

Մ. ՀԵՐԱՅՈՒ ԱՆՎԱՆ ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՍԱԹԵՆԻԿ ՀՐԱԶԻ ԱԴԱՄՅԱՆ

**ԿԱԼՑԻՈՒՄ ԿԱՐԳԱՎՈՐԻՉ ՀՈՐՄՈՆԱԼ ՀԱՄԱԿԱՐԳԻ ԴԵՐԸ ՍՐՏԻ
ԳՈՐԾՈՒՆԵՈՒԹՅԱՆ ՄԵԽԱՆԻԶՄՆԵՐՈՒՄ**

**ԺԳ.00.10 - «Ախտաբանական և նորմալ ֆիզիոլոգիա» մասնագիտությամբ
բժշկական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության**

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2021

**ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ.
М.ГЕРАЦИ**

АДАМЯН САТЕНИК ГРАЧЬЕВНА

**РОЛЬ КАЛЬЦИЙ-РЕГУЛИРУЮЩЕЙ ГОРМОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В
МЕХАНИЗМАХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СЕРДЦА**

АВТОРЕФЕРАТ

**Диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук
по специальности**

14.00.10 – “Патологическая и нормальная физиология”

ЕРЕВАН - 2021

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանում

Գիտական ղեկավար՝

Կենսաբանական գիտությունների դոկտոր,
պրոֆեսոր Ա.Ս. Տեր-Մարկոսյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

բժշկական գիտությունների դոկտոր,
պրոֆեսոր Է.Ս. Սեկոյան
բժշկական գիտությունների դոկտոր,
Լ.Գ. Թունյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

ՀՀ ԳԱԱ Լ.Ա.Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի
ինստիտուտ

Պաշտպանությունը կայանալու է 2021թ. հոկտեմբերի 28-ին, ժ. 15⁰⁰-ին Երևանի Մ.Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈԿ-ի 026-«Տեսական բժշկություն» մասնագիտական խորհրդում (0025, ք. Երևան, Կորյունի փող. 2): Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքված է 2021 թ. սեպտեմբերի 17 -ին:

Մասնագիտական խորհրդի
գիտական քարտուղար՝



Կենսաբանական գիտությունների դոկտոր,
պրոֆեսոր Ա.Ս. Տեր-Մարկոսյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном медицинском университете им. М. Гераци

Научный руководитель:

доктор, биологических наук,
профессор А.С.Тер-Маркосян

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор Э.С.Секоян
доктор медицинских наук Л.Г.Тунян

Ведущая организация:

Институт физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА

Защита диссертации состоится 28 октября 2021г. в 15⁰⁰ на заседании специализированного совета ВАК РА 026 -"Теоретическая медицина" при Ереванском государственном медицинском университете им. М. Гераци (0025, г. Ереван, ул. Корюна 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного медицинского университета им. М. Гераци.

Автореферат розослан 17 сентября 2021г.

Ученый секретарь
специализированного совета



доктор биологических наук,
профессор А.С. Тер-Маркосян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются одной из лидирующих причин смертности людей (WHO, 2016, 2017). В связи с этим, первостепенное значение имеет выявление факторов риска развития и изыскание новых методов профилактики и лечения указанных заболеваний. Решение данной задачи предполагает проведение разносторонних экспериментальных и клинических исследований. Развитие сердечных патологий часто связано с нарушениями функций нервной, эндокринной систем, с изменениями основных показателей гемодинамики и электролитных показателей крови, а также с возрастными изменениями сердечной мышцы. Немаловажное значение имеют также стресс и ухудшение экологических условий. Сдвиги гомеостаза кальция приводят к дисфункции проводящей системы, гипертрофии левого желудочка, кальцификации миокарда и клапанов сердца, ишемии, фатальной аритмии, аортальной недостаточности и пр. (Palmer S.C. et al., 2011; Fischer E. et al., 2014). Поддержание кальциевой константы зависит от состояния кальций-регулирующей гормональной системы (КРГС), основными звеньями которой являются паратиреоидный гормон (ПТГ), кальцитонин (КТ) и витамин D. Отмечена достоверная корреляция между уровнем паратиреоидного гормона, его отдельных фрагментов, а также паратиреоидный гормон-родственного протеина (ПТГ-rP) и деятельностью сердечно-сосудистой системы (ССС) (Gruson D. et al., 2014; Zhao F.L. et al., 2014).

В последнее время внимание клиницистов и физиологов направлено и на другие составляющие гормональной системы, например, на половые гормоны, прямо или косвенно влияющие на метаболизм кальция в организме (Morris D.P., Kevin Ch.S., 2012; Austin E.D. et al., 2013; Hirokawa M. et al., 2016). Клинические наблюдения показали, что сдвиги кальциевого гомеостаза крови и связанные с этим патологии сердца, а также смертельный исход в результате их развития, у женщин пременопаузного периода выражены в меньшей степени (феномен "эстрогенного парадокса"), чем у мужчин того же возраста (Manson J.A.E. et al., 2007; Sivasinprasasn S. et al., 2016). Однако в постменопаузный период частота развития ССЗ у женщин возрастает (Paranjape S.G. et al., 2005; Clarkson T.B., 2007). С целью предупреждения кальцификации коронарных сосудов сердца рекомендуется ограничивать продолжительность гормональной терапии эстрадиолом при остеопорозах (Manson J.E. et al., 2007). Дискутируется также кардиопротекторный эффект тестостерона (но не 17β -эстрадиола) при хронической кардиотоксичности, вызванной введением доксорубина (Morris D.P., 2012).

Несмотря на многочисленные экспериментальные и клинические исследования, сфокусированные на проблему развития сердечно-сосудистых нарушений, тем не менее, некоторые ее аспекты остаются недостаточно изученными. В частности, в литературе нет достоверных сведений о специфичном действии половых гормонов на пейсмекерную и сократительную функции сердца и отсутствуют данные об их сочетанном с ПТГ влиянии на деятельность сердца, хотя известно, что подобное комплексное действие активирует метаболизм кальция в костной матриксе (Neer R.M. et al., 2001; Miao Q. et al., 2012). Обсуждается дозозависимое увеличение уровня иммунореактивного ПТГ в плазме крови и уменьшение риска развития остеопороза костей эстрогенами через ПТГ/ПТГpP-зависимый механизм (Greenberg C. et al., 1987).

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования явилось изучение роли кальций-регулирующих гормонов и, в частности ПТГ, в регуляции функциональной активности сердца, а также механизм его действия на уровне клеточно-молекулярных структур. В связи с этим были поставлены следующие задачи:

1. Выявление наиболее активного фрагмента и эффективной дозы ПТГ, влияющих на амплитуду и частоту сокращений изолированного сердца лягушки, методом корреляционного анализа.
2. Проведение фармакологического анализа механизма действия ПТГ на функциональную активность сердца, с применением блокаторов кальциевого канала (верапамил), калиевого канала (аминопиридин), ингибиторов натрий-калиевой помпы (оубаин) и фосфодиэстеразы (теофиллин).
3. Исследование роли женских и мужских половых гормонов во взаимосвязи с ПТГ, в регуляции функциональной активности сердца.
4. Оценка статуса кальций-регулирующей гормональной системы у больных, страдающих сердечной недостаточностью, путем определения электролитного состава (ионизированный кальций, неорганический фосфор), содержания ПТГ, КТ и витамина D, а также половых гормонов в сыворотке крови.

Новизна полученных результатов. В модельных экспериментах, в условиях *in vitro* (изолированное сердце лягушки) проведен сравнительный анализ дозозависимого действия 1-34 и 39-68 фрагментов ПТГ на сократительную и ритмогенную функции сердца. Методом корреляционного анализа выявлена наиболее эффективная доза 1-34 фрагмента ПТГ - 10^{-10} М, обладающая положительным хронотропным и инотропно-стабилизирующим действием на сердце. Несмотря на кардио-потенцирующее влияние, 39-68 фрагмент ПТГ инициировал функциональную нестабильность и аритмичные флюктуации сердца.

Механизм действия 10^{-10} М 1-34 - ПТГ изучался с помощью фармакологического анализа с введением гормона на фоне блокады ионных каналов, транспортных и других систем, прямо или косвенно ответственных за активность вторичных мессенджеров, реализующих эффекты белковых гормонов. Использовались блокаторы кальциевого и калиевого каналов, ингибиторы натрий-калиевой помпы и фосфодиэстеразы. Корреляционный анализ выявил зависимость хронотропного эффекта 1-34 фрагмента ПТГ от кальциевой проводимости мембраны и вовлечение сАМР и калий-зависимого механизма в его положительно-инотропном действии.

Получены клинические данные, свидетельствующие об изменении статуса КРГС и половых гормонов, а также электролитного баланса у больных, страдающих хронической сердечной недостаточностью (ХСН). По сравнению с контрольной группой, сдвиги указанных показателей оказались более выраженными у женщин, чем у мужчин. Принимая во внимание результаты клинических и экспериментальных исследований, делается заключение о протекторно-модулирующей роли ПТГ в регуляции работы сердца. В модельных экспериментах на изолированном сердце подтверждена модулирующая роль 1-34-ПТГ в функционировании сердца, усиливающаяся в присутствии половых гормонов (эстрадиол, тестостерон).

Учитывая исключительную роль гормонов КРГС в регуляции кальциевого гомеостаза и сопоставляя полученные нами результаты с приведенными в литературе, выдвинута гипотеза о кардиопротекторном влиянии КРГС на функциональную активность сердца в условиях ХСН различной этиологии, в том числе, спровоцированной провоспалительными факторами.

