

### Литература

1. Rodionov Yu.Ya. The Heart as a pivotal biological pump-oscillator. The cardiac level of animal organism's integration. Phenomenology, hypothesis, postulates and their significances // XXXII Int. Congr. of Physiological Sciences. Abstracts. Glasgow. Great Britain. 1993. August 1 – 6<sup>th</sup>.
2. Родионов Ю.Я., Шебеко В.И. Реакции эндотелия на гемодинамическую нагрузку и на повреждение. Регенерационная способность эндотелия. Роль клеток-предшественниц эндотелия в этих процессах // Дисфункция эндотелия (VI международная научно-практическая конференция). – 2010. – Витебск. – с. 28–35.
3. Шебеко В.И., Родионов Ю.Я. Дисфункция эндотелия при гиперхолестеринемии и атеросклерозе // Медицинские новости. – 1997. – № 11. – С.12–17.
4. Davies P.F. Flow-mediated endothelial mechanotransduction // Physiol. Rev. – 1995. – 75. – P. 519–560.
5. Dai G., Vaughn S., Zhang Y. et al. Biomechanical forces in atherosclerosis-resistant vascular regions regulate endothelial redox balance via phosphoinositol 3-kinase/Akt-dependent activation of Nrf2. // Circ. Res. 2007. – 101. – P. 723–733.
6. Chiu J.-J., Chien S. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives // Physiol. Rev. – 2011. – 91. – P. 327–387.
7. Noble D. The Music of Life: A new view on Nature and Nurture. – 2008. – Science, Oxford.

### УВЕЛИЧЕНИЕ ЭНДОТЕЛИЙЗАВИСИМЫХ ВЛИЯНИЙ ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОМ ОДНОРАЗОВОМ СТРЕССОРНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ: РОЛЬ iNOS

*Солодков А.П., Яцковская Н.М., \*Лазуко С.С.*

*УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова», Беларусь*

*\* УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов  
медицинский университет», Беларусь*

Как недостаточное, так и избыточное образование NO связано с различными патологическими процессами. Нарушение биодоступности NO, синтезируемого eNOS и nNOS, может привести к гипертонии, импотенции, или атеросклерозу, а избыток образования NO, синтезируемого iNOS, может вызвать воспаление, ревматоидный артрит, воспалительные заболевания кишечника, иммунногенный тип диабета, инсульт и рак.

Ранее нами показано, что при длительном жестком ограничении двигательной активности наблюдается появление iNOS, сопровождающееся избыточной продукцией монооксида азота и, как следствие, ослаблением ауторегуляции коронарного потока и сократительной функции миокарда [1]. В тоже время, при кратковременной иммобилизации и под влиянием кратковременных повторяющихся стрессор-

ных воздействий также наблюдается увеличение синтеза NO, но он не нарушает тонус сосудов и сократительную функцию миокарда. В этих двух моделях стресса повышение эндотелийзависимой NO-опосредованной релаксации может быть защитным механизмом, который способен уравновесить активацию симпатической нервной системы во время стресса.

Одним из возможных объяснений данного различия в действии NO может быть разный источник его происхождения, в конечном итоге, оказывающий влияние на его протекторный эффект.

Целью данного исследования было на изолированном кольце аорты крыс, подвергнутых кратковременному однократному ограничению двигательной активности, выяснить эффективность влияния высокоселективного ингибитора iNOS на выраженность эндотелийзависимой вазодилатации и эндотелийнезависимой вазоконстрикции.

**Материал и методы.** Эндотелийзависимое расслабление изолированного кольца аорты-крыс (массой 180-250г) оценивали классическим способом (предсокращали гладкомышечные клетки кольца аорты фенилэфрином ( $10^{-6}$ М) с последующим кумулятивным добавлением в перфузионный раствор ацетилхолина от  $1 \times 10^{-10}$  до  $3 \times 10^{-5}$  М). Вазоконстрикцию изучали путем введения в перфузионный раствор возрастающих концентраций альфа 1-адреностимулятора фенилэфрина (от  $10^{-15}$  до  $10^{-3}$  М). Для выяснения роли iNOS использовали ее высокоселективный блокатор S-метилизотиомочевину (Sigma, США). Эксперименты проводили на установке Biopac systems, TISSUE BATH 4CHAN SYS, США (датчики силы -TSD125, соединенные с системой накопления данных MP150, программа AcqKnowledge 4.1. Препарат изолированного кольца аорты перфузировали раствором Кребса-Хензелята, который функционировал в изометрическом режиме.

Концентрацию ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа, используя тест-системы и реагенты ТОО «Цитокин» (С-Петербург), ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирская область, п. Кольцово) с помощью фотометра универсального Ф-300 ТП (Беларусь).

Острый стресс вызывали фиксацией крыс в пластиковых пеналах на протяжении 60 минут, затем брали в эксперимент. В экспериментах использовали изолированные кольца аорты крыс, разделенных на 2 группы: контрольную (n=27) и группу животных, перенесших стресс (n=37).

Обработка полученных результатов проводили с применением пакета статистических программ Microsoft Excel 2000, STATISTICA 6.0 и при помощи программы GraphPad Prism 4.0.

