

Кожевникова Л.М.<sup>1</sup>, Цорин И.Б.<sup>2</sup>, Варков А.И.<sup>2</sup>, Столярук В.Н.<sup>2</sup>,  
Вититнова М.Б.<sup>2</sup>, Колик Л.Г.<sup>2</sup>, Суханова И.Ф.<sup>3</sup>, Крыжановский С.А.<sup>2</sup>

## **Реактивность сосудов и экспрессия рецепторов эндогенных вазоконстрикторов у крыс с алкогольной кардиомиопатией и изоляционным стрессом**

<sup>1</sup> — ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

<sup>2</sup> — ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

<sup>3</sup> — ФГБНУ «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова», 119334, Москва, ул. Вавилова, д. 26

На модели алкогольной кардиомиопатии исследовано влияние хронического потребления этанола и изоляционного стресса на реактивность изолированной аорты крысы и экспрессию рецепторов эндогенных вазоконстрикторов в аорте. Принудительную алкоголизацию беспородных крыс проводили в течение 24—28 нед., используя в качестве единственного источника жидкости 10%-ный раствор этанола. При оценке результатов исследования учитывался возраст животных. Установлено, что реактивность изолированных колец аорты, выделенных из организма старых (40—45 нед.) нестрессированных крыс, в ответ на воздействие эндотелина-1 (ЕТ1), норадреналина (НА), аргининвазопрессина (АВР) или ангиотензина II (АТII) не отличается от таковой сосудов молодых животных. Однако с увеличением продолжительности жизни повышается чувствительность сосудов к вазоконстрикторному действию серотонина (5HT). Длительный изоляционный стресс и потребление высоких доз этанола на фоне стресса приводят к увеличению ЕТ1- и НА-индуцированного сокращения колец аорты и к значительному уменьшению сократительной реакции аорты на воздействие АТII и АВР. Стресс и алкоголь в сочетании со стрессом вызывают снижение уровня мРНК ЕТА-R, АТ1А-R и V1А-R и увеличение содержания мРНК  $\alpha_1$ -AR в аорте крыс. Обнаружено, что в сосудах стрессированных и алкоголизированных животных снижен уровень экспрессии цитозольных глюкокортикоидных рецепторов (GR), которые являются фактором транскрипции для генов ЕТА-R, АТ1А-R V1А-R. Предполагается, что развитие гипореактивности сосудов стрессированных и алкоголизированных крыс к действию АТII и АВР происходит в результате снижения экспрессии их рецепторов по GR-зависимому механизму. Показано, что под влиянием этанола сосуды становятся избирательно гипореактивными по отношению к действию 5HT. Механизм этого процесса пока неясен. Изменения сократительных свойств сосудов, извлеченных из организма крыс через 1 мес. после отмены приема этанола (стадия абстиненции), были аналогичны изменениям, выявленным на сосудах алкоголизированных животных. Таким образом, большое значение в нарушении нейроэндокринной регуляции сосудистого тонуса при длительном потреблении этанола имеет стрессорный компонент. Кроме того, на данной экспериментальной модели мы не получили данных в пользу непосредственного влияния этанола на развитие артериальной гипертензии.

**Ключевые слова:** алкогольная кардиомиопатия, этанол, стресс, абстиненция, тонус сосудов, экспрессия мРНК рецепторов.

**Для цитирования:** Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2015; 59(4): 45-57.

Kozhevnikova L.M.<sup>1</sup>, Tsorin I.B.<sup>2</sup>, Varkov A.I.<sup>2</sup>, Stolyaruk V.N.<sup>2</sup>,  
Vititnova M.B.<sup>2</sup>, Kolik L.G.<sup>2</sup>, Sukhanova I.F.<sup>3</sup>, Kryzhanovskii S.A.<sup>2</sup>

## **Vascular reactivity and receptor expression of endogenous vasoconstrictor in rats with alcoholic cardiomyopathy and insulation stress**

<sup>1</sup> — Institute of General pathology and pathophysiology, Russia, 125315, Moscow, Russia, Baltiyskaya str., 8

<sup>2</sup> — Institute of pharmacology. V.V. Zakusova, 125315, Moscow, Russia, Baltiyskaya str., 8

<sup>3</sup> — Institute of biology of development. N.T. Koltsova, 119334, Moscow, Russia, Vavilova str., 26

On the model of alcohol cardiomyopathy studied the effect of chronic ethanol consumption and the insulation stress on the reactivity of isolated rat aorta and the expression of the endogenous vasoconstrictor receptors in the aorta. Pushing alcoholization outbred rats was carried out for 24—28 weeks, using as the sole source of liquid 10% ethanol solution. In as-

**Для корреспонденции:** Кожевникова Любовь Михайловна, доктор мед. наук, зав. лаб. патологии клеточной рецепции ФГБНУ «НИИОПП», e-mail: lubovmih@yandex.ru

sessing the results of the study took into account the age of the animals. It is found that the reactivity of isolated aortic rings dissected from the body of old (40—45 weeks) nonstressed rats in response to endothelin-1 (ET1), noradrenaline (NA), arginine vasopressin (AVP) or angiotensin II (ATII) is not different from such reactivity for young animals. However, with the increase in life expectancy increases the sensitivity of vessels to vasoconstrictor action of serotonin (5HT). Prolonged stress insulation and the consumption of high doses of ethanol the stress lead to increased ET1- and NA- induced contraction of the aortic rings and a significant decrease in contractile response of the aorta to the impact ATII and AVP. Stress and alcohol in combination with stress causing reduction mRNA ETA-R, AT1A-R. and VIA-R and increased mRNA  $\alpha_1$ -AR in rat aorta. It is found that in the vessels of stressed and alcoholized animals reduced level of expression of cytosolic glucocorticoid receptors (GR), which is a transcription factor for genes ETA-R, AT1A-R VIA-R. It is proposed that the development of vascular hyporesponsiveness of stressed and alcoholized rats to action ATII and AVP is the result of reducing the expression of their receptors on the GR- dependent mechanism. It is shown that under the influence of ethanol vessels become hyporeactivity selectively with respect to the action of 5HT. The mechanism of this process is unclear. Importantly, the changes in the contractile properties vessels recovered from the rat at 1 month after the abolition of the reception of ethanol (step abstinence) were similar to changes found at the alcoholized animals. Thus, the importance of breaking the neuroendocrine regulation of vascular tone during long-term consumption of ethanol has a stressor components. Furthermore, in this experimental model we not received data in favor ethanol direct impact on the development of hypertension.

**Key words:** alcoholic cardiomyopathy; ethanol; stress; abstinence; vascular tone; expression of receptor mRNA.

**For citation:** *Patologicheskaya Fiziologiya I eksperimentalnaya terapiya*. 2015; 59(4): 45-57.

**For correspondence:** Kozhevnikova L.M., e-mail: lubovmih@yandex.ru

Алкогольная кардиомиопатия является одной из основных причин, определяющих высокий уровень смертности пациентов, страдающих хроническим алкоголизмом. Патогенез этого заболевания достаточно хорошо изучен — в его основе лежит некоронарогенное, невоспалительное, моноэтиологичное алкоголь-обусловленное токсическое повреждение миокарда. Если механизмы, лежащие в основе повреждающего действия алкоголя на сердечную мышцу, известны, то особенности алкоголь-обусловленного нарушения сосудистого тонуса, сопутствующего алкогольной кардиомиопатии, до настоящего времени мало изучены. Вместе с тем, эта проблема представляется достаточно актуальной, поскольку из клиники известно, что у пациентов, страдающих II стадией алкогольной кардиомиопатии, в большинстве случаев отмечается умеренное повышение АД (160—180/90—110 мм рт.ст.), имеющее тенденцию к повышению (вплоть до гипертонического криза) в период абстиненции. По мере прогрессирования заболевания и перехода его в III стадию может наблюдаться как гипертензия (преимущественно диастолическая), так и относительная гипотензия.

Впервые концепция о связи между чрезмерным потреблением этанола и развитием артериальной гипертензии была высказана в начале прошлого века [1]. В последующие годы эта гипотеза была подтверждена многочисленными эпидемиологическими исследованиями [2—4]. Тем не менее, молекулярные механизмы потенцирующего действия алкоголя на развитие артериальной гипертензии, остаются неизвестными. Это обусловлено главным образом тем, что влияние алкоголя на сердечно-сосудистую систему является многофакторным процессом, основанным на сложном взаимодействии метаболических, генетических, социальных и экологических факторов [5, 6].

Наиболее изучено негативное влияние алкоголя на центральную нервную систему [7]. Установлено, что многочисленные психические изменения, вызванные хроническим потреблением алкоголя, связаны с изменением уровня экспрессии рецепторов важнейших нейромедиаторов головного мозга глутамата, дофамина и серотонина [6, 8—11].