Научно-практическое значение работы. Полученные результаты позволяют рассматривать сдвиги в КРГС как факторы, способствующие возникновению различных патологий сердца, с последующим развитием сердечной недостаточности. В этой связи проведение мониторинга КРГС среди групп риска может стать предпосылкой для

предотвращения развития патологий сердечно-сосудистой системы и разработки новых терапевтических подходов ведения подобных больных. В частности, это дает возможность для направленного воздействия на нарушенное звено кальций-регулирующей гормональной системы и баланса половых гормонов, а также для коррекции их взаимосвязи. Представляется также важным определение содержания кальция в крови у больных с сердечной недостаточностью, в особенности, если терапия ведется кальциевыми блокаторами.

Полученные результаты могут быть включены в курс преподавания циклов по кардиологии, эндокринологии, патофизиологии и физиологии в ВУЗ-ах медицинского и биологического профилей.

Апробация работы. Результаты настоящей работы обсуждались на 4-ом и 5-ом съездах физиологов стран СНГ (Сочи-Дагомыс, 2014, 2016), 7-ой Международной научной конференции "Психофизиологические функции в норме и патологии", посвященной 180-летию основания Национального университета им. Т. Шевченко (Киев, 2014), 10-ом симпозиуме кардиологов Армении (Ереван, 2015), 42-ом конгрессе FEBS "From Molecules to Cells and Back" (Иерусалим, 2017), Международной конференции ЕГМУ "Science Week" (Ереван, 2017), Международной конференции "Психофизиология и психонейроэндокринология" (Ставрополь, 2018), Научно-координационном Совете ЕГМУ (Ереван, 2021), 45-ом конгрессе FEBS "Molecules of Life" (Словения, 2021).

Структура диссертации. Диссертация изложена на 111 страницах печатного текста и иллюстрирована 18 рисунками и 12 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, включающего 221 источник.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основная часть исследований проводилась на изолированном сердце лягушки (*Rana temporaria*). Данный метод позволяет четко дозировать испытуемые препараты, исключает посторонние гуморальные и нервные влияния, искажающие истинную картину механизма действия препаратов, дает возможность регистрировать параметры в динамике. Другая часть экспериментов предполагала мониторинг некоторых показателей электролитного состава крови (ионизированный кальций, неорганический фосфор) и основных составляющих кальций-регулирующей гормональной системы (ПТГ, витамин D, кальцитонин), а также половых гормонов (эстрадиол, тестостерон) у здоровых лиц и у пациентов, страдающих хронической сердечной недостаточностью II и III групп по классификации NYHA (New York Heart Association). Объектом данных исследований служила сыворотка крови.

Для *in vitro* исследований сердце лягушки извлекалось хирургическим способом. Все действия и вмешательства проводились согласно международным требованиям ("The PHS Guide for the Care and Use of Laboratory Animals"). Регистрация параметров проводилась прибором, работа которого основана на принципе рассеивания светового потока в соответствии с сокращениями сердца. В качестве источника излучения использовался полупроводниковый лазер (MODHLDPM10-650-3), а для оценки интенсивности света – кремниевый фотодиод ФД-256. После усиления сигналы фотоприемника подвергались аналого-цифровому преобразованию (АЦП) и поступали в ЭВМ. Согласно разработанному пакету программ в среде LabView, зарегистрированные сигналы визуализировались на экране дисплея, запоминались в ЭВМ и подвергались анализу для оценки амплитудных и частотных характеристик сократительной активности

изолированного сердца. Для накопления, систематизации и статистического анализа полученных данных использовался программный пакет "Origin 8.5".

Эксперименты по изучению амплитуды и частоты сократительной активности сердца были разбиты на шесть серий с исследованием: 1) действия физиологического раствора (контрольная), объем которого соответствовал объему гормональных добавок; 2) дозозависимого (10^{-11} - 10^{-8} М) влияния 1-34 фрагмента ПТГ; 3) дозозависимого (10^{-11} - 10^{-8} М) влияния 39-68 фрагмента ПТГ; 4) механизма действия 10^{-10} М 1-34 - ПТГ, обладающего наибольшей эффективностью влияния на сердце, методом фармакологического анализа. 10^{-10} М 1-34 фрагмент ПТГ сочетался с одним из блокаторов ионных каналов, транспортных систем или вторичных мессенджеров. Использовались следующие блокаторы: верапамил (10^{-5} М) для Ca^{2+} -канала, аминопиринидин (10^{-3} М) для K^{+} -канала, оубаин (10^{-3} М) для Na^{+} - K^{+} -АТФ-азы, теofilлин (10^{-4} М) для фосфодиэстеразы; 5) влияния половых гормонов – β -эстрадиола (10^{-6} М) и тестостерона (10^{-8} М); 6) действия 10^{-10} М 1-34 фрагмента ПТГ, сочетанного с половыми гормонами, в указанных концентрациях. Все гормоны и реактивы были приобретены из фирмы Sigma (USA). В экспериментах было использовано 320 животных. Для каждой группы исследований строились усредненные амплитудно- и частотно-временные кривые функциональной активности сердца, а также соответствующие гистограммы. Во всех сериях экспериментов достоверность сдвигов вышеуказанных параметров сердца, с шагом в 10 мин, рассчитывалась методом непараметрического критерия Уайта (W) (Иванов Ю.И., Погорелюк О.Н., 1990). Для сравнения влияний соответствующих доз 1-34 и 39-68 фрагментов ПТГ, а также сочетанного действия 1-34 - ПТГ с блокаторами или половыми гормонами с его одиночным эффектом рассчитывался коэффициент корреляции (R) с использованием программы "Origin 15" (табл.1).

Таблица 1.

Критерии достоверности по W и однонаправленности по R

W		R	
<1,5	p>0,05	Высокая степень корреляции	0,75 – 1
1,5 – 3,5	p<0,05	Средняя степень корреляции	0,4 - 0,75
3,5 – 5,5	p<0,02	Низкая степень корреляции	<0,4

Оценка статуса кальций-регулирующей гормональной системы у больных с хронической сердечной недостаточностью осуществлялась по содержанию 1-34-ПТГ, витамина D, кальцитонина, ионизированного кальция и неорганического фосфора в сыворотке крови. В контрольную группу входили волонтеры - 6 здоровых женщин и 19 здоровых мужчин, не имеющие объективных и субъективных жалоб со стороны сердца, с нормальными показателями ЭКГ и УЗИ сердца. В экспериментальную группу были включены 14 женщин и 32 мужчины в возрасте 40-55 лет, страдающие ХСН II и III групп по классификации NYHA (New York Heart Association). Пациенты II-ой группы находились под амбулаторным наблюдением, а пациенты III-ей группы – в процессе стационарного лечения в НИИ кардиологии Республики Армения. Согласно положению Комитета по этике, все пациенты были предупреждены о проводимом анализе и дали свое письменное согласие.

В сыворотке крови иммуноферментным анализом определялись концентрации 1-34-ПТГ и КТ (соответствующие тест-наборы фирмы DRG International, Германия), витамина D (тест-набор фирмы Roche, Франция), а спектрофотометрическим методом – концентрации ионизированного кальция и неорганического фосфора (соответствующие тест-наборы фирмы Biosystems, Испания). Проведен сравнительный анализ

вышеуказанных параметров у мужчин и женщин с параллельным определением в крови тестостерона (у мужчин) и эстрадиола (у женщин) иммуноферментным анализом (тест-наборы фирмы Roche, Франция). Данные клинических исследований обрабатывались статистически с помощью прикладной программы “Statistica 10”. Рассчитывали групповые показатели суммарной статистики: среднюю арифметическую величину (M) и стандартное отклонение (SD). О достоверности различий судили по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Сравнительный анализ дозозависимого действия 1-34 и 39-68 фрагментов паратиреоидного гормона на сократительную функцию сердца

Эффективность влияния того или иного пептидного гормона зависит от структуры его фрагмента и от используемой дозы. Сотрудниками нашей кафедры (Тер-Маркосян А.С., 1996; Khudaverdyan D.N., Ter-Markosyan A.S., 2000) изучено дозозависимое действие ПТГ на нервную ткань. Выявлен модуляторный эффект ПТГ в обеспечении кальциевого гомеостаза в нейронах и синапсах с проявлением феномена “down”-регуляции. Учитывая данный факт, актуальным и первостепенным является исследование дозозависимого влияния различных фрагментов ПТГ на функциональную активность сердца в *in vitro* условиях.

Для определения наиболее оптимального, физиологически эффективного фрагмента и для выбора его дозы, были использованы 10^{-8} - 10^{-11} М 1-34 и 39-68 фрагментов ПТГ, соответственно. Выбор 39-68 фрагмента основан на малоизученности его действия на функциональные параметры сердца.

При введении в инкубационную среду физиологического раствора (в объеме используемого раствора ПТГ), амплитуда сокращений изолированного сердца плавно уменьшалась и уже к 20 мин эксперимента составляла 82% от исходной величины (рис.1А). При добавлении в инкубационную среду 10^{-10} М 1-34 фрагмента ПТГ, амплитуда сердечных сокращений в динамике не только поддерживалась, но и увеличивалась, достигая пика на 6-10 мин. По сравнению с исходным уровнем, амплитуда сокращений повышалась на 15-18%, а по сравнению с контролем - на 23-25% ($p < 0,02$). Частота сердечных сокращений также увеличивалась, однако ее пиковое значение было сдвинуто во времени (рис.1Б). Так, например, наибольшее учащение сердечных сокращений наблюдалось на 15-20 мин, превышая исходный уровень на 16-20% ($p < 0,02$). Следует отметить, что сдвиги пейсмекерной активности, наблюдаемые под влиянием высоких концентраций (10^{-8} М, 10^{-9} М) 1-34-ПТГ, были более выражены, однако носили волнообразный характер и инициировали аритмию, несовместимую с нормальным ритмом сердца (рис.1Б). Амплитуда сердечных сокращений стабильнее поддерживалась 10^{-11} М концентрацией 1-34-ПТГ, но при этом, ритмогенная активность сопровождалась резкими осцилляциями.

