

КОЗЛОВСКИЙ В.И.

**СРАВНЕНИЕ РОЛИ ПРОСТАЦИКЛИНА
В МЕХАНИЗМАХ КРОНАРНОЙ ВАОДИЛАТАЦИИ,
ВЫЗВАННОЙ АЦЕТИЛХОЛИНОМ, БРАДИКИНИНОМ
И АДЕНОЗИНОМ**

Кафедра фармакологии им. М.В. Кораблёва
(зав. кафедрой – профессор Бушма М.И.)
УО «Гродненский государственный медицинский университет»
Гродно, Беларусь

Резюме. Исследована роль простациклина в механизмах коронарорасширяющего действия ацетилхолина, брадикинина и аденозина в изолированном сердце мыши, а также влияние этих соединений на генерацию простациклина в коронарном русле. Установлено, что ингибитор циклооксигеназы, ответственной за синтез простациклина – индометацин – практически полностью подавлял позднюю фазу коронарной вазодилатации, вызванной ацетилхолином. В то же время ранняя фаза коронарорасширяющего ответа на ацетилхолин, а также коронарорасширяющие эффекты брадикинина и аденозина уменьшались в присутствии ингибитора NO-синтазы L-NAME. Ацетилхолин и брадикинин (в меньшей степени) повышали скорость выделения метаболита простациклина 6-кето-простогландина $F_{1\alpha}$ в изолированном сердце мыши. Таким образом, поздняя фаза коронарорасширяющего ответа на ацетилхолин является простациклин-зависимой, в то же время ранняя фаза коронарной вазодилатации, вызванной ацетилхолином, а также коронарорасширяющие ответы на брадикинин и аденозин реализуются с участием NO. Ацетилхолин и брадикинин (в меньшей степени) стимулируют генерацию простациклина в коронарном русле.

Ключевые слова: ацетилхолин, брадикинин, аденозин, простациклин, коронарная вазодилатация, изолированное сердце.

Введение. Как известно, ряд нейрогуморальных механизмов регуляции кровотока в тканях осуществляется с участием эндотелия сосудов. Регуляторная роль эндотелия реализуется

прежде всего путём вазодилатации, опосредованной эндотелиальным монооксидом азота (NO). Общеизвестно решающее значение NO для сосудорасширяющих эффектов ацетилхолина и брадикинина, имеются также данные об участии NO в механизмах вазодилатации, вызванной аденозином [7], гистамином [4], серотонином [3]. В то же время недостаточно исследована роль другого сосудорасширяющего фактора эндотелиального происхождения – простациклина – в эндотелий-зависимых механизмах регуляции перфузии тканей. Имеются данные о возможном участии вышеуказанного соединения в механизме сосудорасширяющего действия ацетилхолина [6] и брадикинина [5]. Тем не менее, степень участия простациклина в холинергических, кининергических и других нейрогуморальных механизмах регуляции кровотока в тканях не установлена, нет данных о сравнительном влиянии различных нейромедиаторов, аутокидов и гормонов на синтез простациклина.

Целью настоящего исследования было оценить роль простациклина в механизме коронарной вазодилатации, вызванной ацетилхолином, брадикинином и аденозином, в изолированном сердце мыши. Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи: 1) сравнить роль простациклина и NO в механизмах коронарорасширяющих эффектов ацетилхолина, брадикинина и аденозина; 2) оценить влияние данных соединений на генерацию простациклина в коронарном русле изолированного сердца.