Возможные механизмы, лежащие в основе этанол-индуцированной гипертензии, были предложены на основании клинических и экспериментальных наблюдений. К ним относятся увеличение активности симпатической нервной системы, ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, окислительный стресс, повышение концентрации внутриклеточного  $Ca^{2+}$  в гладкомышечных клетках сосудов и дисфункция эндотелия [12—15].

Важную роль в изучении влияния хронического потребления алкоголя на миогенные механизмы регуляции сократительной функции гладкомышечных клеток сосудов играют исследования на экспериментальных моделях алкоголизма у животных. Вместе с тем, следует отметить, что результаты многочисленных экспериментальных исследований довольно противоречивы, что, по-видимому, связано с особенностями эксперимента, количеством и продолжительностью потребления алкоголя. По данным одних авторов, чувствительность аорты к вазоконстрикторному действию агониста  $\alpha$ -адренорецепторов ( $\alpha$ -AR) фенилэфрина возрастает уже через 2 дня от начала потребления 5% раствора этанола. Увеличение концентрации потребляемого этанола до 10 и 20% существенно не влияет на выраженность фенилэфрин-индуцированного увеличения сократительного ответа колец аорты, выделенной из организма крыс через 2 и 3 нед. от начала эксперимента [16]. По мере увеличе-

ния периода потребления крысами алкоголя чувствительность сосудов к вазоконстрикторному действию агонистов  $\alpha$ -AR повышается сначала в аорте, затем в сонной и брыжеечной артериях [17].

Напротив, по данным других авторов [18], потребление 7,2% раствора алкоголя в течение 4 нед. существенно не влияет на реактивность изолированных колец аорты по отношению к действию фенилэфрина, серотонина, эндотелина-1 и KCl, но потенцирует релаксацию сосудов, вызванную агонистом мускариновых рецепторов ацетилхолином. Более того, установлено, что сократительная реакция изолированных фрагментов грудного отдела аорты, извлеченного из организма крыс после 24-х нед. перорального приема 7,2% раствора этанола, снижается в ответ на воздействие агониста  $\alpha$ -AR фенилэфрина. При этом этанол не влияет на NO-зависимые механизмы релаксации колец аорты [19]. Увеличение концентрации ежедневного потребляемого раствора этанола до 20% (6 нед.) не изменяет чувствительность аорты по отношению к действию норадреналина (NA) как в присутствии, так и в отсутствие эндотелиального слоя [20]. По данным этих авторов, только при употреблении алкоголя на фоне стресса развивается гиперчувствительность сосудов к действию катехоламинов. Показано, что активация  $\alpha$ -AR индуцирует высвобождение эндотелиальными клетками простагландинов, которые усиливают сокращение гладкомышечных клеток (ГКМ) сосудов. Гиперреактивность сосудов по отношению к NA устраняется путем удаления эндотелия или в присутствии ингибитора циклооксигеназы индометацина [20].

Показано, что длительное потребление этанола приводит к повышению уровня эндотелина-1 в крови [21] и увеличению ET1-индуцированного сокращения изолированных фрагментов сонной артерии крыс, при этом в сосудах экспрессия мРНК вазоконстрикторных ETA и вазодилаторных ETB-рецепторов остается неизменной [22]. В настоящее время остаются не ясными процессы, лежащие в основе негативного влияния хронического потребления алкоголя на рецепторопосредованные механизмы регуляции миогенного тонуса сосудов [23, 24].

*Цель настоящего исследования* — изучение реактивности сосудов и особенности экспрессии мембранных рецепторов эндогенных вазоконстрикторов у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией и сопутствующим изоляционным стрессом.

### Методика

Эксперименты выполнены на беспородных белых крысах-самцах ( $n = 35$ ), полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Феде-

рального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая». Животные содержались в стандартных условиях вивария ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» в зависимости от условий эксперимента (см. ниже) в общих клетках (580 x 375 x 200 мм) в группах по пять особей в каждой или отдельно, в индивидуальных клетках (370 x 200 x 150 мм) при контролируемом освещении (12 ч — свет/12 ч — темнота) и постоянной температуре (21—23°C) со свободным доступом к воде и брикетированному корму в течение 10 суток до начала тестирования. Условия содержания животных соответствовало приказу МЗ РФ № 708н «Об учреждении правил лабораторной практики» от 23.08.2010 и этическим нормам, изложенным в Правилах лабораторной практики (GLP) Хельсинской декларации (2000).

Включенные в исследование животные были рандомизированы на 5 групп:

- 1-я группа ( $n = 10$ , возраст 10—12 нед., масса 180—230 г) — интактные «молодые» крысы. Животные содержались в общих клетках в течение 2 нед.;
- 2-я группа ( $n = 10$ , возраст 40—45 нед., масса 480—550 г) — интактные «старые» крысы. Животные содержались в общих клетках в течение 28 нед.;
- 3-я группа ( $n = 5$ , возраст 40—45 нед., масса 480—600 г) — «старые» стрессированные крысы. Животные содержались в индивидуальных клетках в течение 28 нед. Длительную принудительную изоляцию рассматривали как модель изоляционного стресса;
- 4-я группа ( $n = 5$ , возраст 40—45 нед., масса 480—600 г) — «старые» стрессированные крысы со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией. Животные содержались в индивидуальных клетках в течение 28 нед. Алкогольную кардиомиопатию моделировали согласно разработанной нами трансляционной модели, воспроизводящей эту патологию [25] и свидетельствующей о том, что дилатационная алкогольная кардиомиопатия формируется у крыс к концу 24-й нед. принудительного потребления алкоголя. Принудительную алкоголизацию животных проводили путем использования в качестве единственного источника жидкости 10%-ного водного раствора этанола в течение 24 нед. На протяжении всего периода исследования еженедельно регистрировали количество потребляемого этанола (г/кг в пересчете на чистый этанол среднее потребление алкоголя в течение эксперимента варьировало в пределах 5,0—6,5 г/кг в сут.);
- 5-я группа ( $n = 5$ , возраст 40—45 нед., масса 480—600 г) — «старые» стрессированные крысы со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в состоянии алкогольной абстиненции. Животные содержались в индивидуальных клетках в течение 28 нед. Алкогольную кардиомиопатию воспроизво-

дили также как и у животных 4-й группы. По окончании 24 нед. алкоголизации прекращали принудительный прием алкоголя, заменив его питьевой водой, которую крысы получали в течение 1 мес.

Оценку влияния длительного воздействия стресса, алкогольной кардиомиопатии и абстинентного синдрома на сократительные свойства сосудов и экспрессию рецепторов эндогенных вазоконстрикторов проводили через сутки после истечения планового срока эксперимента. Животных наркотизировали 25%-ным раствором уретана (4 мл/кг). Затем крыс декапитировали, вскрывали грудную клетку, извлекали грудной отдел аорты и помещали его в охлажденный физиологический раствор Krebsa—Хенслайта. Сосуды очищали от жировой и соединительной тканей и нарезали на кольца шириной 1,5—2,0 мм. От каждого сосуда в эксперимент брали по 2 кольца. Кольцевые фрагменты сосудов крепили на держателях, помещенных в раствор Krebsa—Хенслайта (37°C), аэрируемый смесью O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>(95/5%). Состав раствора Krebsa—Хенслайта в мМ: NaCl — 121; KCl — 4,69; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1,1; NaHCO<sub>3</sub> — 23,8; MgSO<sub>4</sub> — 1,6; CaCl<sub>2</sub> — 1,6; ЭДТА — 0,032; D-глюкоза — 8. Силу сокращения изолированных фрагментов аорты измеряли в изометрическом режиме по методу Мульвани согласно ранее описанному протоколу [26]. Функциональную активность вазоконстрикторных рецепторов оценивали с помощью фармакологического анализа с применением селективных лигандов. Были использованы серотонин (5HT), норадреналин (NA), эндотелин-1 (ET1), аргининвазопрессин (AVP) и ангиотензин II (ATII) (Sigma, США). О целостности эндотелиального слоя сосудов судили по степени их расслабления на действие агониста мускариновых рецепторов карбахола (Sigma).

#### *Препарирование тканей для молекулярных исследований*

Препарирование тканей грудного отдела аорты крысы, для молекулярных исследований, проводили в физиологическом растворе при +4°C. После очистки фрагмента аорты от соединительной ткани и жира его помещали в Ever Fresh RNA (Силекс) и хранили до выделения РНК при -20°C. Сосуд, извлеченный из раствора Ever Fresh RNA, освобождали от остатков жидкости и гомогенизировали при помощи жидкого азота и фарфоровой ступки и переносили в TRI<sup>®</sup> Reagent (Sigma), исходя из пропорции на 1 образец 1 мл реагента.