В следующей серии экспериментов исследовалось дозозависимое влияние 39-68 фрагмента ПТГ. Динамика изменений функциональных параметров сердца под действием различных концентраций данного фрагмента была неоднозначной. Максимальное увеличение амплитуды сердечных сокращений наблюдалось как при минимальной – 10^{-11} М, так и при относительно высокой концентрации – 10^{-8} М 39-68 фрагмента ПТГ. Следует отметить первоначальный (первые 4-5 мин) положительный сдвиг амплитуды сердечных сокращений, наблюдаемый при всех дозах 39-68-ПТГ, с разнонаправленными изменениями в более поздние сроки. Концентрация 10^{-11} М вызывала наибольший подъем инотропного показателя, но плавное уменьшение пейсмекерного ритма. Примечательно,

что при данной концентрации функционирование сердца прекращалось на 15 мин эксперимента, тогда как при других концентрациях гормона, сердце сокращалось в течение более длительного времени. Концентрация 10^{-9} М 39-68-ПТГ стабильно поддерживала исходную частоту сердечных сокращений, но в меньшей степени действовала на амплитуду сокращений. Остальные концентрации вызывали аритмичные флюктуации пейсмеркерной активности сердца.

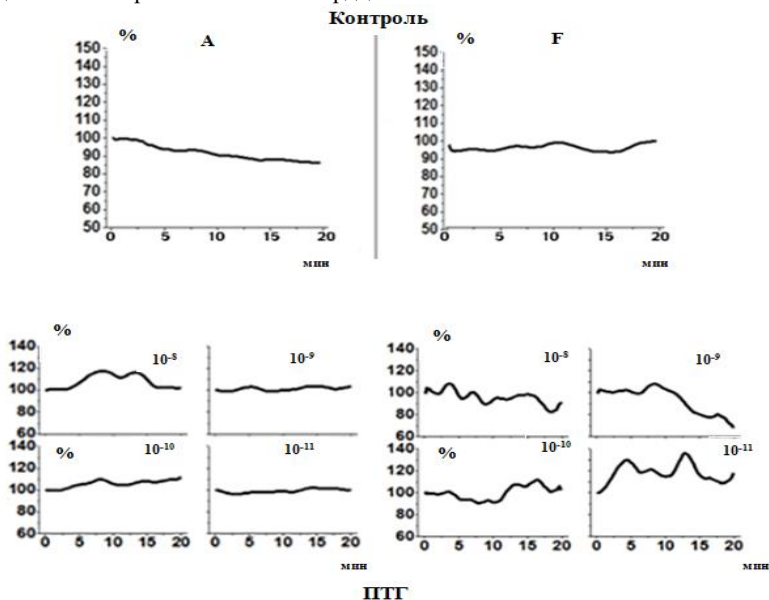


Рис. 1. Динамика изменения амплитуды (A, в %) и частоты (F, в%) сокращений изолированного сердца лягушки под влиянием различных доз 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М 1-34 фрагмента ПТГ. Начальная точка отсчета принимается за 100%. Кривая каждой серии здесь и в последующих сериях представляет усредненные результаты 12-15 экспериментов.

Вышеизложенное, а также корреляционный анализ эффектов 1-34-ПТГ и 39-68-ПТГ на сердце констатируют зависимость влияния гормона от его действующего фрагмента и дозы. Наиболее эффективное кардиотропное действие 1-34 фрагмента ПТГ проявлялось при его концентрации, близкой к физиологической норме - 10^{-10} М. Эффект выражался в увеличении ритмогенной и длительном поддержании сократительной способности сердца. На основании этого, в дальнейших экспериментах использовалась именно данная концентрация. Механизм действия отдельных фрагментов ПТГ на функциональную активность сердца различен и требует тщательного исследования (McCarthy M.F., 2005).

2. Исследование механизма действия 1-34 фрагмента паратиреоидного гормона на сократительную и ритмогенную активность изолированного сердца

Целью исследований, представленных в настоящем разделе, явилось изучение механизма действия 1-34-ПТГ на сократительную и ритмогенную активности сердца.

Решение поставленной задачи предполагало выявление степени вовлеченности кальциевых и калиевых каналов, сАМР и натрий-калиевой помпы в обеспечении кардиотропного эффекта 1-34-ПТГ. Методом фармакологического анализа, с применением блокаторов указанных структур, исследовано влияние 1-34 фрагмента ПТГ на пейсмекерную активность изолированного сердца и на амплитуду его сокращений. Будучи белковой структурой, паратиреоидный гормон действует на клетки-мишени мембранным механизмом, путем активации различных мессенджеров. Выбор указанных мессенджеров и транспортеров обоснован тем, что перечисленные структуры либо играют основополагающую роль в функциональной активности сердца (Faber G.M., et al., 2007), либо опосредуют действие ПТГ на органы-мишени (Chabardès D., Imbert-Teboul M., 1975).

Результаты экспериментов показали, что амплитуда сердечных сокращений, как при самостоятельном влиянии 1-34-ПТГ, так и при его сочетанном с блокатором кальциевого канала – верапамилом действии, была практически идентичной (рис. 2А). Предположительно, инотропный эффект 1-34 активного фрагмента ПТГ реализуется не через кальциевый, а через альтернативный механизм. Недостоверность сдвигов ($W_{0-10}=1,42$; $p>0,05$ и $W_{10-20}=1,2$; $p>0,05$) и высокая степень корреляции ($R_{0-10}=0,87$; $R_{10-20}=0,95$) при сравнении изучаемого параметра в условиях действия 1-34-ПТГ и 1-34-ПТГ в сочетании с верапамилом, подтверждает высказанную гипотезу.

Учащение ритма пейсмекерных потенциалов ПТГ возможно благодаря активации кальциевых каналов L-типа и увеличению деполяризирующего кальциевого тока в миоцитах сердца. При блокаде кальциевых каналов показатель уменьшался по сравнению с самостоятельным влиянием гормона на 35-38% ($W_{10-20}=5,2$; $p < 0,02$; $R_{10-20}=-0,24$) (рис. 2 F). Аналогичный эффект ПТГ и его родственного аналога (ПТГ-рП) наблюдался на изолированных миоцитах синоатриального узла и в клетках Пуркинье (Jansen J. et al., 2003). Высказано мнение, что кардиотропное действие этих гормонов обусловлено стимуляцией G-протеина и увеличением уровня внутриклеточного Са в миоцитах, которое приводит к ускорению деполяризирующего тока и активации пейсмекерных импульсов.

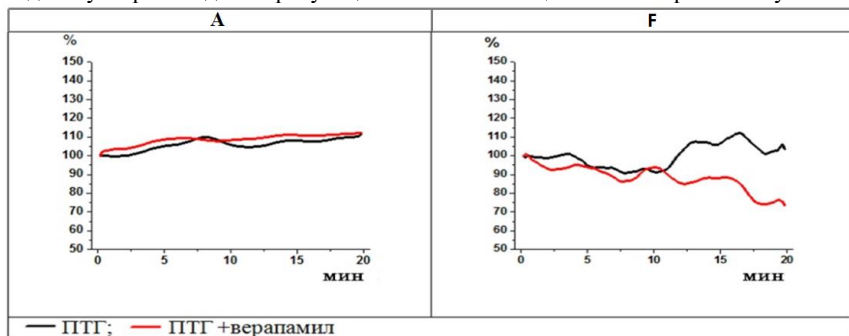


Рис. 2. Динамика изменения амплитуды (А) и частоты (F) сокращений изолированного сердца лягушки под воздействием 10^{-10} М 1-34-ПТГ и 10^{-10} М 1-34-ПТГ в сочетании с 10^{-5} М верапамила. Начальная точка отсчета принимается за 100%.

В механизме положительного инотропного эффекта 1-34-ПТГ кальций-зависимый механизм не играет существенной роли. Возможно, он осуществляется через альтернативный, например, сАМР-зависимый механизм. Для выяснения сделанного предположения в следующей серии экспериментов был применен блокатор фосфодиэстеразы –

теофиллин (10^{-4} М). На фоне блокады фосфодиэстеразы и накопления сАМР в кардиомиоцитах 1-34-ПТГ не обладал дополнительным действием на амплитуду сокращений сердца (рис.3 А), т.е. данный эффект не отличался от его самостоятельного действия. Амплитуда сердечных сокращений под влиянием 1-34-ПТГ в сочетании с теофиллином, с высокой степенью коррелирует с таковой под самостоятельным воздействием 1-34-ПТГ ($R_{0-10}=0,84$; $R_{10-20}=0,85$), и достоверных отличий в параметрах не наблюдается ($W_{0-10}=0,8$; $W_{10-20}=1,2$). Выявленный феномен подтверждает реализацию положительного инотропного эффекта 1-34 фрагмента ПТГ через сАМР-зависимый механизм. Аналогичное заключение было сделано и другими исследователями (Tastan I., Schreckenber R., 2009; D. Gruson D., Buglioni A., Burnett J.C., 2014). В то же время, в условиях блокады фосфодиэстеразы теофиллином, гормон инициировал более значительную, по сравнению с собственным влиянием, пейсмекерную активность сердца (рис. 3 F). Степень корреляции и коэффициенты достоверности соответственно составили $R_{0-10}=0,11$; $R_{10-20}=0,9$ и $W_{0-10}=5,2$ ($p<0,02$); $W_{10-20}=5,3$ ($p<0,02$). На основании полученных результатов делается вывод, что 1-34-ПТГ осуществляет присущий ему положительный хронотропный эффект, практически не вовлекая сАМР-зависимый механизм.

