1993. - 159 С.
13. Меерсон Ф.З., Малышев И.Ю., Варфоломеева Е.Ю., Варфоломеев Д.Б., Носкин А.Н. Адаптация организма к стрессорным воздействиям повышает устойчивость ядер сердечных клеток к повреждающему действию одонитовой экзогенной ДНК. Бюлл. эксперим. биол. мед. - 1991. - № 5. - С. 460-462.
14. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М., Медицина. - 1988. - 256 С.
15. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., Шабунина Е.В., Сазонтова Т.Г., Белкина Л.М. Стресс-лимитирующие системы организма и предупреждение фибрилляции сердца. Вестник АМН СССР. - 1987. - № 6. - С. 47-54.
16. Меерсон Ф.З., Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Адаптация к кратковременным стрессорным воздействиям увеличивает активность кальциевого насоса саркоплазматического ретикула и снижает скорость его инактивации при автолизе. - Вопр. мед. химии. - 1990. - № 2. - С. 55-61.
17. Меерсон Ф.З., Твердохлиб В.П., Боев В.М., Фролов Б.А. Адаптация к периодической гипоксии в терапии и профилактике. М., Наука. - 1989. - 71 С.
18. Меерсон Ф.З., Фролов Б.А., Воляник М.К. Влияние адаптации к периодическому действию гипоксии на показатели системы иммунитета и течение некоторых аллергических заболеваний. Патол. физиол. и эксперим. терапия. - 1990. - № 3. - С. 16-22.
19. Меерсон Ф.З., Фролов Б.А., Смолягин А.И., Филиппов В.К. Влияние адаптации к гипоксии на аллергические реакции немедленного и замедленного типа. Адаптация и резистентность

- организма в условиях гор. Киев., 1986. - С. 56-65.
20. Меерсон Ф.З., Шнейдер А.Б., Устинова Е.Е. Сравнительная оценка защитного эффекта адаптации к периодической гипоксии и стрессорным воздействиям при инфаркте миокарда. Кардиология. - 1990. - № 9. - С. 67-69.
21. Сидуянова В.А., Иванов Я.С., Выходцев А.Н. Влияние физической тренировки низкой интенсивности на функцию сердца больных ишемической болезнью сердца. Механизмы адаптации и компенсации, методы их тренировки, контроля и стимуляции. - Минск, 1985. - С. 154-155.
22. Сумароков А.В. Нарушение функции возбудимости сердца в отдаленные сроки после экспериментального инфаркта миокарда у собак. Патол. физиол. эксперим. терапия. - 1959. - № 6. - С. 26-30.
23. Abildskov J.A. Recognition of cardiac states at high risk of ventricular arrhythmias by means of electrocardiographic waveform. Jap. Circ. J. - 1980. - V. 44. - N 9. - P. 691-699.
24. Cooper K. Physical training programs for mass scale use: effects on cardiovascular disease - facts and theories. Ann. clin. Res. - 1982. - V. 14. - Suppl. 34. - P. 25-32.
25. Ehsani A. The mechanisms responsible for enhanced stroke volume by high intensity training in patients with ischemic heart disease. Circulation. - 1985. - V. 72. - Suppl. 111. - Abs. 1068.
26. Glavin G.B., Lockhart L.K., Rockman G.E., Hall A.M., Kiernan K.M. Evidence of "cross-stressor"-induced adaptive gastric cytoprotection. Life Sci. - 1987. - V. 402. - P. 2223-2227.
27. Kasambalides E.J., Lanks K.W. Antagonistic effects of insulin and dexamethasone on glucose-regulated and heat-shock protein synthesis. J. Cell. Physiol. - 1985. - V. 123. - P. 283-287.
28. Kiens B., Lithell H., Vessby B. Further increase in high density lipoprotein in trained males after enhanced training. Europ. J. appl. Physiol. - 1984. - V. 52. - P. 426-430.
29. Koivisto V.A., Groop L. Physical training in juvenile diabetics. Ann. clin. Res. - 1982. V. 14. - Suppl. 34. - P. 74-79.
30. Meerson F.Z. Adaptive protection of the heart: protecting against stress and ischemic damage. - Boca Ration, CRC Press. - 1991. - 290 P.
31. Meerson F.Z., Pozharov V., Mynyalenko T. Superresistance against hypoxia after preliminary adaptation to repeated stress. J. Appl. Physiol. - 1994. - V. 76. - P. 1856-1861.
32. Moalic J.M., Bauters C., Himbert D., Bercovici J., Mouas C., Guicheney P., Baudoin-Legros M., Rappoport L., Emanoil-Ravier R., Mezger V. Phenylephrine, vasopressin and angiotensin 2 as determinants of proto-oncogene and heat-shock protein gene expression in adult rat heart and aorta. J. Hypertens. - 1989. - V. 7(3). - P. 201.
33. Tanguay R.M. Transcriptional activation of heat-shock genes in eucaryotes. Biochem. Cell. Biol. - 1988. - V. 66. - P. 584-593.

Поступила 17/05-2001

* * *