#### *Выделение тотальной РНК*

Выделение тотальной РНК из аорты крысы осуществляли с помощью TRI<sup>®</sup> Reagent (Sigma) согласно протоколу производителя.

#### *Синтез кДНК библиотек*

Концентрацию РНК и примесей в образцах определяли на спектрофотометре NanoDrop<sup>®</sup> ND-1000 («ThermoFisherScientificInc.», США). В дальнейшую пробоподготовку брали образцы суммарной РНК с отношением показателей абсорбции при длинах волн 260/280 нм не ниже 1,7. Основываясь на полученных данных о концентрации тотальной РНК в растворе, брали 1 мкг тотальной РНК для обработки ДНКазой (Fermentas) согласно протоколу производителя. кДНК библиотеки синтезировали с помощью набора «Синтез первой цепи кДНК» (Силекс, Россия) согласно протоколу производителя с использованием гексануклеотидных праймеров.

#### *ПЦР в реальном времени*

Для амплификации полученных в ходе реакции ОТ фрагментов комплементарной ДНК исследуемых генов и детектирования в режиме реального времени продуктов ПЦР (ПЦР-РВ) использовали специфические праймеры и универсальный набор реактивов фирмы «Евроген» (Россия), содержащий референтный краситель ROX. ПЦР в реальном времени проводили на приборе ABI Prism 7500 по следующему температурно-временному протоколу:

- 1) начальная денатурация — 95°C, 5 мин;
- 2) термоциклирование (45 циклов) с шагами денатурация — 95°C, 15 с, отжиг и элонгация — 60°C, 1 мин.

Протестировав β-актин, eF1A (elongation factor 1 alpha) и GAPDH в качестве возможных эндогенных контролей нами был выбран β-актин, так как его экспрессия имела наименьший разброс во всех исследованных образцах.

Праймеры для генов β-актин, eF1A, ratAdra1a, rat V1A-R, rat ETA-R, rat AT1A-R, rat GR были предоставлены ООО «ДНК-Синтез» с дополнительным праймером-зондом, содержащим флуоресцентный краситель FAM и его тушитель BHQ1. Для 5HT-рецепторов использованы следующие последовательности праймеров:

- 5HT2A-R —  
F=5'-CGCTATGTCGCCATCCAGAAC-3',  
R=5'-CAGATATGGTCCACACGGCAATG-3',  
зонд=5'-FAM-TCACCACAGCCGCTTCAACTCCAGA-BHQ1-3';

- для 5HT2B-R —  
F=5'-TGC TGA CAA AGG AAC GTT TTG G -3'  
R=5'-TTA GGC GTT GAG GTG GCT TG -3'  
зонд=5'-FAM-TGC TCT TTG GCT CAC TGG CTG CCT -BHQ1-3'

Обработка полученных данных проводилась с использованием метода ddCt с учетом эффективности праймеров. Статистическая обработка данных прово-

дилась по программам Sigma Plot и Statistica 6.0. При оценке данных использовали *t*-критерий Стьюдента. Различия между показателями считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

### Влияние хронического потребления этанола и изоляционного стресса на реактивность изолированных колец аорты крыс

Установлено, что чувствительность изолированных колец аорты, выделенных из организма старых крыс (2-я группа), по отношению к действию эндотелина-1, норадреналина, ангиотензина II и аргининвазопрессина существенно не отличается от таковой сосудов молодых животных (1-я группа) (рис. 1). Вместе с тем, с увеличением продолжительности жизни животных повышается реактивность сосудов к вазоконстрикторному действию низких и средних доз серотонина (0,1—5 мкМ). Так, сила сокращения аорты на воздействие моноамина в концентрации 1 мкМ возрастает в 1,7 раза по сравнению с реакцией сосудов молодых крыс (1-я группа) ( $535 \pm 18$  и  $324 \pm 13$  мг соответственно) (рис. 1).

Выявлено, что при длительной изоляции крыс (3-я группа) развиваются различные по выраженности и направленности изменения сосудистой реактивности по отношению к исследуемым вазоконстрикторным соединениям. В результате продолжительного воздействия стресса достоверно возрастает сила изометрического сокращения колец аорты в ответ на воздействие NA и в большей степени ET1 по сравнению с реакцией сосудов молодых и старых нестрессированных крыс (рис. 1). Установлено, что сосуды старых стрессированных крыс, как и сосуды старых крыс, гиперреактивны к вазоконстрикторному действию 5HT (2-я группа). Вместе с тем, наблюдается значительное снижение чувствительности сосудов стрессированных крыс к действию АТII и AVP, о чем свидетельствовало уменьшение агонист-индуцированного прироста силы сокращения аорты в 3 и 2,2 раза соответственно по сравнению с реакцией сосудов молодых и старых животных (1-я и 2-я группы) (рис. 1).

Как видно на рис 1, при длительном потреблении этанола в сочетании со стрессом (4-я группа) еще в большей степени возрастает чувствительность изолированных колец аорты к действию ET1 и NA и значительно уменьшается вазоконстрикторный ответ на АТII и AVP. Следует отметить, что степень снижения сократительной реакции на воздействие АТII и AVP сосудов алкоголизованных на фоне стресса крыс была сопоставима с реакцией сосудов стрессированных крыс (3-я группа).

Этанол противоположным образом изменял реакцию изолированных колец аорты в ответ на воздействие 5HT (рис. 1). Сосуды алкоголизованных крыс были гипореактивны по отношению к действию 5HT, в то время как сосуды животных 2-й и 3-й групп, напротив, гиперреактивны. Так, прирост силы сокращения сосудов алкоголизованных крыс в ответ на воздействие 5HT в концентрации 1 мкМ уменьшается в 3,8 раза по сравнению с реакцией сосудов, выделенных из организма старых и старых стрессированных крыс, и в 2 раза по сравнению с сосудами молодых животных (1-я группа).

Характер изменений сократительных свойств сосудов, извлеченных из организма крыс после отмены приема этанола в состоянии абстиненции (5-я группа), был аналогичен тем, которые мы наблюдали на сосудах алкоголизованных животных (4-я группа). Вместе с тем отмена потребления алкоголя оказывала дополнительное негативное влияние на сниженную стрессом и алкоголем чувствительность сосудов к вазоконстрикторному действию AVP (рис. 1). AVP-индуцированный прирост силы сокращения колец аорты, выделенных из организма крыс в состоянии абстиненции, уменьшался до 24%, а у непрерывно потребляющих алкоголь — до 58% по сравнению с контролем (1-я и 2-я группы). Кроме того, через

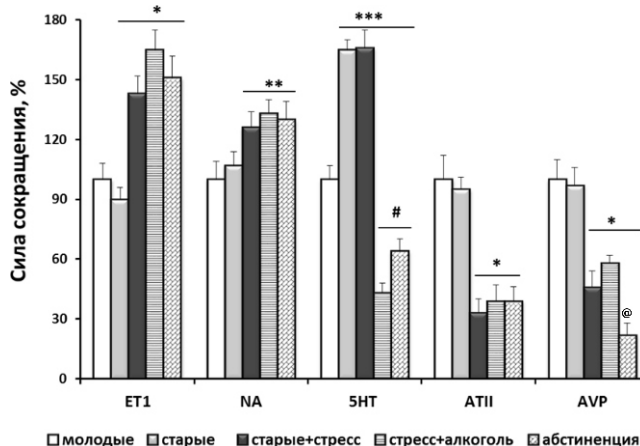
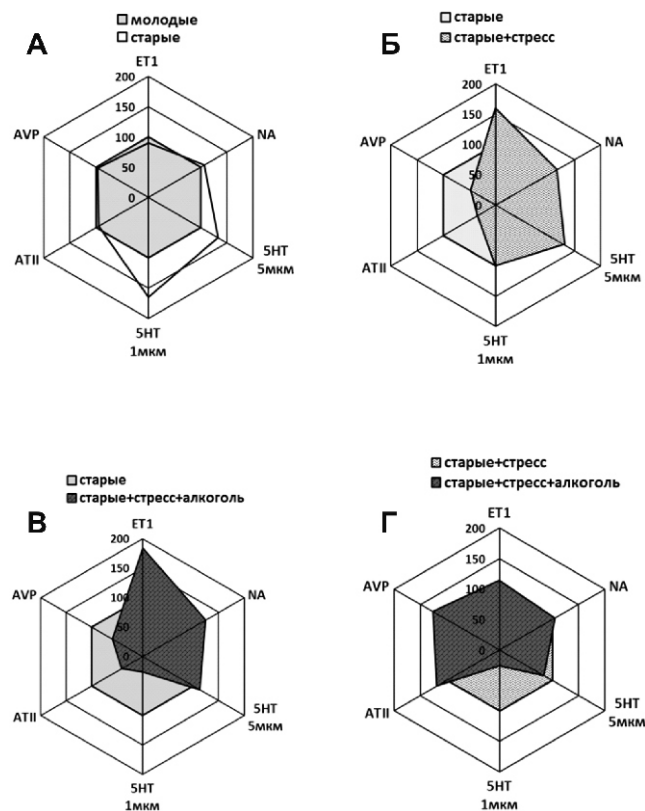
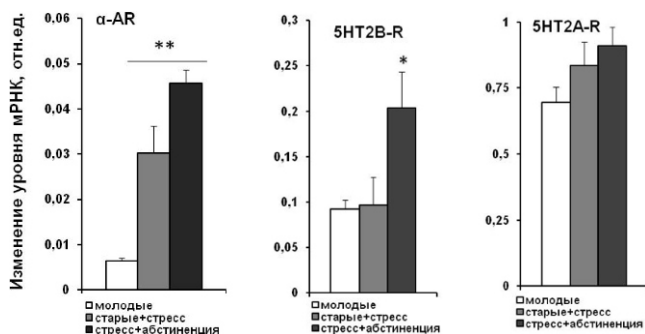