В следующей серии экспериментов исследовалось влияние 1-34-ПТГ на сократительную и пейсмекерную функции сердца при ингибировании натрий-калиевой помпы оубаином. 1-34 фрагмент ПТГ увеличивал и поддерживал амплитуду сокращений как при самостоятельном действии, так и при его сочетании с оубаином, и динамика изменений сократительной способности сердца была однотипной (рис. 4 А), без достоверных отличий в сокращениях на протяжении всего эксперимента.

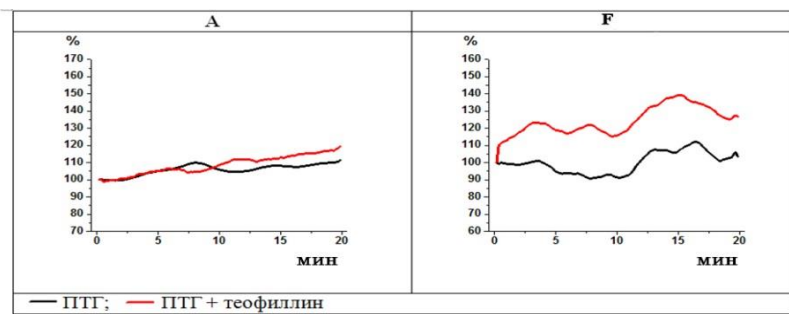


Рис.3. Динамика изменения амплитуды (А) и частоты (F) сокращений изолированного сердца лягушки под воздействием 1-34-ПТГ и 10^{-10} М 1-34-ПТГ в сочетании с 10^{-4} М теофиллина. Начальная точка отсчета принимается за 100%.

Ингибирование натрий-калиевой помпы сопровождается накоплением сАМР в клетке (Ayrapetyan S.N., Suleymanyan M.A., 1984), и отсутствие различий в амплитуде сокращений сердца при самостоятельном влиянии гормона и при его сочетании с оубаином действии, еще раз свидетельствует о вовлеченности сАМР в механизме положительного инотропного эффекта ПТГ. Однако, в этих же условиях пейсмекерная активность сердца (рис. 4 F) достоверно отличалась от одиночного эффекта ПТГ ($R_{0-10}=0,39$; $W_{0-10}=1,9$; $p<0,05$; $R_{10-20}=0,29$; $W_{10-20}=5,3$; $p<0,02$). На основании полученных данных правомерным является предположение о прямом или опосредованном участии ионов натрия и калия в механизме действия 1-34-ПТГ на ритмогенную активность сердца.

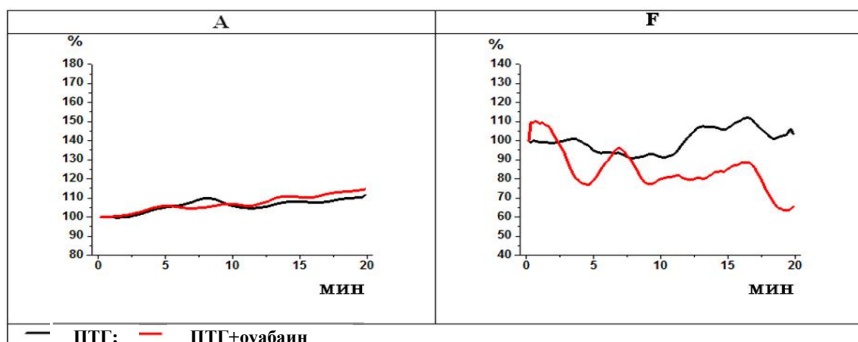


Рис.4. Динамика изменения амплитуды (А) и частоты (F) сокращений сердца лягушки под воздействием 1-34-ПТГ и 10^{-10} М 1-34-ПТГ в сочетании с 10^{-3} М оубаина. Начальная точка отсчета принимается за 100%.

Для выяснения роли калиевых каналов в реализации эффектов 1-34-ПТГ на сердце, гормон комбинировался с блокатором калиевых каналов – аминопиридином. При этом наблюдалось резкое нарушение ритма сердца (рис. 5 F), выражающееся в волнообразном и аритмичном изменении частоты сердечных сокращений. Несмотря на непродолжительную положительную хронотропную осцилляцию сердца, наблюдаемую при сочетанном с аминопиридином действии 1-34-ПТГ, результирующим и достойным внимания эффектом является, все же урежение частоты сердечных сокращений в интервале 10-20 мин ($R_{10-20} = 0,8$; $W_{10-20} = 3,82$; $p < 0,02$). В то же время отсутствие эффекта на амплитуду сокращений подтверждается кривыми, представленными на рис. 5А, а также значительной степенью корреляции между ними ($W_{0-10} = 1,32$; $W_{10-20} = 1,41$; $R_{0-10} = 0,92$; $R_{10-20} = 0,67$). Полученные результаты позволяют сделать заключение об участии калиевых каналов в хронотропном действии 1-34-ПТГ на сердце и об отсутствии их задействованности в реализации его положительно-инотропного эффекта.

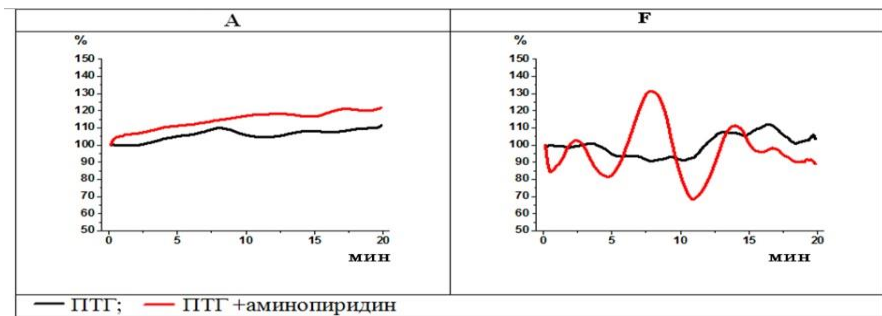


Рис. 5. Динамика изменения амплитуды (А) и частоты (F) сокращений изолированного сердца лягушки под воздействием 1-34-ПТГ и 10^{-10} М 1-34-ПТГ в сочетании с 10^{-3} М аминопиридина. Начальная точка отсчета принимается за 100%.

На наш взгляд, феномен отрицательной хронотропии может быть обусловлен продлением потенциала действия миоцитов в фазе реполяризации, что приводит к урежению пейсмекерных импульсов. Фактически, активация паратиреоидным гормоном

входа кальция в миоциты не достаточна для снятия блокирующего эффекта аминопиридина на проводящую систему сердца. А периодически наблюдаемое учащение ритма сердца может быть следствием именно попеременного увеличения кальциевого тока через активацию L-каналов 1-34-ПТГ. Нельзя также исключить известный модулирующий эффект ПТГ на содержание кальция в клетке, который был показан ранее на нейронах и синапсосамах (Khudaverdyan D.N. et al., 1997; Khudaverdyan D.N., Ter-Markosyan A.S., 2000).

Анализируя результаты фармакологического анализа механизма действия 1-34-ПТГ, заключается следующее:

- инотропный эффект 1-34 фрагмента ПТГ более всего обеспечивается сАМР-зависимым механизмом, что подтверждается экспериментами с применением блокатора фосфодиэстеразы – теофиллина и ингибитора натрий-калиевой помпы – оубаина;

- хронотропное действие 1-34 фрагмента ПТГ опосредуется через кальций-зависимый механизм. Однако, не исключается вовлечение ионов натрия и калия в данный процесс.

3. Модуляция действия половых гормонов на функциональную активность сердца паратиреоидным гормоном

Результаты первого раздела "Собственных исследований" показали положительное кардиотропное влияние 1-34-ПТГ на изолированное сердце лягушки, что явилось основанием для заключения о кардиопротекторной роли 1-34-ПТГ. Подобное заключение аргументировано результатами других авторов (Defos L.J. et al., 1993; Gruson D. et al., 2014). Наряду с этим в последнее время внимание клиницистов и физиологов направлено и на другие составляющие гормональной системы, например, половые гормоны, прямо или косвенно влияющие на метаболизм кальция и связанные с этим, нарушения работы сердца (Morris D.P., 2012; Hirokawa M. et al., 2016). Имеются сведения, что сдвиги кальциевого гомеостаза в организме и, как следствие, патологии сердечно-сосудистой системы у женщин пременопаузного периода выражены в меньшей степени, чем у мужчин (Austin E.D. et al., 2013; Sivasinprasasn S. et al., 2016). Несмотря на это, действие половых гормонов на пейсмекерную и сократительную активности сердца недостаточно изучено, отсутствуют такие данные о сочетанном влиянии ПТГ и половых гормонов на деятельность сердца.

Учитывая вышеизложенное, нами была поставлена задача исследовать функциональную активность изолированного сердца под влиянием половых гормонов (β -эстрадиол, тестостерон) и их сочетанное с 1-34 фрагментом ПТГ, действие. Введение 10^{-6} М β -эстрадиола в инкубационную среду приводило к более выраженному, по сравнению с ПТГ, положительному инотропно-хронотропному эффекту. На 10-й минуте эксперимента, со степенью достоверности $p < 0,02$, средняя амплитуда сердечных сокращений составила 180%, на 40-й - 220% (рис. 6 А), а частота сердечных сокращений - 65 и 90 уд/мин, соответственно (рис. 6 F). Функционирование сердца продолжалось в среднем в течение 50-60 мин.