Материал и методы исследования. Эксперименты проводились на изолированных сердцах мышей линии C57BL/6 обоих полов с использованием метода Лангендорфа [2]. После анестезии животных тиопенталом и изоляции сердец последние перфузировались ретроградно через аорту под постоянным давлением 100 мм рт. ст. с использованием аппарата Лангендорфа (Hugo Sachs Electronics) раствором Кребса–Ханзеляйта следующего состава (mM): NaCl 118, CaCl₂ 2,52, MgSO₄ 1,64, NaHCO₃ 24,88, K₂HPO₄ 1,18, глюкоза 5,55, натрия пируват 2,0. Перфузионный раствор оксигенировался смесью 95% O₂+5% CO₂ при 37°C. Сердца стимулировались двумя платиновыми электродами, введёнными в правое предсердие с частотой 400 импульсов в минуту. Объём жидкости, протекавший

в единицу времени, соответствовал величине коронарного потока (КП). Данный показатель измерялся с помощью ультразвукового датчика (Hugo Sachs Electronics) и мониторировался в течение всего эксперимента.

Сосудорасширяющие эффекты ацетилхолина, брадикинина и аденозина вызывались путём болюсного введения растворов соединений (в объёме 10 мкл). Роль простаглицлина и NO оценивались, соответственно, с помощью ингибитора циклооксигеназы индометацина ($5 \cdot 10^{-6}$ М) и ингибитора NO-синтазы метилового эфира L-N^G-нитроаргинина (L-NAME, $5 \cdot 10^{-4}$ М). Указанные ингибиторы добавлялись в перфузионный раствор. В ходе эксперимента эффект ацетилхолина и брадикинина оценивался дважды: до введения соответствующих антагонистов и в присутствии их. В контрольных экспериментах без использования ингибиторов сосудорасширяющие эффекты ацетилхолина и брадикинина были повторяемы.

Исследовано также влияние ацетилхолина и брадикинина на продукцию простаглицлина путём измерения содержания в эффлюенте из изолированного сердца мыши метаболита простаглицлина 6-кето-простаглицдина F_{1α} с помощью набора ферментов для иммуноферментного анализа (Cayman Chemical Company, США). Забор эффлюента для измерения 6-кето-простаглицдина F_{1α} осуществлялся дважды в ходе эксперимента: до и после введения исследуемого соединения. Для получения скорости выделения 6-кето-простаглицдина F_{1α} из изолированного сердца мыши в пкг/мин концентрация данного метаболита в эффлюенте умножалась на величину КП (выраженную в л/мин) в момент взятия эффлюента.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью компьютерной программы «Статистика-6». На первом этапе проводилась оценка нормальности распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения данные выражались как среднее (M) ± стандартное отклонение (S), если же распределение отличалось от нормального, результаты выражались как медиана (Me) и интерквартильный размах (25-й перцентиль – 75 перцентиль) – (25%; 75%). Поскольку распределение в большинстве групп данных отли-

чалось от нормального, сравнение их проводилось с помощью непараметрических методов с использованием критерия Вилкоксона для связанных групп. При оценке различия между группами определялось p – вероятность нулевой гипотезы при сравнении групп. Статистически достоверным различие между оцениваемыми группами считалось при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Коронарная вазодилатация, вызванная ацетилхолином в изолированном сердце мыши, состояла из двух фаз: начальной, или ранней вазодилатации, и поздней вазодилатации (рисунок 1); средняя продолжительность этих фаз, соответственно, 8 (7; 11) сек. и 220 (169; 309) сек. Коронарорасширяющие ответы на брадикинин и аденозин были более кратковременными и состояли из одной фазы.