Рис. 1. Влияние длительного воздействия изоляционного стресса и алкоголя на сократимость изолированных колец аорты в ответ на воздействие эндотелина-1 (ET1), норадреналина (NA), серотонина (5HT), ангиотензина II (АТII) и аргининвазопрессина (AVP). За 100% принята величина агонист-индуцированного сокращения колец аорты молодых крыс (1-я группа).

\* —  $p < 0,01$  для ET1, АТII и AVP по сравнению с реакцией сосудов молодых (1-я группа) и старых нестрессированных (2-я группа) крыс;  
 \*\* —  $p < 0,05$  для NA по сравнению с 1-й и 2-й группой;  
 \*\*\* —  $p < 0,01$  для 5HT по сравнению с 1-й группой;  
 # —  $p < 0,01$  для 5HT по сравнению с сосудами молодых, старых и старых стрессированных (3-я группа) крыс;  
 @ —  $p < 0,05$  для AVP различия между реакцией сосудов алкоголизованных (4-я группа) и находящихся в состоянии абстиненции (5-я группа) крыс.



**Рис. 2.** Влияние возраста животных (А), продолжительного изоляционного стресса (Б) и алкоголизации (В, Г) на реактивность изолированных колец аорты по отношению к действию эндогенных вазоконстрикторов. На каждом луче лепестковой диаграммы представлены контрольные данные (принятые за 100%), полученные на сосудах молодых (1-я группа, А), старых (2-я группа, Б, В) и старых стрессированных (3-я группа, Г) крыс и данные соответствующих групп сравнения.



**Рис. 3.** Изменение уровня мРНК генов  $\alpha$ -адренорецепторов ( $\alpha$ -AR) и серотониновых рецепторов 5HT2В- и 5HT2А-типа в аорте стрессированных (3-я группа) и алкоголизованных крыс в состоянии абстиненции (5-я группа). \* —  $p < 0,05$  и \*\* —  $p < 0,01$  по сравнению с уровнем мРНК в аорте молодых крыс.

1 мес. после прекращения принудительной алкоголизации животных наблюдалась тенденция к увеличению сниженной под влиянием алкоголя чувствительности сосудов к действию 5HT (рис. 1).

Данные, полученные в экспериментах *in vitro*, свидетельствуют о том, что длительное воздействие стресса или стресса в сочетании с потреблением этанола приводят к значительным изменениям реактивности сосудов, которые проявляются в виде гиперчувствительности к действию ET1 и NA и гипореактивности по отношению к действию AVP, ATII и 5HT (рис. 2, Б, В). Причем алкоголь избирательно негативно влияет на серотонинергическую регуляцию сократимости сосудов, усугубляя таким образом изменения, вызванные длительным изоляционным стрессом (рис. 2, Г).

*Влияние хронического потребления этанола и изоляционного стресса на экспрессию рецепторов в аорте крыс*

Выявленные изменения реактивности изолированных колец аорты стрессированных и алкоголизованных крыс могли быть обусловлены комплексом причин, и, прежде всего, нарушениями на уровне рецепторов и сигнальных систем в гладкомышечных и эндотелиальных клетках. Поэтому в следующих сериях опытов нами было изучено влияние длительного потребления этанола и стресса на экспрессию рецепторов эндогенных вазоконстрикторов, локализованных в плазматической мембране, а также цитозольных глюкокортикоидных рецепторов (GR). Как видно на рис. 3, изоляционный стресс приводит к многократному увеличению уровня экспрессии  $\alpha$ -адренорецепторов ( $\alpha$ -AR) в аорте крыс. Еще в большей степени возрастает содержание мРНК  $\alpha$ -AR в сосудах алкоголизованных крыс после отмены этанола (5-я группа): содержание их мРНК возрастает в 7 и 1,5 раза по сравнению с аналогичными величинами в сосудах молодых и стрессированных животных соответственно (рис. 3). При абстинентном синдроме в аорте более чем в 2 раза увеличивается содержание мРНК для серотониновых рецепторов 5HT2В-типа и не изменяется для рецепторов 5HT2А-типа (рис. 3).

Выявлено, что в сосудах, извлеченных из организма старых стрессированных крыс (3-я группа), снижается содержание мРНК для эндотелиновых рецепторов ETA-типа (ETA-R) (рис. 4, А). Уменьшается экспрессия генов, ответственных за синтез ангиотензиновых (AT1A-R) и вазопрессиновых (V1A-R) рецепторов. Так, в аорте стрессированных животных уровень мРНК для AT1A-R и V1A-R снижается в 1,9 и 1,8 раза по сравнению с содержанием мРНК этих рецепторов в сосудах молодых крыс соответственно (рис. 4, Б, В). Аналогичные данные об уменьшении

содержания мРНК для ETA-R, AT1A-R и V1A-R получены и на сосудах алкоголизованных крыс.

Судя по результатам исследований, определяющее значение в снижении уровня мРНК для AT1A-R и V1A-R и в развитии гипореактивности сосудов по отношению к действию АП II и АVP имеет длительное воздействие стресса, а не этанола. Поскольку важную роль в реализации стресс-реакции играют глюкокортикоидные гормоны, нами было изучено влияние изоляционного стресса и этанола на экспрессию цитозольных GR в сосудах. Установлено, что с увеличе-

нием продолжительности жизни животных в аорте крыс увеличивается содержание мРНК для GR (рис. 4, Г). В то время как в сосудах старых крыс, подвергнутых длительному воздействию стресса или стресса в сочетании с потреблением этанола, напротив, содержание мРНК для GR уменьшается в 1,7 и 1,6 раза соответственно по сравнению с сосудами старых животных (рис. 4, Г).

Известно, что стресс, вызванный различными социальными факторами, провоцирует потребление алкоголя и способствует алкоголизации населения [27,