Влияние 10^{-8} М тестостерона на деятельность сердца также проявилось увеличением силы и частоты сокращений миокарда. На 10-й минуте, со степенью достоверности $p < 0,02$ ($W=3,7$), показатель амплитуды сердечных сокращений составил 160% (рис.6 А). Однако уже на 20-й минуте (в некоторых экспериментах – на 15-й) после введения тестостерона наблюдалась внезапная остановка сердца. Показатель частоты сердечных сокращений изменялся следующим образом: максимальный сдвиг – 50 уд/мин регистрировался уже

через 2-3 мин после введения тестостерона, но на 10-й минуте возвращался к исходному значению – 40 уд/мин, с дальнейшей тенденцией уменьшения и полной остановкой сердца на 20-й минуте (рис. 6 F).

Наиболее интересными и физиологически значимыми оказались изменения функциональных параметров сердца под действием эстрадиола или тестостерона, сочетанного с 1-34 фрагментом ПТГ. Примечательно следующее: резко выраженный инотропно-потенцирующий эффект эстрадиола модулировался влиянием 1-34-ПТГ. Так, например, наблюдаемый при сочетанном действии указанных гормонов положительный инотропный сдвиг (рис. 7 А) значительно уступал самостоятельному эффекту β -эстрадиола (рис. 6 А). Для сравнения: на 10-й минуте амплитуда сокращений составила 140%, на 40-й минуте – 130%, а при самостоятельном влиянии β -эстрадиола - 180% и 220%, соответственно. Тенденция аналогичного модулирующего эффекта 1-34-ПТГ наблюдалась и в динамике изменений частоты пейсмекерных потенциалов. При этом показатели соответственно составили 32 и 42 уд/мин (рис. 7 F), в то время как данные собственного влияния эстрадиола в указанные сроки были значительно выше (рис. 6 F). Кроме того, собственный хронотропный эффект эстрадиола сопровождался резко выраженной аритмией, которая несколько сглаживалась при сочетанном с 1-34-ПТГ действии. Образно говоря, возникал феномен "усмирения разбушевавшегося сердца". В литературе (Neer R.M. et al., 2001) обсуждается участие ПТГ и ПТГ-рП-зависимого механизма в положительном влиянии эстрадиола на регуляцию кальция в костном матриксе. На основании полученных результатов и при сопоставлении их с данными литературы, делается вывод о кардиопротекторном действии эстрадиола, более благоприятно проявляющееся в присутствии 1-34-ПТГ.

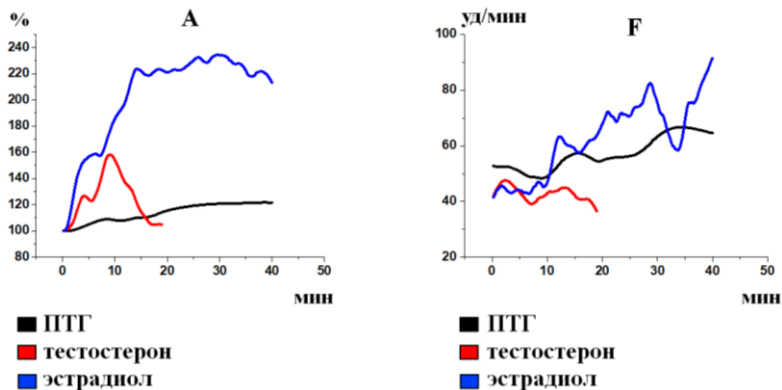


Рис.6. Динамика изменения средней амплитуды (А, в % от исходного уровня) и частоты (F, уд/мин) сердечных сокращений под влиянием 10^{-10} М 1-34 ПТГ (ПТГ), 10^{-8} М эстрадиола (Э) и 10^{-8} М тестостерона (Т).

Особого внимания заслуживают изменения параметров функциональной активности сердца сочетанного с 1-34 фрагментом ПТГ, действия тестостерона. На 10-й минуте эксперимента показатель амплитуды сердечных сокращений не отличался от собственного эффекта тестостерона, однако продолжительность функционирования сердца увеличивалась до 50-60 мин и дольше (рис. 7 А). Это свидетельствует о поддержании паратиреоидным гормоном функциональной активности и жизнеспособности

изолированного сердца. Частота пейсмекерных потенциалов, несмотря на аритмичность их колебаний, была в пределах 32-35 уд/мин и практически совпадала с аналогичным параметром сочетанного влияния ПТГ и эстрадиола (рис. 7 F).

Механизм, лежащий в основе коррекции паратиреоидным гормоном чрезмерной инотропно-хронотропной активации сердца, вызванной эстрадиолом или тестостероном, связан, по-видимому, с модуляторным влиянием 1-34-ПТГ на кальциевый гомеостаз в миоцитах. Подобный кальций-модулирующий эффект ПТГ был установлен сотрудниками нашей кафедры на нейронах (Khudaverdyan D.N., Ter-Markosyan A.S., 2000): при избытке кальция в цитоплазме нейронов, гормон ограничивал его поступление в клетку, а при недостатке, наоборот, увеличивал.

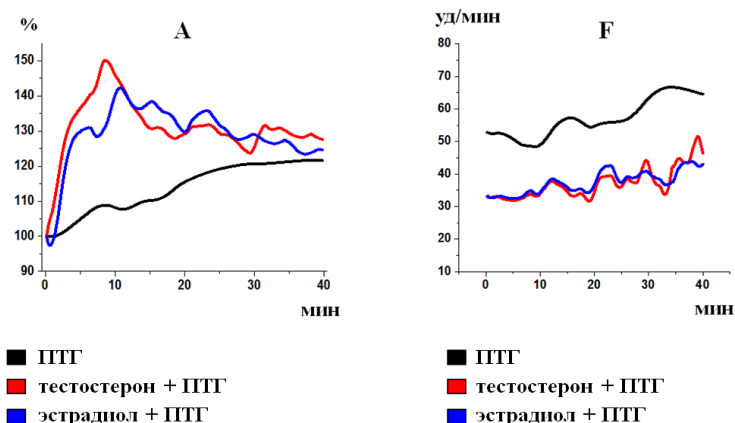


Рис.7. Динамика изменения средней амплитуды (А, в % от исходного уровня) и частоты (F, уд/мин) сердечных сокращений при действии $10^{-10}M$ 1-34 ПТГ (ПТГ) и при его сочетании с $10^{-8}M$ тестостерона (Т+ПТГ) или $10^{-6}M$ с эстрадиола (Э+ПТГ).

В целом, анализируя результаты, приведенные на рис.7, нужно отметить идентичность и однонаправленность изменений функциональных параметров активности сердца при сочетании половых гормонов (эстрадиол/тестостерон) с 1-34-ПТГ. Полученные данные свидетельствуют не только о кардиопротекторном, но и о модулирующем и стабилизирующем действии 1-34-ПТГ, что является важным результирующим фактом поддержания нормального функционирования сердца.

4. Кальций-регулирующая гормональная система у лиц, страдающих хронической сердечной недостаточностью

Принимая во внимание полученные нами результаты относительно кардиопротекторного действия 1-34-ПТГ на сердце, аргументированным является предположение о том, что сдвиги его концентрации или КРГС в целом, могут стать причиной различных патологий сердца. В связи с этим, целью клинического исследования явилось выявление статуса КРГС у лиц, страдающих ХСН, что предполагало определение в сыворотке крови концентраций ионизированного кальция, неорганического фосфора, ПТГ, витамина D, кальцитонина, а также половых гормонов (эстрадиол, тестостерон), оказывающих определенное влияние на метаболизм кальция в организме.

Результаты мониторинга показателей кальций-регулирующей гормональной системы у женщин и мужчин представлены в таблицах 2 и 3. Как следует из таблицы 2 у женщин, страдающих ХСН, имели место достоверные сдвиги всех показателей КРГС и кальций-фосфорного гомеостаза (КФГ) в сыворотке крови: понижение концентрации ионизированного кальция, витамина D, КТ, β -эстрадиола и увеличение 1-34-ПТГ и неорганического фосфора. У мужчин с ХСН достоверно изменялись лишь концентрации ионизированного кальция и витамина D в сыворотке крови (табл.2). Тенденция сдвига в концентрации фосфора была аналогичной таковой в женской группе, а уровень 1-34-ПТГ, наоборот, понижался. Уровень тестостерона был ненамного ниже контрольных показателей. Приведенные в таблицах 2 и 3 результаты свидетельствуют о зависимости сдвигов КФГ и КРГС в крови у пациентов с ХСН от пола индивидуума.

Таблица 2.

Средние значения концентраций ионизированного кальция, неорганического фосфора, 1-34-ПТГ, витамина D, кальцитонина и эстрадиола в плазме крови здоровых и страдающих хронической сердечной недостаточностью женщин.

Показатели	Здоровые женщины n = 6	Больные женщины n = 14	
	M \pm SD	M \pm SD	p
кальций в ммоль/л	0,79 \pm 0,04	0,53 \pm 0,9	<0,01
фосфор в ммоль/л	1,19 \pm 0,25	1,64 \pm 0,6	<0,05
1-34-ПТГ в пг/мл	35,74 \pm 1,14	40,26 \pm 32	<0,05
витамин D в нг/мл	14,68 \pm 2,83	11,22 \pm 62	<0,05
КТ в пг/мл	5,44 \pm 1,1	2,54 \pm 1,9	<0,05
β -эстрадиол в пг/мл	74,16 \pm 8.8	9,87 \pm 1,6	<0,01

На основании полученных нами результатов и при их сопоставлении с данными литературы (Biondi-Zoccai G.G. et al., 2004; Arakelyan K.P. et al., 2007; Austin E.D. et al., 2013; Сао et al., 2015), предполагается, что наряду с ПТГ-рП, ПТГ обладает кардиопротекторным действием и поддерживает функцию миокарда.

Таблица 3.