**Результаты и их обсуждение. Эндотелийзависимая релаксация.** Исходное напряжение кольца аорты во всех исследуемых группах животных не различалось и в среднем составляло  $1824 \pm 13,8$  мг. Сократительный ответ кольца аорты на фенилэфрин между исследуемыми группами не различался (в среднем составил  $3370 \pm 100,7$  мг). В контрольной группе животных после добавления ацетилхолина дилатация кольца аорты начиналась при концентрации  $5 \times 10^{-8}$  М и составляла 12%. При этом максимальная дилатация достигалась при концентрации ацетилхолина в перфузате  $3 \times 10^{-5}$  М и составляла 64%. В группе животных, перенесших острый стресс, дилатация изолированного кольца аорты начиналась при концентрации ацетилхолина в ванночке  $1 \times 10^{-8}$  М и составила 19%. При концентрации ацетилхолина  $5 \times 10^{-8}$  М - 46%, что было на 33% больше, чем в контроле ( $p < 0,05$ ). Максимальная дилатация в группе животных перенесших острый стресс достигалась при концентрации ацетилхолина  $3 \times 10^{-5}$  М и составляла 85%. При этом, в группе животных «острый стресс» наблюдалось увеличение чувствительности гладкомышечных клеток аортальных сосудов к ацетилхолину. Так концентрация ацетилхолина, вызывающая 50% ответную реакцию (EC50) гладкомышечных клеток аортальных сосудов составила при остром стрессе -  $4,531 \times 10^{-8}$  М (в контроле EC50 -  $1,584 \times 10^{-7}$  М).

Добавление в перфузионный раствор высокоселективного блокатора iNOS S-метилизотиомочевинины в контрольной группе животных не оказало влияние на выраженность эндотелийзависимой релаксации кольца аорты. Напротив, в группе животных, перенесших однократный не продолжительный стресс, инкубирование сегмента аорты с S-метилизотиомочевининой сопровождалось расслаблением гладкомышечных клеток, которое начиналось при концентрации ацетилхолина  $3 \times 10^{-8}$  М и составило 14%. Максимальная дилатация достигалась при концентрации ацетилхолина  $3 \times 10^{-5}$  М и составляла 61%. Несмотря на то, что блокатор индуцированной NO-синтазы в значительной степени ограничивал усиление эндотелийзависимой вазодилатации в группе «острый стресс+S-MT», чувствительность гладкомышечных клеток аортальных сосудов оставалась повышенной EC50 и составило  $8,483 \times 10^{-8}$  М ( $p < 0,05$ ), против контроля где EC50 было  $1,584 \times 10^{-7}$  М. Этот факт указывает на то, что кратковременное однократное стрессорное воздействие сопровождается образованием индуцированной NO-синтазой.

**Эндотелийнезависимая вазоконстрикция.** Дозозависимое (от  $10^{-15}$  до  $10^{-3}$  М) введение  $\alpha 1$  адреностимулятора фенилэфрина приводило к увеличению сократительной активности изолированного кольца аорты крысы. В контрольной группе животных сократитель-

ный ответ изолированного кольца аорты крысы на возрастающие концентрации фенилэфрина проявлялся при концентрации  $10^{-13}$  М и составил 14% от исходного напряжения, а при концентрации  $10^{-6}$  М ответная реакция была 100%.

В группе животных, перенесших острый стресс, сокращение кольца аорты начиналась, как и в контроле, при концентрации фенилэфрина  $10^{-13}$  М и составляла 25% от исходного напряжения, достигая максимума при  $10^{-6}$  М – 93%. Необходимо отметить, что в группе животных «острый стресс» реакция на фенилэфрин была более выражена при низких концентрациях  $\alpha 1$ -адреностимулятора по сравнению с контролем, в то время как при повышении концентрации фенилэфрина наблюдался противоположный эффект. Чувствительность аортальных сосудов к фенилэфрину оказалась более высокой в группе контрольных животных и EC50 составляла  $5,179 \times 10^{-12}$  М ( $p < 0,05$ , против группы «острый стресс» EC50 –  $3,497 \times 10^{-11}$  М).

Добавление в перфузионный раствор блокатора iNOS S-метилизотиомочевины частично увеличивало чувствительность гладкомышечных клеток кольца аорты к фенилэфрину в группе животных, перенесших кратковременный однократный стресс, не оказывая влияния на сокращение колец контрольных животных.

В сыворотке крови контрольных животных обнаруживался только ИЛ-1 $\beta$ . Пребывания крыс в пластиковых пеналах в течение 60 минут сопровождалось возрастанием концентрации в сыворотке крови ИЛ-1 $\beta$  почти в 2 раза, а также наблюдалось увеличение концентрации ФНО- $\alpha$  до  $5,09 \pm 1,31$  пг/мл.

**Заключение.** Таким образом, под влиянием острого стресса (60 мин ограничение двигательной активности) образуются провоспалительные ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ , которые способны индуцировать появление iNOS и, как следствие, усиление эндотелийзависимой релаксации кольца аорты и ее чувствительности к ацетилхолину, а также снижение констрикторного эффекта фенилэфрина. Учитывая тот факт, что изменения сосудистой реактивности при кратковременном стрессе скорее носят приспособительный характер, чем проявлением патологии, можно заключить, что NO, образующийся при участии iNOS также при этом состоянии имеет протекторное значение.

#### Литература

1. Солодков А.П., Майорова С.С., Лазуко С.С. Монооксид азота и функциональная активность кальцийактивируемых калиевых каналов большой проводимости коронарных сосудов при ограничении двигательной активности крыс Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова.- Санкт-Петербург. – 2009. – Т.95, № 7. – С.736–749.