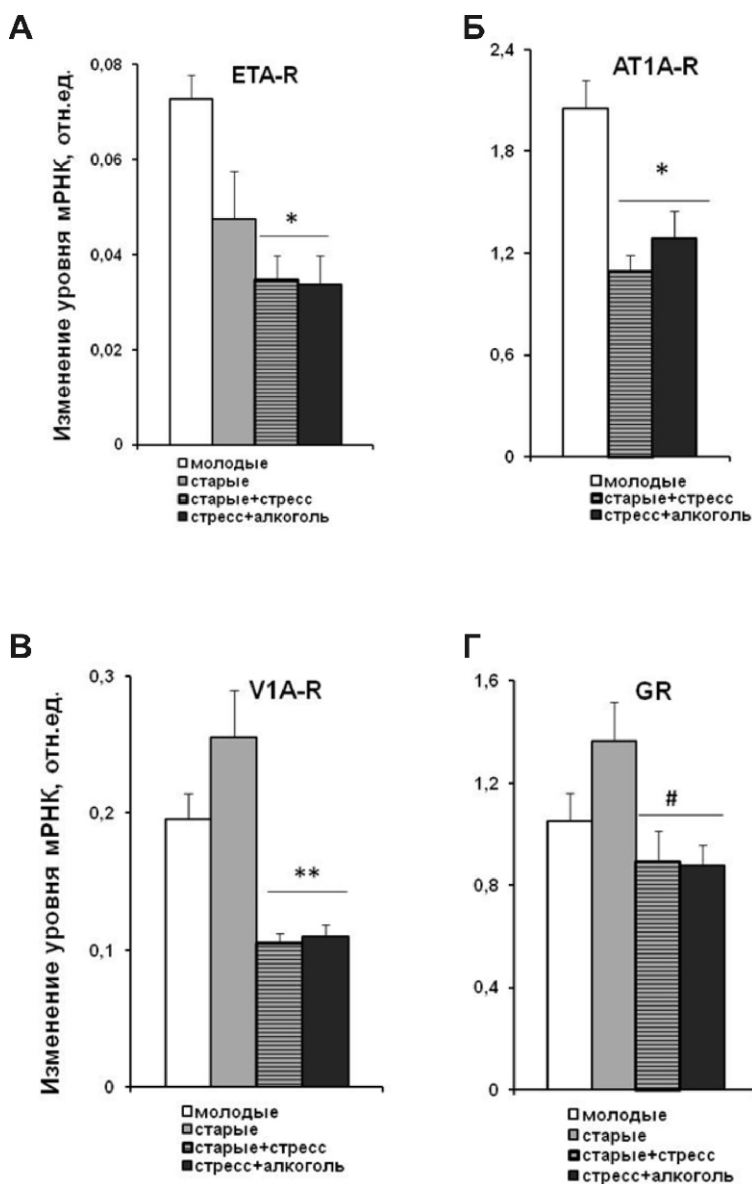


Рис. 4. Изменение уровня мРНК генов эндотелиновых (ETA-R, А), ангиотензиновых (AT1A-R, Б), вазопрессиновых (V1A-R, В) и глюкокортикоидных (GR, Г) рецепторов в аорте старых (2-я группа), стрессированных (3-я группа) и алкоголизованных (4-я группа) крыс. \* —  $p < 0,05$  по сравнению с уровнем мРНК в аорте молодых крыс (1-я группа); \*\* —  $p < 0,01$  по сравнению с 1 и 2 группой; # —  $p < 0,05$  по сравнению со 2-й группой.

28]. Несмотря на то, что экспериментальные и эпидемиологические исследования свидетельствуют о важной патогенетической роли стресса и хронического потребления этанола в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, тем не менее, многие аспекты негативного влияния этанола на развитие, в частности, артериальной гипертензии, остаются неясными. Полагают, что низкие дозы алкоголя могут уменьшать артериальное давление за счет позитивного влияния на экспрессию NO-синтазы и синтез NO в эндотелиальных клетках, в то время как хроническое потребление больших доз алкоголя приводит к дисфункции эндотелия [29, 30]. Более того, в ряде работ показано, что длительное хроническое потребление алкоголя либо не влияет на показатели артериального давления [20, 31], либо, напротив, оказывает гипотензивный эффект [32, 33]. Как свидетельствуют многочисленные исследования, потребление этанола на фоне стресса может вызывать повышение артериального давления, а выраженность негативного влияния на тонус кровеносных сосудов зависит от характера, силы и продолжительности стресса.

Полученные в настоящем исследовании данные также свидетельствуют о том, что длительное потребление этанола в сочетании с воздействием стресса приводит к значительным изменениям сократительных свойств сосудов и экспрессии рецепторов эндогенных вазоконстрикторов. При этом большой вклад в дисрегуляцию тонуса сосудов вносит стрессорный компонент. Так, в сосудах, выделенных из организма стрессированных, алкоголизованных на фоне стресса или в состоянии абстиненции крыс, в равной степени повышается чувствительность к действию NA. Следует отметить, что при относительно небольшом NA-индуцированном увеличении сократительной реакции колец аорты стрессированных крыс и крыс в условиях отмены этанола, уровень экспрессии  $\alpha$ -AR в аорте возрастает многократно (рис. 1 и 3). Возможно, это обусловлено тем, что скорость синтеза мРНК при активации экспрессии данных рецепторов превосходит скорость синтеза их рецепторных белков. По-видимому, аналогичным образом возрастает экспрессия  $\alpha$ -AR и в сосудах алкоголизованных животных.

Напротив, гиперчувствительность к действию ET1 изолированных колец аорты стрессированных и алкоголизованных крыс сохраняется в условиях сниженного уровня экспрессии ETA-R, посредством которых реализуется вазоконстрикторный эффект ET1 (рис. 1 и 4, А). Реакция сосудов определяется соотношением активностей рецепторов ETA/ETB. Дисбаланс этих рецепторов в пользу ETA является патогенетическим фактором развития гипертензии. Ранее было установлено, что потребление этанола

в течение 2—10 нед. приводит к увеличению силы ET1-индуцированного сокращения сосудов, при этом уровень мРНК для ETA- и ETB-рецепторов оставался неизменным. Однако в эндотелиальных клетках уменьшалось содержание вазодилаторных ETB-R [22]. Это позволило авторам предположить, что потребление этанола приводит к дисбалансу на уровне соотношения ETA- и ETB-рецепторов в пользу первых. В наших исследованиях принудительную алкоголизацию крыс осуществляли в течение 28 нед., что, несомненно, должно приводить к более негативным последствиям, о чем свидетельствуют полученные нами данные о снижении уровня экспрессии ETA-R. Вероятно, длительное потребление этанола еще в большей степени угнетает синтез и ETB-R, поскольку, как было отмечено выше, уже через 2 нед. потребления этанола уменьшается содержание этих рецепторов [22]. Кроме того, под влиянием этанола увеличение ET1-индуцированного сокращения аорты крыс при сниженной экспрессии ETA-R могло быть обусловлено активацией Rho-киназного сигнального каскада, а также накоплением активных форм кислорода в ГМК.

Известно, что стресс и хроническое потребление этанола вызывают активацию ренин-ангиотензиновой системы [34]. Нами впервые установлено, что сосуды, извлеченные из организма крыс, подвергнутых длительному воздействию легкого стресса, вызванного изоляцией животных, гипореактивны по отношению к вазоконстрикторному действию AVP и АПГ. Аналогичные результаты получены и на сосудах алкоголизованных и находящихся в состоянии абстиненции животных. Основным компонентом ренин-ангиотензиновой системы является АПГ, вазоконстрикторный эффект которого реализуется через локализованные в ГМК рецепторы AT1-типа. В эндотелиальных клетках сосудов экспрессируются AT1- и AT2-рецепторы, которые контролируют секрецию эндотелий-расслабляющих факторов. Сигнализация от этих рецепторов носит антагонистичную направленность по отношению друг к другу [35]. В норме, преобладает вазоконстрикторный эффект АПГ [36, 37]. Хроническое потребление этанола вызывает активацию данной эндокринной системы [34]. Установлено, что через 6 нед. потребления этанола (20% в/в) в плазме повышается активность ренина, ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), возрастает уровень АТ1, АТ2 и альдостерона [23]. Вместе с тем, потребление этанола не влияет на активность АПФ и уровни АТ1 и АТ2 в аорте и брыжеечной артерии крыс, а также не изменяет экспрессию рецепторных белков и АПФ [24]. Судя по результатам этих исследований, в сосудах алкоголизованных животных не возрастает активность локальной ре-



нин-ангиотензиновой системы. По мнению авторов, при хроническом потреблении этанола повышение артериального давления может быть обусловлено АТ1А-индуцированным накоплением активных форм кислорода и снижением биодоступности оксида азота.

Следует подчеркнуть, что в упомянутых выше работах период принудительной алкоголизации крыс составлял 6 нед., в то время как в наших исследованиях — 24—28 нед., что существенным образом могло отразиться на характере изменений функциональной активности и экспрессии АТ1А-*R* V1А-*R* в сосудах и развитии гипореактивности по отношению к действию АVP и АПІІ. Так, в исследованиях Наттона и соавт. [32] установлено, что у крыс, потреблявших 36% раствор этанола в течение 18 нед., снижается систолическое давление. При этом у алкоголизированных животных прессорная реакция на внутривенное введение NA не изменяется, но значительно снижается в ответ на введение АПІІ. Мы предположили, что выявленные нами изменения реактивности сосудов развиваются по глюкокортикоид-зависимому механизму.

Основной гормональной системой ответа организма на стресс является гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось, ответственная за выработку стресс-гормонов. Изменения в регуляции данной системы и стресс являются факторами риска развития алкогольной зависимости [38, 39]. Исследования показали, что кортизол, влияя на различные структуры мозга, может усиливать негативное влияние алкоголя на когнитивное поведение и провоцировать рецидивы его потребления [40]. Полагают, что активация цитозольных GR в мозге способствует нейроадаптации к воздействию этанола и развитию зависимости [41, 42]. Показано, что под влиянием этанола в префронтальной коре, прилежащем ядре и ядре ложа конечной полоски снижается уровень экспрессии GR, в то время как в амигдале и гиппокампе он остается неизменным [43]. В стадии абстиненции, напротив, до нормальных величин возрастает сниженный уровень экспрессии GR в перечисленных структурах мозга и статистически достоверно повышается в других. Эти результаты позволили авторам предположить, что GR являются посредником этанол-индуцированной нейротоксичности в мозге и развитии алкогольной зависимости.