Средние значения концентраций ионизированного кальция, неорганического фосфора, 1-34-ПТГ, витамина D, кальцитонина и тестостерона в плазме крови здоровых и страдающих хронической сердечной недостаточностью мужчин.

Показатели	Здоровые мужчины n = 19	Больные мужчины n = 32	
	M \pm SD	M \pm SD	p
кальций в ммоль/л	0,64 \pm 0,11	0,79 \pm 0,21	<0,05
фосфор в ммоль/л	1,29 \pm 0,18	1,47 \pm 0,33	>0,05
1-34-ПТГ в пг/мл	37,18 \pm 2,88	35,15 \pm 1,46	>0,05
витамин D в нг/мл	16,83 \pm 3,71	13,14 \pm 2,83	<0,05
КТ в пг/мл	6,01 \pm 1,61	5,47 \pm 3,92	>0,05
тестостерон в нг/мл	4,25 \pm 0,34	3,44 \pm 0,34	>0,05

Обобщая полученные результаты, можно с уверенностью заключить, что у лиц, страдающих хронической сердечной недостаточностью, возникают сдвиги КФГ и изменяется статус кальций-регулирующей гормональной системы (ПТГ, витамин D, кальцитонин). По сравнению с контролем повышение уровня 1-34-ПТГ у женщин II и III групп по классификации NYHA, по-видимому, является следствием компенсаторной

стимуляции синтеза данного гормона в ответ на гипокальцемию. Показано, что при ишемии сердца повышается уровень 1-34-ПТГ-рП в крови за счет его синтеза в предсердиях (Defios L.J. et al., 1993; Ogino K. et al., 2002; Lütteke D. et al., 2005). Если в условиях гипокальцемии статус КРГС у исследуемых групп пациентов компенсаторно сдвигался в пользу активации синтеза ПТГ, то остается открытым вопрос: почему при той же гипокальцемии концентрация витамина D все же остается на низком уровне? Анализируя результаты наших исследований и сопоставляя их с приведенными в литературе данными, можно предположить, что дефицит витамина D (2016; Muscogiuri G. et al., 2017; Saponaro F. et al., 2017) и низкий уровень половых гормонов, особенно эстрадиола у женщин (Xia C. et al., 2015), может стать причиной дальнейшей эскалации хронической сердечной недостаточности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания представляют серьезную медико-социальную проблему в мировом масштабе (WHO, 2016), в том числе и для Армении (WHO, 2017). Следовательно, актуальность изыскания новых методов профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний не вызывает сомнения.

Проведенными нами исследованиями выявлена наибольшая эффективность физиологической дозы (10^{-10} М) кальций-регулирующего 1-34 фрагмента ПТГ на сердце, выражающаяся в положительном хронотропном и инотропно-стабилизирующем действии. На основании полученных результатов нами выдвинута гипотеза о протекторной роли физиологической дозы 1-34 фрагмента ПТГ на функциональную активность сердца. (Тер-Маркосян А.С. и др., 2014; Адамян С.Г. и др., 2014; Ter-Markosyan A.S., 2015; Адамян С.Г., 2016). Не останавливаясь лишь на констатации факта кардиопротекторной роли 1-34 ПТГ и для более детального представления ионных механизмов, лежащих в основе его действия, был применен метод фармакологического анализа. Показано, что действие 1-34-ПТГ на пейсмекерную активность сердца осуществляется кальций-зависимым механизмом, а инотропный эффект скорее опосредован увеличением сАМР в кардиомиоцитах. Не исключается также вовлечение ионов натрия и калия в процесс стимуляции ПТГ генерирования ритмических потенциалов в сердце (Тер-Маркосян А.С. и др., 2014; Адамян С.Г. и др., 2015; Ter-Markosyan A.S. et al., 2017; Арутюнян, К.Р. и др., 2019).

Для обобщения всей значимости кальций-регулирующей гормональной системы в поддержании функций сердца в норме и при патологии, нами было исследовано содержание ПТГ, витамина D, кальцитонина, половых гормонов, ионизированного кальция и неорганического фосфора в крови больных, страдающих ХСН II-III групп по классификации NYHA. Полученные данные свидетельствуют о высоком содержании ПТГ в сыворотке крови указанных пациентов. Данный феномен является важным аргументом для поддержания сократительной функции ослабленной сердечной мышцы. Наряду с этим дефицит витамина D, кальцитонина и половых гормонов (в особенности эстрадиола у женщин) может стать причиной дальнейшей эскалации заболевания. Допускается предположение об участии женских половых гормонов в регуляции функциональной активности сердца (Тер-Маркосян А.С. и др., 2017; Adamyan S.H., 2017; Худавердян Д.Н. и др., 2018). Особый интерес представляло изучение сочетанного влияния 1-34-ПТГ и половых гормонов на функциональную активность изолированного сердца. В этой связи в модельных экспериментах были получены результаты, свидетельствующие о кардиопротекторном, модуляторно-стабилизирующем действии 1-34-ПТГ на деятельность

сердца (Арутюнян К.Р. и др., 2016; Тер-Маркосян А.С. и др., 2017; Ter-Markosyan A.S. et al., 2018; Худавердян Д.Н. и др., 2018; Adamyan S.H. et al., 2017).

Клинические и экспериментальные наблюдения свидетельствуют о вовлечении воспалительного компонента в механизм развития ХСН (Gomberg-Maitland M., et al. 2016; Rider P. et al. 2017). Установлено, что увеличение концентрации экзогенных или эндогенных медиаторов (цитокинов, хемокинов, цитотоксичных веществ) воспаления в крови и/или непосредственно в миокарде нарушает функцию проводящей системы, электромеханическую систолу, энергоснабжение и пр. Экспериментально показано, что отрицательный инотропный эффект может быть следствием истощения запасов Ca^{2+} в СР или подавления кальциевого тока через потенциал-зависимые L-каналы (Tzeng H.P. et al., 2008; Zhang C. et al., 2014). Есть мнение, что некоторые медиаторы воспаления непосредственно являются кальций-связывающими факторами, например, белок S100 (Wang X. et al., 2010). Подавление воспалительной реакции при перитонитах ПТГ, витамином D и ПТГ-рП обсуждается в литературе (Caruso A. et al., 1991; Gardner D.G. et al., 2013; Saponaro F. et al., 2017). Сопоставляя вышеуказанные факты и учитывая исключительную роль всего спектра гормонов КРГС в регуляции кальциевого гомеостаза, нами выдвинута гипотеза о кардиопротекторном влиянии КРГС на функциональную активность сердца в условиях ХСН различной этиологии, в том числе на фоне развития воспалительных процессов (Adamyan S. et al., 2021).

Обобщая вышеизложенное, следует отметить актуальность и перспективность настоящей работы, позволяющей сделать выбор правильной стратегии профилактики развития или лечения хронической сердечной недостаточности. На основании полученных результатов могут быть предложены следующие рекомендации:

- рассматривать нарушения в кальций-регулирующей гормональной системе как факторы риска развития хронической сердечной недостаточности;
- учитывать статус кальций-регулирующей гормональной системы у лиц, страдающих хронической сердечной недостаточностью, с целью выявления его дисбаланса и последующей его коррекции;
- включить отдельные составные кальций-регулирующей гормональной системы в методологические схемы профилактики и лечения хронической сердечной недостаточности.

ВЫВОДЫ

1. Сравнительный анализ дозозависимого (10^{-11} - 10^{-8} М) действия 1-34 и 39-68 фрагментов паратиреоидного гормона (ПТГ) на динамику изменений функциональной активности изолированного сердца лягушки выявил неоднотипность их эффектов. 1-34 фрагмент обладал положительным кардиотропным действием, которое выражалось в поддержании амплитуды и увеличении частоты сокращений сердца. 39-68 фрагмент ПТГ вызывал аритмию, не совместимую с физиологическими проявлениями сердца.
2. Установлено, что наиболее эффективной концентрацией 1-34 фрагмента ПТГ, из изученных 10^{-11} , 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} М, является 10^{-10} М (близкая к физиологической), обладающая положительным хронотропным и инотропно-стабилизирующим действием на сердце.
3. Фармакологический анализ влияния 10^{-10} М 1-34 активного фрагмента ПТГ на деятельность сердца, с использованием блокаторов кальциевого канала (верапамил), калиевого канала (аминопиридин), ингибиторов натрий-калиевой помпы (оубаин) и фосфодиэстеразы (теофиллин), выявил участие сАМР в реализации инотропного эффекта гормона и активацию кальций-зависимого механизма при его хронотропно-

потенцирующем действии. В регуляции частоты пейсмерных потенциалов 1-34-ПТГ не исключается вовлечение ионов натрия и калия.