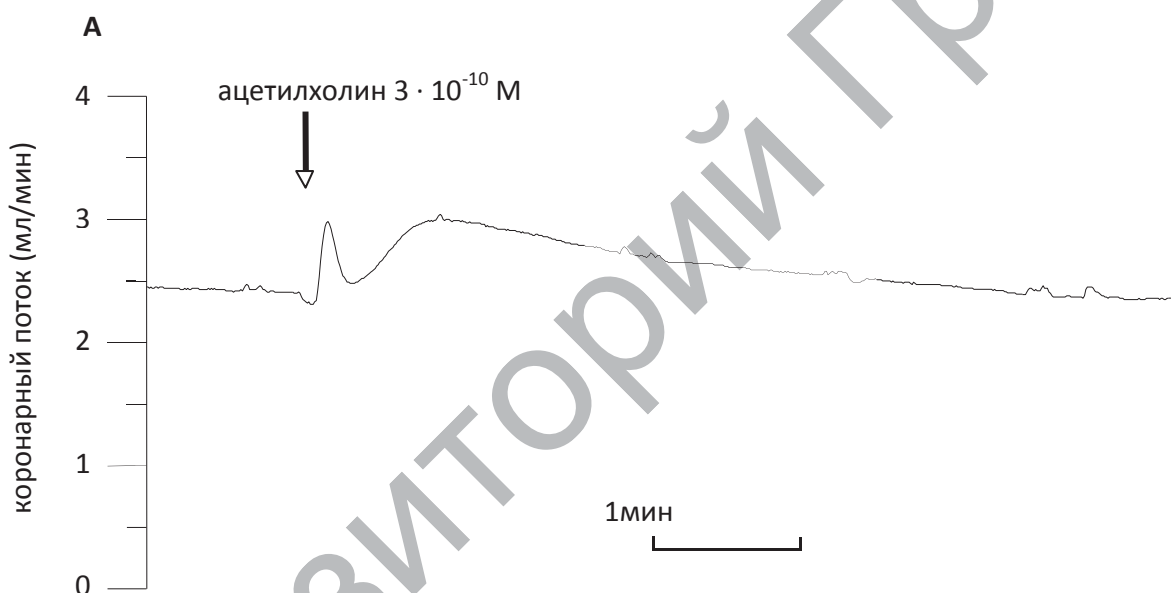


Рисунок 1 – Коронарорасширяющий ответ на ацетилхолин в изолированном сердце мыши (запись эксперимента)

Коронарная вазодилатация, вызванная брадикинином и аденозином, уменьшалась, но не устранялась полностью ингибитором NO-синтазы L-NAME (таблица 1). Ранняя фаза коронарорасширяющего ответа на ацетилхолин также ингибировалась L-NAME, в то же время поздняя вазодилатация, индуцированная ацетилхолином, полностью устранялась ингибитором циклооксигеназы, ответственной за синтез простациклина – индометацином.

Установлено также, что ацетилхолин в 6,9 раза увеличивал выделение 6-кето-простациклина $F_{1\alpha}$ в эффуенте из изолированного сердца мыши (рисунок 2А). Брадикинин повышал скорость выделения метаболита простациклина в 2,3 раза (рисунок 2Б). В то же время аденозин существенно не влиял на генерацию простациклина (скорость выделения 6-кетопростациклина $F_{1\alpha}$ в эффуенте из изолированного сердца мыши составила 33,8 (17,4; 44,1) пкМ/мин и 41,8 (26,5; 49,4) пкМ/мин до и после введения аденозина, соответственно).

Таблица 1 – Влияние L-NAME и индометацина на субмаксимальную коронарную вазодилатацию, вызванную ацетилхолином ($3 \cdot 10^{-10}$ М), брадикинином (10^{-9} М) и аденозином (10^{-9} М) в изолированном сердце мыши –Me (25%; 75%)

Вводимое соединение		Прирост КП (мл/мин)			
		до применения L-NAME	в присутствии L-NAME	до применения индометацина	в присутствии индометацина
Ацетилхолин	ранняя вазодилатация	0,77 (0,50; 0,78); n=9	0,30 (0,18; 0,49)*; n=9	0,51 (0,39; 0,92); n=10	0,45 (0,31; 0,91); n=10
	поздняя вазодилатация	0,59 (0,52; 0,80); n=9	0,41 (0,35; 0,42); n=9	0,47 (0,42; 0,71); n=10	0,07 (0; 0,11)*; n=10
Брадикинин		2,20 (1,50; 2,80); n=9	0,80 (0,40; 1,10); n=9	1,95 (1,40; 2,26); n=10	1,67 (1,35; 2,25); n=10
Аденозин		3,0±1,4; n=10	1,3±1,0*; n=10	2,0±1,0; n=10	1,7±0,9; n=10

Примечание: * – статистически достоверное различие по сравнению с контролем, $p < 0,05$.