При остром и хроническом потреблении этанола, а также при абстинентном синдроме у человека и экспериментальных животных в плазме значительно увеличен уровень глюкокортикоидных гормонов [44—46]. Главная роль в реализации эффекта глюкокортикоидов принадлежит GR. Являясь фактором транскрипции, они способны как активировать, так и подавлять экспрессию генов рецепторных белков и

ферментов. Под их влиянием усиливается транскрипция генов для V1А-, АТ1А- и ЕТА-рецепторов и подавляется для ЕТВ- и 5НТ1А-рецепторов [47-51]. При длительном снижении содержания GR нарушается глюкокортикоидзависимый синтез этих белков. Ранее нами была установлена прямая зависимость между силой вызванного АVP или АПІІ сокращения изолированных колец аорты, уровнем экспрессии рецепторов V1А- и АТ1А-типа, с одной стороны, и содержанием мРНК для GR в сосудах, с другой. Так, при активации GR путем инкубации сосудов в течение 24 ч с дексаметазоном в 2 и 3 раза по сравнению с контролем усиливается вазоконстрикторная реакция сосудов в ответ на воздействие АПІІ или АVP, но не NA, ЕТ1, 5НТ, и эти изменения были обусловлены выраженным дексаметазон-индуцированным увеличением экспрессии V1А- и АТ1А-рецепторов [52]. Напротив, десенситизация GR длительным введением крысам больших доз дексаметазона приводит к снижению содержания мРНК для GR, V1А- и АТ1А-рецепторов и уменьшению силы сокращения изолированных колец аорты в ответ на воздействие АПІІ и АVP [53, 54].

Аналогичное снижение уровня экспрессии GR, V1А- и АТ1А-рецепторов выявлено и в сосудах алкоголизированных и стрессированных крыс. Наиболее значительным было снижение содержания мРНК для V1А- и АТ1А-рецепторов. С учетом данных литературы и результатов собственных исследований есть основания полагать, что развитие гипореактивности сосудов стрессированных, алкоголизированных или находящихся в состоянии абстиненции крыс по отношению к АVP или АПІІ обусловлено снижением экспрессии генов, ответственных за синтез рецепторных белков. Основной причиной развития этого процесса является снижение функциональной активности GR, которое может быть обусловлено как уменьшением уровня экспрессии этих рецепторов, о чем свидетельствуют результаты настоящего исследования, так и их истощением, вызванным высоким уровнем глюкокортикоидных гормонов в плазме стрессированных и алкоголизированных животных. Кроме того, мы полагаем, что нарушение регуляции тонуса сосудов на уровне межрецепторного взаимодействия GR, V1А- и АТ1А-рецепторов вызваны стрессом или стрессом в сочетании с этанолом, но не отдельно этанолом. В работе и соавт. [20] показано, что содержание кортикостерона в плазме крыс возрастает при стрессе и при его сочетании с алкоголем, в то время как при потреблении одного этанола остается неизменным. Тем не менее, в исследованиях, проводимых на добровольцах, установлено, что уровень кортизола на стресс в большей степени возрастает у лиц, потребляющих большие дозы алкоголя, чем у умеренно потребляющих лиц (3,5 и

0,7 нмоль/л соответственно) [30]. Все это свидетельствует о сложных механизмах негативного влияния алкоголя на функцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая оси и их последствий на уровне центральной нервной системы и периферических тканей.

Впервые выявлено негативное влияние этанола на серотонинергическую регуляцию тонуса кровеносных сосудов, о чем свидетельствует подавление сократительного ответа изолированных колец аорты в ответ на воздействие низких и средних концентрация 5HT. Через 1мес после отмены приема этанола наблюдалась тенденция к относительной нормализации 5HT-индуцированного сокращения (рис. 1). Следует подчеркнуть, что с увеличением продолжительности жизни животных и при длительном воздействии изоляционного стресса, напротив, развивается гиперреактивность сосудов по отношению к действию данного моноамина. Роль центральной серотонинергической системы в механизмах формирования алкогольной зависимости и абстинентного синдрома изучена относительно хорошо [8, 55—58]. Полагают, что негативное влияние алкоголя на важнейшие нейромедиаторные системы мозга и нарушение когнитивных функций реализуется через серотониновые рецепторы 5HT<sub>3</sub>-, 5HT<sub>1A</sub>- и 5HT<sub>2A/2C/2B</sub>-типа, а также через 5HT-транспортер.

Влияние этанола на функцию серотонинергической системы в периферических тканях, в том числе в сосудах, изучено в меньшей степени. В экспериментах на изолированной хвостовой артерии крыс показано, что этанол в концентрации 0,03 М усиливает, в концентрации 0,1 М — не изменяет чувствительность сосудов к действию 5HT, а в концентрации 0,3 М ингибирует 5HT-индуцированное сокращение. Кроме того, сосуды, извлеченные из организма крыс после однократного приема этанола (2 г/кг), были менее чувствительны к действию 5HT [59]. Пока неясен механизм этого феномена. Традиционно считается, что вазоконстрикторный эффект 5HT реализуется, главным образом, через 5HT<sub>2A</sub>-рецепторы. Судя по результатам исследования, уровень экспрессии этих рецепторов в сосудах, извлеченных из организма алкоголизованных животных в период отмены этанола, существенно не изменяется (рис. 3). Однако в этих сосудах почти в 2 раза увеличивается содержание мРНК для 5HT<sub>2B</sub>-рецепторов. Ранее нами было показано, что воздействие агониста 5HT<sub>2B</sub>-рецепторов BW 723C86 на предсокращенные сосуды приводит к их расслаблению [60, 61]. Однако до сих пор нет четкого представления о механизмах его релаксирующего действия, как и нет единого мнения о функциональной роли 5HT<sub>2B</sub>-рецепторов в кровеносных сосудах. Судя по данным литературы, важнейшая функция этих рецепторов заклю-

чатся в их модулирующем влиянии на активность 5HT-транспортера (5HTT). Многие ингибиторы 5HTT обладают агонистической активностью по отношению к 5HT<sub>2B</sub>-R [62, 63]. Ранее мы показали, что ингибиторы 5HT-транспортера значительно уменьшают прирост силы сокращения аорты крыс, вызванный действием 5HT, и расслабляют предсокращенные сосуды аналогично тому, как это наблюдается при воздействии на них агониста 5HT<sub>2B</sub>-R BW 723C86. В качестве гипотезы можно предположить, что под влиянием алкоголя нарушается функция 5HT-транспортера, что приводит к уменьшению поступления моноамина в клетку и угнетению рецептор-независимых механизмов регуляции сократимости ГМК сосудов. И к этому процессу, по-видимому, причастны 5HT<sub>2B</sub>-R, поскольку только в сосудах алкоголизованных животных в стадии абстиненции наблюдается двукратное увеличение содержания мРНК для этих рецепторов. Однако для подтверждения данной гипотезы необходимо продолжить исследования в данном направлении, а также исследовать причастность других типов 5HT-рецепторов к развитию гипореактивности сосудов к действию серотонина.

## Заключение

Таким образом, у крыс с дилатационной алкогольной кардиомиопатией развиваются различные по степени выраженности и направленности изменения реактивности сосудов по отношению к эндогенным вазоконстрикторным соединениям. Полученные данные свидетельствуют о том, что важнейшим патогенетическим звеном нарушения нейроэндокринной регуляции сосудистого тонуса при хроническом алкоголизме в сочетании со стрессом является выявленное в наших исследованиях угнетение экспрессии и функциональной активности глюкокортикоидных рецепторов в сосудах. GR положительно регулируют транскрипцию многих рецепторных и регуляторных белков, в том числе AT<sub>1A</sub>-R, ангиотензинпревращающего фермента и V<sub>1A</sub>-R. Поэтому мы полагаем, что развитие гипореактивности к действию ATII и AVP и снижение экспрессии AT<sub>1A</sub>-R и V<sub>1A</sub>-R в сосудах стрессированных и алкоголизованных животных является GR-зависимым процессом. Не исключено, что уменьшение уровня мРНК для ETA-R также обусловлено сниженной активностью GR.