4. Обнаружено активирующее влияние β -эстрадиола на сократительную и ритмогенную функции изолированного сердца лягушки. Тестостерон, хотя и обладал аналогичным потенцирующим эффектом, однако приводил к быстрой остановке сердца. Установлен феномен кардиопротекторного действия 1-34 фрагмента ПТГ, выражающийся в модуляции эффектов половых гормонов на сердце.
5. Выявлено повышение концентрации 1-34-ПТГ и фосфора, сопровождающееся понижением уровня ионизированного кальция, кальцитонина и эстрадиола в крови у женщин, страдающих сердечной недостаточностью. Обнаруженный дефицит витамина D в крови у испытуемых лиц обоего пола может считаться фактором, усугубляющим дальнейший исход заболевания. Низкая концентрация витамина D в контрольной группе, по сравнению со стандартным показателем в норме, может рассматриваться как фактор риска развития сердечно-сосудистых заболеваний.
6. Выраженные сдвиги в системе ПТГ-кальций у лиц, страдающих сердечной недостаточностью, в совокупности с результатами модельных экспериментов, полученными в условиях *in vitro* на изолированном сердце, дают основание заключить о компенсаторно – модулирующем кардиотропном влиянии ПТГ, поддерживающем сократительную функцию ослабленного миокарда.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Тер-Маркосян А.С., Арутюнян К.Р., Адамян С.Г. Роль калиевых каналов и натрий-калиевой помпы в реализации эффекта паратиреоидного гормона на сердце. Труды IV съезда физиологов СНГ, Сочи-Дагомыс, Россия, 8-12 окт. 2014, 99-100.
2. Тер-Маркосян А.С., Арутюнян К.Р., Адамян С.Г. Анализ механизма действия 1-34 активного фрагмента паратиреоидного гормона на ритмогенную функцию сердца. Вопросы теоретической и клинической медицины, 2014, 17, 5 (92), 26-29.
3. Адамян С.Г., Арутюнян К.Р., Тер-Маркосян А.С. Сравнительная характеристика действия 1-34 и 39-68 фрагментов паратиреоидного гормона на функциональную активность сердца *Psychophysiol. and visceral functions in norm and pathology. VII International scientific conference dedicated to 180-years anniversary of the T. Shevchenko National University of Kyiv and 120-years anniversary of prominent Ukrainian scientist A. Yemchenko. October 7-9, 2014. Ukraine, Kyiv, Logos, 21.*
4. Адамян С.Г., Торгомян А.Л., Арутюнян К.Р., Тер-Маркосян А.С. Паратиреоидный гормон: его значение для сердечно-сосудистой системы. Медицинская наука Армении НАН РА, 2015, LV, 2, 3-13
5. Арутюнян К.Р., Адамян С.Г., Тер-Маркосян А.С., Худавердян Д.Н. Фармакологический анализ механизма действия 1-34 активного фрагмента паратгормона на амплитуду сокращений сердца 10-ый конгресс кардиологов Армении, Ереван, 2015, 176.
6. Ter-Markosyan A.S., Harutunyan K.R., Adamyan S.H., Khudaverdyan D.N. Analysis of parathyroid hormone 1-34 active fragment action on the heart contractile and rythmogenic functions *Oxford Journal of Scientific Research, Oxford University Press, 2015, 1, (9), 3, Jan.-Jun. 2015, 879-889.*
7. Арутюнян К.Р., Мелкумян К.В., Адамян С.Г., Тер-Маркосян А.С., Худавердян Д.Н. Особенности пейсмерной и сократительной активности сердца в условиях сочетанного действия паратиреоидного и половых гормонов. Труды V съезда

физиологов СНГ и V съезда биохимиков России, конфер. ADFILM, ActaNaturale, спец. выпуск, 1., 2016, Сочи-Дагомыс, Россия, 108-109.

8. Torgomyan A., Adamyan S., Ghambaryan H., Hasratyan H., Khudaverdyan D., Archer C. Effect of parathyroid hormone on prechondroblast differentiation Cytology and Genetics, 2016, 50:300-303. doi:10.3103/S0095452716050145 H.
9. Адамян С.Г. Сравнительный анализ дозозависимого действия 1-34, 39-68 фрагментов паратиреоидного гормона на сократительную функцию сердца. // Вопросы теоретической и клинической медицины, 2016, 3(106), 52-56.
10. Ter-Markosyan A.S., Harutunyan K.R., Adamyan S.H., Khudaverdyan D.N. The role of ionic channels and second messengers in the 1-34 parathyroid hormone fragment cardiac effects The FEBS Journal v.284 (suppl.1) (2017) 104-392 DOI; 10.1111/febs 14174@2017 The Authors. The FEBS Journal@2017 FEBS, 53-54.
11. Тер-Маркосян А.С., Арутюнян К.Р., Адамян С.Г., Абраамян Э.Т., Минасян А.В., Худавердян Д.Н. Кальций-фосфор-регулирующая гормональная система у лиц, страдающих хронической сердечной недостаточностью. Медицина, наука, образование, 2017, Октябрь, 23, 13-18.
12. Adamyan S.H., Abrahamyan H.T., Minasyan A.V., Harutunyan K.R., Ter-Markosyan A.S. Khudaverdyan D.N. Calcium-phosphate regulating hormonal system status in chronic heart failure. The New Armenian Medical Journal. 2017, 11, 3, Supplement, 10.
13. Адамян С.Г. Пути регуляции кальциевого гомеостаза в миокарде и его роль в функциональной активности сердца. Вопросы теоретической и клинической медицины, 2018, 21, 4 (123), 45-49.
14. Ter-Markosyan. A.S., Harutunyan K.R., Abrahamyan H.T., Melkumyan K.V., Adamyan S.H., Sargsyan R.Sh, Khudaverdyan D.N. The influence of parathyroid and sex hormones on the pacemaker and contractile activity of the frog isolated heart. The New Armenian Medical Journal. 2018, 12, 1, 55-64
15. Худавердян Д.Н., Тер-Маркосян А.С., Арутюнян К.Р., Абраамян Э.Т., Минасян А.В., Адамян С.Г. Содержание кальций-регулирующих и половых гормонов у лиц армянской популяции, страдающих хронической сердечной недостаточностью. Мат. межд. конфер. Психофизиология и психонейроэндокринология. Ставрополь, Россия, 23-26 мая, 2018, 135.
16. Арутюнян. К.Р., Абраамян Э.Т., Адамян С.Г., Минасян А.В., Худавердян Д.Н., Тер-Маркосян, А.С. Кардиопротекторная роль кальций-регулирующей гормональной системы. Успехи физиологических наук, 2019, 50, 3, 3–13.
17. Adamyan S.H., Harutunyan K.R., Abrahamyan H.T., Khudaverdyan D.N., Mkrtchian S., Ter- Markoyan A.S. Can the calcium regulating hormones counteract the detrimental impact of pro-inflammatory damage-associated molecular patterns in the development of heart failure? Journal of Investigative Medicine, 2021, 0:1-5. doi:10.1136/jim-2020-001754.

Սարժենիկ Հրաչյաի Ադամյան
ԿԱԼՑԻՈՒՄ-ԿԱՐԳԱՎՈՐԻՉ ՀՈՐՄՈՆԱԿԱՆ ՀՍՄՎԱԿԱՐԳԻ ԴԵՐՆ ՍՐՏԻ
ԳՈՐԾՈՒՆԵՈՒԹՅԱՆ ՄԵԽԱՆԻԶՄՆԵՐՈՒՄ
Ա Մ Փ Ո Փ ՈՒ Մ

Միրտանոթային հիվանդությունները (ՍԱՀ) ներկայացնում են լուրջ առողջապահական և սոցիալական խնդիր և ԱՀԿ-ի տվյալներով հանդիսանում են երկրագնդի բնակչության հիվանդացության և մահացության առաջատար պատճառներից մեկը (WHO, 2016, 2017): Հետևաբար ՍԱՀ-ի զարգացման ռիսկի

գործոնների բացահայտումը՝ նոր կանխարգելման և բուժման մեթոդների առաջադրումով, ունի խիստ կարևոր նշանակություն: Դրա հետ մեկտեղ հայտնի է արյան էլեկտրոլիտային հոմեոստատիկ ցուցանիշների, առավելագույնս կայցիումի իոնների կարևոր դերը սրտի կծկողական և ռիթմավար ակտիվության ձևավորման գործընթացում: Բնական է, որ իոնային հոմեոստազի, ինչպես նաև դրա կարգավորման մեխանիզմների խանգարումները կառաջացնեն սրտի գործառական տեղաշարժեր: Ըստ այդմ՝ ակնհայտ է, որ սրտի գործունեության կարգավորման գործընթացներում կայցիում-կարգավորիչ հորմոնների դերի ուսումնասիրության արդիականությունը կասկած չի հարուցում:

Աշխատանքի նպատակն է ուսումնասիրել կայցիում-կարգավորիչ հորմոնների, և մասնավորապես, պարաթիրեոիդ հորմոնի (ՊԹՀ) դերը սրտի գործառական ակտիվության գործընթացում, ինչպես նաև ազդեցության մեխանիզմը բջջամոլեկուլային մակարդակով:

Հետազոտություններն իրականացվել են գորտի մեկուսացված սրտի վրա հատուկ սարքի միջոցով, որի աշխատանքը հիմնված է լազերային ճառագայթի բեկման անկյան վրա՝ կախված սրտի կծկումների ուժգնությունից և հաճախականությունից: Փոտոազդակները թվայինի փոխակերպվելուց հետո գրանցվել են համակարգչում, որտեղ և իրականացվել է տվյալների հավաքագրումը, դրանց վիճակագրական մշակումը, միջինացված ժամանակ-կախյալ կորերի կառուցումը LabView դաշտում "Origine-8,5" և ցուցանիշների միջև կորելյացիոն վերլուծությունը "Origine-15" ծրագրերով:

Մեկուսացված գորտի սրտի վրա իրականացված ՊԹՀ-ի 1-34 և 39-68 հատվածների չափաբաժին-կախյալ հետազոտություններում ցույց տրվեց, որ ամենաարդյունավետ և ֆիզիոլոգիորեն ընդունելի տարբերակը 1-34-ՊԹՀ-ի 10^{-10} Մ խտությունն է, որն առաջացնում է ինտորոպ - կայունացնող և դրական քրոնոտորպ ազդեցություն, մինչդեռ 1-34-ՊԹՀ-ի մյուս խտությունները (10^{-11} , 10^{-9} և 10^{-8} Մ), ինչպես նաև հորմոնի 39-68 հատվածի բոլոր ուսումնասիրված չափաբաժինները չնայած ունեին որոշակի ազդեցություն մեկուսացված սրտի վրա, սակայն դրանք դրսևորվում էին սրտի առիթմիկ, ոչ ֆիզիոլոգիական պատասխաններով: Ըստ այսմ՝ հետագա ուսումնասիրություններն իրականացվեցին 1-34-ՊԹՀ-ի 10^{-10} Մ ազդեցությամբ:

Հաջորդ փորձաշարում ուսումնասիրվել է 1-34-ՊԹՀ-ի 10^{-10} Մ ազդեցության մեխանիզմը ֆարմակոլոգիական վերլուծության միջոցով: Կայցիումական անցուղու պաշարի վերապամիի (10^{-5} Մ), ֆոսֆոդիէսթերազի ինհիբիտոր տեոֆիլինի (10^{-4} Մ), կալիումական անցուղու պաշարի ամինոպիրիդինի (10^{-3} Մ), ինչպես նաև Na-K-ական պոմպի ինհիբիտոր օուաբահինի (10^{-3} Մ) կիրառմամբ ցույց է տրվել, որ 1-34-ՊԹՀ-ի ազդեցությամբ դիտվող դրական ինտորոպ-կայունացնող ազդեցությունը պայմանավորված է ցԱՄՖ-կախյալ մեխանիզմով, մինչդեռ դրա դրական քրոնոտորպ ազդեցությունն իրականանում է կայցիումական անցուղու ակտիվության շնորհիվ, որտեղ չի բացառվում նաև կալիումի և նատրիումի իոնների մասնակցությունը:

Հայտնի է, որ օրգանիզմի կայցիումական փոխանակությանը մասնակցում են նաև սեռական հորմոնները, և հետաքրքիր էր ուսումնասիրել նրանց փոխներգործությունը ՊԹՀ-ի հետ: Առանձին փորձաշարերում ուսումնասիրվել են β -Էստրադիոլի (10^{-6} Մ) և տեստոստերոնի (10^{-8} Մ) ազդեցությունները մեկուսացված սրտի վրա, որոնք ուղեկցվել են կծկման տատանասահմանի և հաճախականության կտրուկ աճով, սակայն տեստոստերոնի դեպքում՝ նաև սրտի արագ կանգով: 1-34-ՊԹՀ-ի գուգակցված ազդեցությունը սեռական հորմոնների հետ մեղմել և մոդուլացրել է դրանց ազդեցությունը սրտի վրա՝ երկարաձգելով նրա կենսունակությունը տեստոստերոնի ազդեցության դեպքում:

Վերջին փորձաշարը վերաբերում է կալցիում-կարգավորիչ հորմոնների լայն սպեկտրի՝ 1-34-ՊԹՀ-ի, վիտամին D-ի, կալցիտոնինի և սեռական հորմոնների, ինչպես նաև իոնիզացված կալցիումի և անօրգանական ֆոսֆորի պարունակության ուսումնասիրմանը սրտային անբավարարությամբ տառապող կանաչ և տղամարդկանց արյան շիճուկում: Հորմոնների քանակը որոշվել է իմունոֆերմենտային մեթոդով համապատասխան կիտ - հավաքածուներով, իսկ էլեկտրոլիտների պարունակությունը՝ սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով: Բոլոր հետազոտություններում պահպանվել են էթիկական նորմերը, և հետազոտման ենթակա բոլոր անձինք գրավոր տվել են իրենց համաձայնությունը մասնակցության համար: Տվյալների վիճակագրական վերլուծությունն իրականացվել է "Statistica - 10" ծրագրային փաթեթով: Ցույց է տրվել, որ սրտային անբավարարությամբ (NYHA 2-րդ և 3-րդ խմբերում) տառապող հիվանդների, և առավելապես կանանց խմբում, հավաստի շատանում է 1-34-ՊԹՀ-ի, ֆոսֆատների և նվազում կալցիումի, վիտամին D-ի, β-էստրադիոլի քանակները արյան մեջ: Համադրելով կլինիկական տվյալները փորձարարական փորձաշարերի արդյունքների հետ՝ ենթադրվում է, որ ՊԹՀ-ն կարող է իրականացնել կարդիոպաշտպանիչ դեր՝ պահպանելով սրտի գործունեությունը թուլացած սրտամկանի պարագայում: Պարզվել է նաև, որ Հայաստանի բնակչությունն ունի վիտամին D-ի և իոնիզացված կալցիումի անբավարարություն, քանի որ դրա մակարդակը հսկիչ խմբում ցածր էր բնակամոն ստանդարտ ցուցանիշներից: Համադրելով սրտային անբավարարության դեպքում կլինիկական հետազոտությունների արդյունքները մասնագիտական գրականության տվյալների հետ՝ առաջադրվում է վարկած կալցիումկարգավորիչ հորմոնների սրտի գործունեությունը շտկող ազդեցության վերաբերյալ:

Ստացված տվյալները կարող են ունենալ կիրառական նշանակություն. մասնավորապես կարելի է կալցիում-կարգավորիչ հորմոնալ համակարգի հնարավոր խանգարումները դիտարկել որպես ռիսկի գործոն սրտային անբավարարության զարգացման դեպքում, ինչպես նաև այդ համակարգի առանձին բաղադրիչներ ներառել սրտի ախտաբանական վիճակների կանխարգելման և բուժման սխեմաներում:

Satenik H. Adamyán

THE ROLE OF CALCIUM-REGULATING HORMONAL SYSTEM IN THE MECHANISMS OF THE HEART ACTIVITY

SUMMARY

Cardiovascular diseases (CVD) are a serious health and social problem and according to the WHO data (2016; 2017) - one of the leading causes of the world population's morbidity and mortality. Thus, the reveal of the risk factors of CVD development by implementing new preventive and treating methods is of great importance. At the same time it is known about the important role of blood electrolytic homeostatic indices, mainly the calcium ions, in the formation of the heart contractile and rhythmic activity. It is natural that the disorders of the calcium homeostasis, as well as their regulating mechanisms, will bring to the development of the heart dysfunction. Taking into account the above mentioned, it becomes obvious that the study of the calcium-regulating hormones' role in the regulation of the heart activity is beyond any doubt.

The aim of this work is to study the role of the calcium-regulating hormones, particularly the parathyroid hormone (PTH) in the regulation of heart functional activity, as well as its cellular and molecular action mechanisms.

The investigations were carried out on the frog's isolated heart with the help of a special device, the work of which is based on the angle of the laser beam refraction depending on the

intensity and frequency of the heart contractions. The photo-signals were transferred to the computer after being converted to digital, where the accumulation of the data, their statistical procession, the construction of the averaged time-dependent curves in LabView field by “Origine-8” and correlating analysis between indices by “Origine-15” programs were realized.

During the dose-dependent investigations of 1-34 and 39-68 fragments of PTH on the frog’s isolated heart we have shown that the most effective and physiologically accepted option is 10^{-10} M concentration of the 1-34-PTH which brings to inotropic-stabilizing and positive chronotropic effect, whereas other concentrations of 1-34-PTH (10^{-8} , 10^{-9} and 10^{-11} M), as well as all the studied doses of the 39-68 fragment of the hormone, had a certain impact on the isolated heart, but they were displayed by the arrhythmic, not physiological responds of the heart. Hence, the further investigations were conducted under the influence of 10^{-10} M 1-34-PTH.

During the next set of experiments we investigated the mechanism of 10^{-10} M 1-34-PTH effect by means of pharmacological analysis. The implementation of calcium channel blocker verapamil (10^{-5} M), phosphodiesterase inhibitor theophylline (10^{-4} M), potassium channel blocker aminopyridine (10^{-3} M), as well as Na-K-pump inhibitor ouabain (10^{-5} M) has shown that the positive inotropic-stabilizing effect, induced by 1-34-PTH influence, is conditioned by cAMP mechanism, whereas its positive chronotropic effect is realized due to the calcium channel activity where the participation of K and Na ions is not excluded.

It is known that sex hormones also participate in the organism’s calcium exchange and it became interesting to investigate their interaction with PTH. In a separate experimental set we have studied the effects of β -estradiol (10^{-6} M) and testosterone (10^{-8} M) on the isolated heart, which were accompanied by an abrupt growth of contraction’s amplitude and frequency, as well as by a quick cardiac arrest in case of testosterone. The combined effect of 1-34-PTH with the sex hormones smoothed and modulated their impact on the heart prolonging its viability in case of testosterone effect.

The last experimental set was devoted to the investigation of the wide spectrum of the calcium-regulating hormones: PTH, Vitamin D, calcitonin and sex hormones, as well as the content of ionized calcium and inorganic phosphorus in blood serum of men and women suffering from heart failure. The assessment of the hormones’ amount was realized by immune-assay method with corresponding kit sets, and the electrolytic content – by spectrophotometric method. In all the experiments the ethic norms have been maintained and all the people, subject to the investigation, gave their written consent for participation. The statistical analysis of the data was realized by “Statistica 10” software package. We have shown that among the patients with heart failure (NYHA 2nd and 3rd groups) and mostly in the women’s group the amount of 1-34-PTH and phosphate increases and the amount of calcium, Vitamin D, estradiole decreases reliably in blood. We have also found that the population of Armenia has Vitamin D and ionized calcium deficiency as their level in the control group was lower than normal. Comparing the clinical data with the experimental results we can suppose that PTH can realize a cardioprotector role and maintain the heart activity in case of weakened heart muscle. Comparing the clinical investigation findings with the literature data we propose a hypothesis concerning the correcting effect of the calcium-regulating hormones on the heart activity in case of heart failure.

The data obtained can have a practical significance, particularly we can consider the calcium-regulating system disorders as a risk factor for the heart failure development, as well as we can include separate components of that system in the preventive and treating schemes for the heart pathological conditions.