Полученные результаты свидетельствуют о существенной роли простациклина в механизме коронарной вазодилатации, вызванной ацетилхолином, в изолированном сердце мыши. Простациклин отвечает за позднюю, более длительную фазу коронарорасширяющего ответа на ацетилхолин, в то время как кратковременная ранняя фаза опосредована преимущественно NO. В то же время коронарная вазодилатация, вызванная брадикинином и аденозином, опосредована NO и не зависит от простациклина.

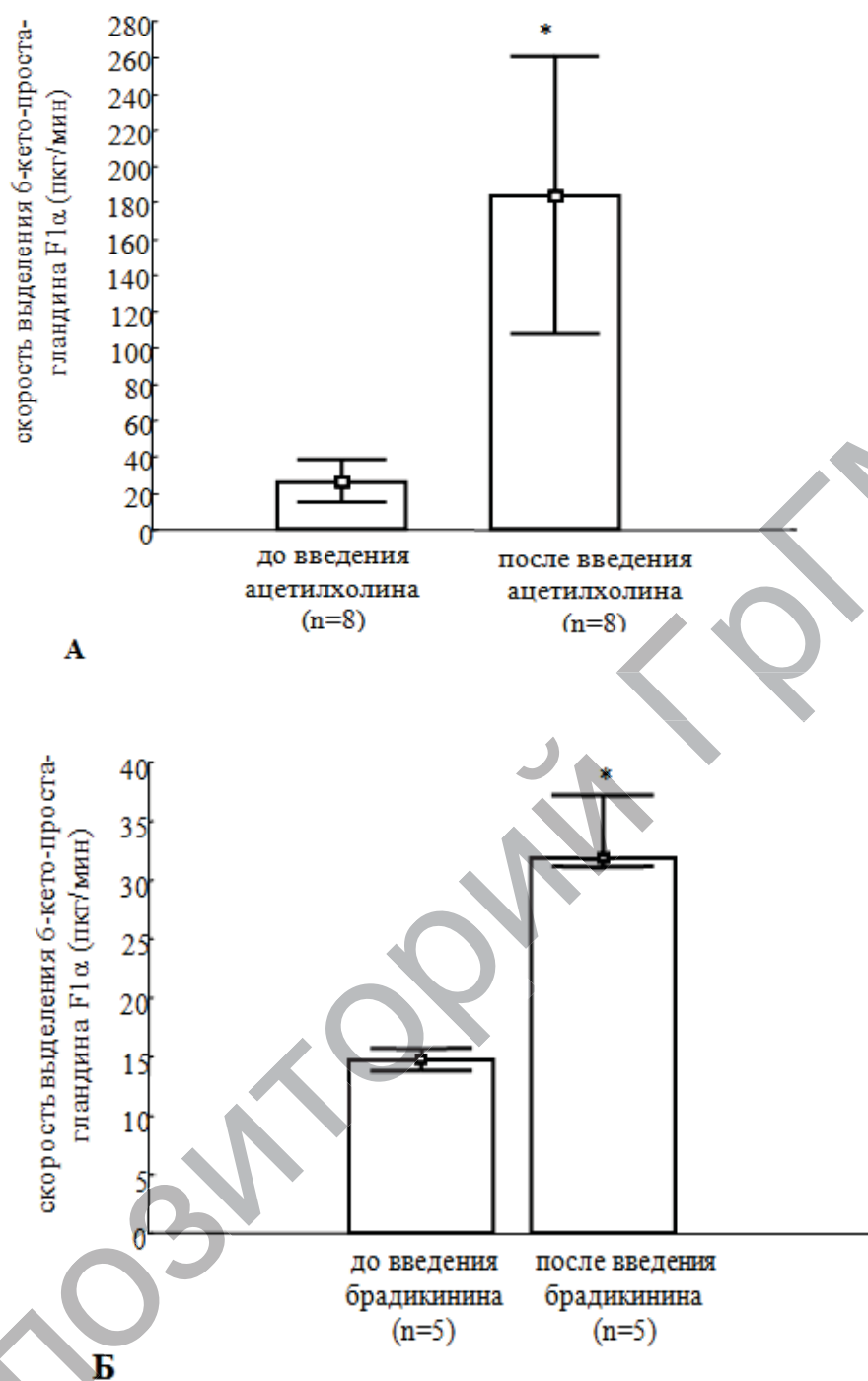


Рисунок 2 – Влияние ацетилхолина (А) и брадикинина (Б) на скорость выделения 6-кето-простагладина F1α в изолированном сердце мыши

Примечание: * – статистически достоверное различие по сравнению с контролем, $p < 0,05$.

Показано также, что ацетилхолин и брадикинин стимулируют генерацию простаглана эндотелием коронарных сосудов, однако эффект брадикинина значительно слабее. Очевид-

но, количество простаглицлина, выделяющееся под влиянием брадикинина, недостаточно для выраженного коронарорасширяющего эффекта.

Обращает на себя внимание также, что NO-зависимые коронарорасширяющие ответы (ранняя фаза коронарной вазодилатации, вызванной ацетилхолином, а также коронарорасширяющие эффекты брадикинина и аденозина) не устранялись полностью ингибитором NO-синтазы L-NAME. Известно, что NO- и простаглицлин-независимый компонент вазодилатации, вызванной ацетилхолином и брадикинином, зависит от так называемого гиперполяризующего фактора эндотелиального происхождения [8], роль которого могут играть метаболиты цитохрома P450 (эпоксиэйкозатриеновые кислоты) [1], пероксид водорода [10], эндогенные каннабиноиды [9].

Выводы:

1. Простаглицлин определяет позднюю фазу коронарорасширяющего ответа на ацетилхолин, в то же время ранняя фаза коронарной вазодилатации, индуцированной ацетилхолином, а также коронарорасширяющие эффекты брадикинина и аденозина опосредованы NO и не зависят от простаглицлина в изолированном сердце мыши.

2. Ацетилхолин и брадикинин (в меньшей степени) стимулируют генерацию простаглицлина в коронарном русле изолированного сердца мыши.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Campbell, W.B. Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors / W.B. Campbell, D. Gebremedhin, P.F. Pratt, D.R. Harder // *Circ. Res.* – 1996. – Vol. 78. – P. 415-423.

2. Chlopicki, S. Compensation of endothelium-dependent responses in coronary circulation of eNOS-deficient mice / S. Chlopicki, V.I. Kozlovski, B. Lorkowska, L. Drelicharz, A. Gebcka. // *J Cardiovasc Pharmacol.* – 2005. – Vol. 46, № 1. – P. 115-123.

3. Ellwood, A.J. Mechanism of 5-hydroxytryptamine-induced coronary vasodilation assessed by direct detection of nitric oxide production in guinea-pig isolated heart / A.J. Ellwood, M.J. Curtis // *Br. J. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 119, № 4. – P. 721-729.

4. Jin, H. Histamine-induced vasodilation and vasoconstriction in the mesenteric resistance artery of the rat / Y. Jin, T. Koyama, Y. Hatanaka [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 529. – P. 136-144.

5. Kamei, M. Endothelial factors involved in the bradykinin-induced re-

laxation of the guinea-pig aorta / M. Kamei, Y. Yoneda, H. Suzuki // J. Smooth. Muscle Res. – 2000. – Vol. 36, № 4. – P. 127-135.

6. Kamper, A.M. Prostaglandins are involved in acetylcholine- and 5-hydroxytryptamine-induced, nitric oxide-mediated vasodilatation in human forearm / A.M. Kamper, L.C. Paul, G.J. Blauw // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2002. – Vol. 40, № 6. – P. 922-929.