Особый интерес представляют данные о влиянии этанола на серотонинергическую регуляцию сократимости сосудов. Из всех рассмотренных в настоящем исследовании систем, участвующих в регуляции тонуса кровеносных сосудов, этанол сам по себе избирательно угнетает 5HT-индуцированное сокращение

изолированных колец аорты крыс. И это при том, что с увеличением продолжительности жизни, а также под влиянием стресса, которому животные подвергались в процессе моделирования алкогольной кардиомиопатии, напротив, увеличивается чувствительность сосудов к действию 5НТ. Понять механизмы, лежащие в основе этого процесса, нам представляется крайне важным. Результаты собственных исследований, а также данные литературы, позволяют предположить, что выявленные нарушения нейроэндокринной регуляции развиваются не только в аорте, но и в других сосудах, что может быть одним из механизмов развития полиорганной патологии при хроническом алкоголизме, в том числе способствовать развитию кардиомиопатии. Очевидно, что в настоящее время выявлена лишь малая часть патогенетических механизмов действия этанола на функцию многих систем и органов и для ответа на многие вопросы требуется большая и многоплановая работа.

Работа выполнена при поддержке РФФИ проект № 13-04-00464.

## References

- Lian C. L'alcolisme cause d'hypertension arterielle. *Bull Acad. Natl. Med.* 1915; 74: 525-8.
- Dyer A.R., Stamler J., Paul O., Berkson D.M., Lepper M.H., McKean H. et al. Alcohol consumption, cardiovascular risk factors, and mortality in two Chicago epidemiologic studies. *Circulation.* 1977; 56: 1067-74.
- Arkwright P.D., Beilin L.J., Rouse I., Armstrong B.K., Vandongen R. Effects of alcohol use and other aspects of lifestyle on blood pressure levels and prevalence of hypertension in a working population. *Circulation.* 1982; 66: 60-6.
- Friedman G.D., Klatsky A.L., Siegelaub A.B. Alcohol intake and hypertension. *Ann Intern. Med.* 1983; 98: 846-9.
- Soardo G., Donnini D., Varutti R., Milocco C., Basan L., Esposito W. et al. Effects of alcohol withdrawal on blood pressure in hypertensive heavy drinkers. *J. Hypertens.* 2006; 24(8): 1493-8.
- Ginter E., Simko V. Alcoholism: recent advances in epidemiology, biochemistry and genetics. *Bratisl. Lek. Listy.* 2009; 110(5): 307-11.
- Costin B.N., Miles M.F. Molecular and neurologic responses to chronic alcohol use. *Handb. Clin. Neurol.* 2014; 125: 157-71.
- Kenna G.A. Medications acting on the serotonergic system for the treatment of alcohol dependent patients. *Curr. Pharm. Des.* 2010; 16(19): 2126-35.
- Sari Y., Johnson V.R., Weedon J.M. Role of the serotonergic system in alcohol dependence: from animal models to clinics. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2011; 98: 401-43.
- Sari Y. Role of 5-hydroxytryptamine 1B (5-HT<sub>1B</sub>) receptors in the regulation of ethanol intake in rodents. *J. Psychopharmacol.* 2013; 27(1): 3-12.
- Stewart A., Maity B., Anderregg S.P., Allamargot C., Yang J., Fisher R.A. Regulator of G protein signaling 6 is a critical mediator of both reward-related behavioral and pathological responses to alcohol. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2015; 112(7): E786-95.
- Wakabayashi I., Hatake K. Effects of ethanol on the nervous and vascular systems: the mechanisms of alcohol-induced hypertension. *Nihon Eiseigaku Zasshi.* 2001; 55(4): 607-617.
- Kudo R., Hatake K. Effect of ethanol on nerve dependent vasorelaxation and vasoconstriction. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi.* 2011; 46(2): 241-9.
- Ceron C.S., Marchi K.C., Muniz J.J., Tirapelli C.R. Vascular oxidative stress: a key factor in the development of hypertension associated with ethanol consumption. *Curr. Hypertens Rev.* 2014; 10(4): 213-22.
- Marchi K.C., Muniz J.J., Tirapelli C.R. Hypertension and chronic ethanol consumption: What do we know after a century of study? *World J. Cardiol.* 2014; 6(5): 283-94.
- Tirapelli C.R., Al-Khoury J., Bkaily G., D'Orleans-Juste P., Lanchote V.L., Uyemura S.A., de Oliveira A.M. Chronic ethanol consumption enhances phenylephrine-induced contraction in the isolated rat aorta. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; 316(1): 233-41.
- Tirapelli C.R., Leone A.F., Coelho E.B., Restel L.B., Correa F.M., Lanchote V.L. et al. Effect of ethanol consumption on blood pressure and rat mesenteric arterial bed, aorta and carotid responsiveness. *J. Pharm. Pharmacol.* 2007; 59(7): 985-93.
- Utkan T., Yildiz F., Ilbay G., Ozdemirci S., Erden B.F., Gacar N., Ulak G. Blood pressure and vascular reactivity to endothelin-1, phenylephrine, serotonin, KCl and acetylcholine following chronic alcohol consumption in vitro. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2001; 15(3): 157-65.
- Sahna E., Kurcer Z., Ozturk F., Cengiz N., Vardi N., Birincioglu M., Olmez E. Effects of chronic ethanol consumption on alpha-adrenergic-induced contractions and endothelium-dependent relaxations in rat thoracic aorta. *Pharmacol. Res.* 2000; 41(6): 629-33.
- Baptista Rde F., Taipeiro Ede F., Queiroz R.H., Chies A.B., Cordellini S. Stress alone or associated with ethanol induces prostanoid release in rat aorta via alpha2-Adrenoceptor. *Arq. Bras. Cardiol.* 2014; 102(3): 211-8.
- Leite L.N., Lacchini R., Carnio E.C. Queiroz R.H., Tanus-Santos J.E., de Oliveira A.M., Tirapelli C.R. Ethanol consumption increases endothelin-1 expression and reactivity in the rat cavernosal smooth muscle. *Alcohol Alcohol.* 2013; 48(6): 657-66.
- Tirapelli C.R., Casolari D.A., Montezano A.C., Yogi A., Tostes R.C., Legros E. et al. Ethanol consumption enhances endothelin-1-induced contraction in the isolated rat carotid. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; 318(2): 819-27.
- Baptista Rde F., Chies A.B., Taipeiro Ede F., Cordellini S. Endothelial AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub> pathways in aortic responses to angiotensin II after stress and ethanol consumption in rats. *Stress.* 2014; 17(6): 512-9.
- Passaglia P., Ceron C.S., Mecawi A.S., Antunes-Rodrigues J., Coelho E.B., Tirapelli C.R. Angiotensin type 1 receptor mediates chronic ethanol consumption-induced hypertension and vascular oxidative stress. *Vascul. Pharmacol.* 2015; S1537-1891(15)00071-3. [Epub ahead of print].
- Kryzhanovskii S.A., Tsorin I.B., Kolik L.G., Stolyaruk V.N., Vititnova M.B., Ionova E.O., Durnev A.V., Sereidenin S.B. Translational Model alcoholic cardiomyopathy. *Molekulyarnaya Meditsina.* 2015; 1: 40-7. (in Russian)
- Kozhevnikova L.M., Avdonin P.V. Disturbances in hormonal regulation of vascular tone during traumatic shock. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2006; 141(5): 511-4. (in Russian)