7. Mortensen, S.P. Adenosine contributes to blood flow regulation in the exercising human leg by increasing prostaglandin and nitric oxide formation / S.P. Mortensen, M. Nyberg, P. Thaning [et al.] // Hypertension. – 2009. – Vol. 53, №6. – P. 993-999.

8. Parkington, H.C. Role of membrane potential in endothelium-dependent relaxation of guinea-pig coronary arterial smooth muscle / H.C. Parkington, M.A. Tonta, H.A. Coleman, M. Tare // J Physiol. – 1995. – Vol. 484. – P. 469-480.

9. Randall, M.D. An endogenous cannabinoid as an endothelium-derived vasorelaxant / M.D. Randall, S.P. Alexander, T. Bennett // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1996. – Vol. 229, №1. – P. 114-120.

10. Shimokawa, H. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in animals and humans / H. Shimokawa, K. Morikawa // J Mol Cell Cardiol. – 2005. – Vol. 39, №5. – P. 725-732.

Summary

KOZLOVSKI V.I.

COMPARISON OF THE ROLE OF PROSTACYCLIN IN MECHANISMS OF CORONARY VASODILATION INDUCED BY ACETYLCHOLINE, BRADYKININ AND ADENOSINE

**Grodno State Medical University
Grodno, Belarus**

The role of prostacyclin in mechanisms of coronary vasodilating action of acetylcholine, bradykinin and adenosine in the isolated mouse heart was investigated, as well as the influence of these compounds on generation of prostacyclin in coronary vessels. It was found that inhibitor of cyclooxygenase, responsible for prostacyclin synthesis – indomethacin – almost completely abolished delayed phase of coronary vasodilation induced by acetylcholine. At the same time early phase of the coronary vasodilating response on acetylcholine as well as the coronary vasodilating effects of bradykinin and adenosine decreased in presence of NO-synthase inhibitor L-NAME. Acetylcholine and bradykinin (to a lesser extent) increased excretion of the metabolite of prostacyclin 6-keto-prostaglandin $F_{1\alpha}$

in the isolate mouse heart. In conclusion, delayed phase of the coronary vasodilating response to acetylcholine is prostacyclin-dependent, at the same time early phase of the coronary vasodilation induced by acetylcholine as well as the coronary vasodilating responses to bradykinin and adenosine are realized with the participation of NO. Acetylcholine and bradykinin (to a lesser extent) stimulate prostacyclin generation in coronary vascular bed.

Keywords: acetylcholine, bradykinin, adenosine, prostacyclin, coronary vasodilation, isolated heart.

УДК 615.27:616.72-002.77-073

КОМАРОВА Е.Б.

ВЛИЯНИЕ СПИРОНОЛАКТОНА НА ПОКАЗАТЕЛИ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СУСТАВОВ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Кафедра внутренней медицины ФПО
(зав. кафедрой – профессор Ребров Б.А.)

ГУ «Луганский государственный медицинский университет»
г. Луганск, Украина

Резюме. Использование спиронолактона, обладающего противовоспалительными и антипролиферативными свойствами, в комплексной терапии ревматоидного артрита улучшает показатели ультразвукового исследования суставов: значительно уменьшается выпот в полость сустава и расширение суставной щели, эффективнее уменьшается толщина синовиальной оболочки и степень ее васкуляризации, что способствует снижению скорости образования паннуса и тормозит образование костно-хрящевых эрозий по сравнению со стандартной терапией.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, ультразвуковое исследование суставов, ангиогенез, альдостерон, спиронолактон.

Введение. Ревматоидный артрит (РА) – аутоиммунное заболевание, характеризующиеся эрозивно-деструктивным процессом в суставах, что приводит к ранней инвалидизации пациентов, снижению качества жизни и низкой частоте достиже-