27. Perreira K.M., Sloan F.A. Life events and alcohol consumption among mature adults: A longitudinal analysis. *Journal of Studies on Alcohol*. 2001; 62(4): 5018.
28. Norman K.J., Seiden J.A., Klickstein J.A., Han X., Hwa L.S., DeBold J.F., Miczek K.A. Social stress and escalated drug self-administration in mice I. Alcohol and corticosterone. *Psychopharmacology (Berl)*. 2015; 232(6): 991-1001.
29. Toda N., Ayajiki K. Vascular actions of nitric oxide as affected by exposure to alcohol. *Alcohol*. 2010; 45(4): 347-55.
30. Jones A., McMillan M.R., Jones R.W., Kowalik G.T., Steeden J.A., Pruessner J.C. et al. Habitual alcohol consumption is associated with lower cardiovascular stress responses—a novel explanation for the known cardiovascular benefits of alcohol? *Stress*. 2013; 16(4): 369-76.
31. Steffens A.A., Moreira L.B., Fuchs S.C., Wiehe M., Gus M., Fuchs F.D. Incidence of hypertension by alcohol consumption: is it modified by race? *J. Hypertens*. 2006; 24(8): 1489-92.
32. Hatton D.C., Bukoski R.D., Edgar S., McCarron D.A. Chronic alcohol consumption lowers blood pressure but enhances vascular contractility in Wistar rats. *J. Hypertens*. 1992; 10(6): 529-37.
33. Kleinhenz D.J., Sutliff R.L., Polikandriotis J.A., Walp E.R., Dikalov S.I., Guidot D.M., Hart C.M. Chronic ethanol ingestion increases aortic endothelial nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in the rat. *Alcohol Clin. Exp. Res*. 2008; 32(1): 148-54.
34. Husain K., Ansari R.A., Ferder L. Alcohol-induced hypertension: Mechanism and prevention. *World J. Cardiol*. 2014; 6(5): 245-52.
35. Rush J.W., Aultman C.D. Vascular biology of angiotensin and the impact of physical activity. *Appl. Physiol. Nutr. Metab*. 2008; 33(1): 162-72.
36. Munzenmaier D.H., Greene A.S. Opposing actions of angiotensin II on microvascular growth and arterial blood pressure. *Hypertension*. 1996; 27(3): 760-5.
37. MacKenzie A. Endothelium-derived vasoactive agents, AT1 receptors and inflammation. *Pharmacol. Ther*. 2011; 131(2): 187-203.
38. Schepis T.S., Rao U., Yadav H., Adinoff B. The limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the development of alcohol use disorders in youth. *Alcohol Clin. Exp. Res*. 2011; 35(4): 595-605.
39. Stephens M.A., Wand G. Stress and the HPA axis: role of glucocorticoids in alcohol dependence. *Alcohol Res*. 2012; 34(4): 468-83.
40. Wand G. The influence of stress on the transition from drug use to addiction. *Alcohol Res. Health*. 2008; 31(2): 119-36.
41. Sharrett-Field L., Butler T.R., Berry J.N., Reynolds A.R., Prendergast M.A. Mifepristone pretreatment reduces ethanol withdrawal severity in vivo. *Alcohol Clin. Exp. Res*. 2013; 37(8): 1417-23.
42. Cipitelli A., Damadzic R., Hamelink C., Brunquell M., Thorsell A., Heilig M., Eskay R.L. Binge-like ethanol consumption increases corticosterone levels and neurodegeneration whereas occupancy of type II glucocorticoid receptors with mifepristone is neuroprotective. *Addic. Biol*. 2014; 19(1): 27-36.
43. Vendruscolo L.F., Barbier E., Schlosburg J.E., Misra K.K., Whitfield T.W. Jr., Logrip M.L. et al. Corticosteroid-dependent plasticity mediates compulsive alcohol drinking in rats. *J. Neurosci*. 2012; 32(22): 7563-71.
44. Rasmussen D.D., Boldt B.M., Bryant C.A., Mitton D.R., Larsen S.A., Wilkinson C.W. Chronic daily ethanol and withdrawal: 1. Long-term changes in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Alcohol Clin. Exp. Res*. 2000; 24(12): 1836-49.
45. Soardo G., Donnini D., Varutti R., Milocco C., Basso L., Esposito W. et al. Effects of alcohol withdrawal on blood pressure in hypertensive heavy drinkers. *J. Hypertens*. 2006; 24(8): 1493-8.
46. Reynolds A.R., Saunders M.A., Brewton H.W., Winchester S.R., Elgumati I.S., Prendergast M.A. Acute oral administration of the novel, competitive and selective glucocorticoid receptor antagonist ORG 34517 reduces the severity of ethanol withdrawal and related hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation. *Drug Alcohol Depend*. 2015; 154: 100-4.
47. Murasawa S., Matsubara H., Kizima K., Maruyama K., Mori Y., Inada M. Glucocorticoids regulate V1a vasopressin receptor expression by increasing mRNA stability in vascular smooth muscle cells. *Hypertension*. 1995; 26(4): 665-9.
48. Murasawa S., Matsubara H., Kanasaki M., Kijima K., Maruyama K., Nio Y. et al. Characterization of glucocorticoid response element of rat angiotensin II type 1A receptor gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1995; 209(3): 833-40.
49. Borcsok I., Schairer H.U., Sommer U., Wakley G.K., Schneider U., Geiger F. et al. Glucocorticoids regulate the expression of the human osteoblastic endothelin A receptor gene. *J. Exp. Med*. 1998; 188(9): 1563-73.
50. Wissink S., Meijer O., Pearce D., van Der Burg B., van Der Saag P.T. Regulation of the rat serotonin-1A receptor gene by corticosteroids. *J. Biol. Chem*. 2000; 275(2): 1321-6.
51. Zhang X., Clark A.F., Yorio T. Interactions of endothelin-1 with dexamethasone in primary cultured human trabecular meshwork cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2003; 44(12): 5301-8.
52. Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F., Avdonin P.V. Changes in the contractile properties and expression AT1A-receptors of angiotensin II in the rat aorta depending to the functional activity of the glucocorticoid receptors. *Patogenez*. 2008; 6(4): 53-7. (in Russian)
53. Golikov P.P., Kozhevnikova L.M., Arkhipenko Iu.V., Nikolaeva N.Iu. Receptor mechanisms for realizing the effect of glucocorticoid hormones in traumatic and hemorrhagic shock. *Vestnik Rossiyskoy AMN*. 2001; 12: 23-9. (in Russian)
54. Kozhevnikova L.M., Avdonin P.P., Sukhanova I.F., Avdonin P.V. The role of desensitization of glucocorticoid receptors in the development of vascular resistance to endogenous vasoconstrictors in traumatic shock. *Vestnik Rossiyskoy AMN*. 2007; 6: 3-8. (in Russian)
55. Johnson B.A. Role of the serotonergic system in the neurobiology of alcoholism: implications for treatment. *CNS Drugs*. 2004; 18(15): 1105-18.
56. Budde H., Sander T., Wernicke C., Muller A., Gallinat J., Schmidt L.G., Smolka M.N. Serotonin transporter promoter polymorphism and dopaminergic sensitivity in alcoholics. *J. Neural. Transm*. 2010; 117(1): 133-8.
57. Kasper J., Tikamdas R., Kim M.S., Macfadyen K., Aramini R., Ladd J. et al. The serotonin-2 receptor modulator, (-)-trans-PAT, decreases voluntary ethanol consumption in rats. *Eur. J. Pharmacol*. 2013; 718(1-3): 98-104.
58. Marcinkiewicz C.A., Dorrier C.E., Lopez A.J., Kash T.L. Ethanol induced adaptations in 5-HT<sub>2c</sub> receptor signaling in the bed nucleus of the stria terminalis: implicati-

ons for anxiety during ethanol withdrawal. *Neuropharmacology*. 2015; 89: 157-67.

59. Malinowska B., Pietraszek M., Chabielska E., Pawlak D., Buczko W. The effect of ethanol and serotonin on blood vessels of the rat. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 1990; 42(4): 333-42.

60. Kozhevnikova L.M., Avdonin P.V. Agonist of serotonin 5HT1A-receptors 8-OH-DPAT increases the force of contraction of rat aorta and mesenteric artery in the presence of endothelin-1 or vasopressin and causes relaxation of the vessels precontracted with noradrenaline. *Izv. Akad. Nauk. Ser. Biol.* 2010; 1: 44-53. (in Russian)

61. Terekhina I.L., Nadeev A.D., Kozhevnikova L.M., Goncharov N.V., Avdonin P.V. 5HT1B- and 5HT2B-receptors of serotonin stimulate increase in cytoplasmic calcium

concentration in vascular endothelial cells. *Patogenez*. 2012; 10(1): 69-71. (in Russian)

62. Li B., Zhang S., Zhang H., Nu W., Cai L., Hertz L., Peng L. Fluoxetine-mediated 5-HT 2B receptor stimulation in astrocytes causes EGF receptor transactivation and ERK phosphorylation. *Psychopharmacology (Berl.)*. 2008; 201(3): 443-58.

63. Peng L., Gu L., Li B., Hertz L. Fluoxetine and all other SSRIs are 5-HT2B Agonists — Importance for their Therapeutic Effects. *Curr. Neuropharmacol.* 2014; 12(4): 365-79.

Поступила 02.11.15

#### Сведения об авторах:

*Цорин Иосиф Борисович* (Tsorin I.B.), доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. фармакологического скрининга

*Варков Александр Иванович* (Varkov A.I.), канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. фармакологического скрининга

*Столярук Валерий Николаевич* (Stolyaruk V.N.), канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. фармакологического скрининга

*Вититнова Марина Борисовна* (Vititnova M.B.), канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. фармакологического скрининга

*Колук Лариса Геннадьевна* (Kolik L.G.), доктор биол. наук, зав. лаб. фармакологической регуляции состояний зависимости

*Суханова Ирина Федоровна* (Sukhanova I.F.), канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. физиологии рецепторов и сигнальных систем, ИБР им. Н.К. Кольцова РАН

*Крыжановский Сергей Александрович* (Kryzhanovskii S.A.), доктор мед. наук, зав. лаб. фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», e-mail: SAK-538@yandex.ru