

ВЛИЯНИЕ СТРЕССА, ГИПЕРГЛИКЕМИИ И ИХ СОЧЕТАНИЯ НА ВАЗОДИЛАТАТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННЫХ КОЛЕЦ АОРТЫ КРЫС, ВЫЗВАННУЮ ВОЗРАСТАЮЩИМИ КОНЦЕНТРАЦИЯМИ NS1619 В УСЛОВИЯХ УДАЛЕННОГО ЭНДОТЕЛИЯ

*Лазуко С.С., Солодков А.П.**

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

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

Хроническое увеличение уровня глюкозы в крови и длительный эмоциональный стресс приводят к значительным нарушениям как системного, так и локального кровообращения. Важную роль в механизмах нарушения локального кровотока и тонуса сосудов сердца при этих состояниях может играть дисфункция эндотелия и гладкомышечных клеток, в частности, нарушение функций их калиевых каналов [1]. В последнее десятилетие проявляется большой интерес к изучению роли калиевых каналов в функционировании клеток и их участию в патогенетических механизмах заболеваний [3]. Особый интерес представляют активируемые кальцием калиевые каналы большой проводимости (VK_{Ca} -каналы), расположенные в гладкомышечных клетках сосудистой стенки и участвующие в регуляции сосудистого тонуса [4]. Нарушение экспрессии гена, кодирующего $\beta 1$ -субъединицу VK_{Ca} -каналов, приводит к увеличению сосудистого тонуса и артериальной гипертензии [6]. Одной из причин нарушения тонуса сосудов при сахарном диабете является нарушение функциональной активности VK_{Ca} -каналов [5]. Хроническое увеличение уровня глюкозы в крови сопровождается накоплением реактивных форм кислорода (окислительный стресс), что приводит к окислению цистеиновых остатков белков, входящих в состав VK_{Ca} -калиевых каналов и нарушению гиперполяризации мембраны гладкомышечных клеток [2]. Организм, как правило, подвергается комбинированному воздействию различных факторов окружающей среды. В частности, люди с повышенным уровнем глюкозы в крови, занимая активную жизненную позицию, подвержены психоэмоциональным перегрузкам. Однако, вопрос о сочетанном воздействии гипергликемии и стресса не изучался.

В связи с этим целью исследования было изучить сочетанное влияние иммобилизационного стресса и гипергликемии на чувствительность гладкомышечных клеток аортальных сосудов крыс к активатору VK_{Ca} -каналов NS1619.

Материал и методы. Влияние возрастающих концентраций активатора VK_{Ca} -каналов NS1619 изучали на 24 денудированных изолиро-

ванных сегментах аорты крыс. Все животные были подразделены на группы: 1-ая – контрольная (n=6); 2-ая – группа животных перенесших стресс (n=6); в 3-ю группу вошли сегменты аорты животных с гипергликемией (n=6); 4-ую составили изолированные кольца животных перенесших стресс на фоне предварительной гипергликемии (n=6).

Длительный иммобилизационный стресс воспроизводили путем фиксации крыс в положении на спине в течение 6 часов. Исследование животных проводили через 90 минут после окончания иммобилизации.

Для моделирования гипергликемии животным однократно внутривенно вводили стрептозоцин (Sigma, USA), разведенный в цитратном буфере pH 4,5 в дозе 60 мг/кг. Через 14 дней в эксперимент брали животных, с уровнем глюкозы в крови выше 20 ммоль/л.

Обработка полученных результатов проводилась с применением пакета статистических программ Microsoft Excel 2000, STATISTICA 6.0 и программного обеспечения GraphPad Prism (San Diego, California, USA).

Результаты и их обсуждение. В группе животных перенесших стресс, а также в группах животных с гипергликемией до и после перенесенного стресса в условиях удаленного эндотелия, исходное напряжение кольца аорты было одинаковым и составляло в среднем 1800 ± 154 мН. Под влиянием стандартной дозы фенилэфрина (10^{-6} М) прирост напряжения сегмента аорты крыс между группами не различался и составил в среднем 1350 ± 104 мН. Добавление в ванночку NS1619 (10^{-8} – 10^{-3} М) приводило к дозозависимому расслаблению кольца аорты. В группе животных перенесших стресс начальная релаксация кольца аорты наблюдалась при концентрации NS1619 в ванночке 10^{-5} М и составила 12% от исходного прироста напряжения, вызванного фенилэфрином, и не отличалась от контрольных показателей (в контроле релаксация кольца аорты наблюдалась также при концентрации в перфузионном растворе 10^{-5} М и составила 9%, $p > 0,05$). При концентрации в растворе NS1619 10^{-3} М максимальная дилатация составляла 43% (для сравнения в контрольной группе животных с удаленным эндотелием, 82%, $p < 0,05$). В группах животных с гипергликемией до и после перенесенного стресса чувствительность сегмента аорты к активатору кальцийактивируемых калиевых каналов проявлялась при концентрации 2×10^{-5} М и составила в среднем 10% дилаторной реакции. Максимальное расслабление кольца аорты в группе животных с гипергликемией фиксировали при концентрации NS1619 10^{-3} М и оно составляло 44%, что было выражено в той же степени, что и при стрессе, но оказалось в два раза меньше, чем в контрольной группе животных.

Под влиянием NS1619 в группе животных при сочетанном влиянии гипергликемии и иммобилизационного стресса максимальная ре-

лаксация кольца аорты составила всего лишь 23%, что в два раза меньше чем при стрессе и гипергликемии в отдельности.

В группах животных перенесших стресс и гипергликемию EC_{50} , при которой наблюдалась, полумаксимальная ответная дилататорная реакция составила $1,19 \times 10^{-4} M$ и $1,72 \times 10^{-4} M$ соответственно и не отличалась от контрольной группы животных ($EC_{50} = 2,17 \times 10^{-4} M$). В тоже время, сочетанное воздействие стресса и гипергликемии сопровождалось достоверным возрастанием чувствительности гладкомышечных клеток аорты к активатору VC_{Ca} -каналов EC_{50} составила $2,33 \times 10^{-5} M$ ($p < 0,05$, по сравнению с группой контроль «Э-»).).

Таким образом, при стрессе и гипергликемии наблюдалось необычное сочетание нормальной чувствительности препарата артериального сосуда к NS1619 и выраженного снижения дилататорного эффекта активатора VC_{Ca} -каналов. Совершенно иное выявилось в изолированных кольцах аорты животных, перенесших стресс на фоне гипергликемии. В этой группе животных снижение чувствительности препарата артериального сосуда к активатору VC_{Ca} -каналов сопровождалось значительным уменьшением ответной реакции (снижение более чем в три раза, по сравнению с контролем, $p < 0,05$).

Заключение. Во-первых, увеличение чувствительности гладких миоцитов аорты к NS1619, сочетающееся с уменьшением выраженности его эффекта, выявленные в группе животных перенесших стресс и гипергликемию, может быть следствием как уменьшения количества VC_{Ca} -каналов в мембране гладкомышечных клеток аорты, так и подавлением их функциональной активности. Возможным механизмом уменьшения количества VC_{Ca} -каналов может быть либо их интернализация, либо уменьшение количества функционально активных каналов при сохранении общего количества. Однако остается не выясненным вопрос о том, почему при изменении вероятности открытия данных каналов или уменьшения их числа не изменяется их чувствительность к активатору.

Во-вторых, при сочетанном влиянии гипергликемии и стресса наблюдаются проявления подавления функциональной активности VC_{Ca} -каналов, выражающиеся в нарушении восприятия активатора и/или механизма его реализации. Следовательно, можно сделать вывод о том, что сочетанное влияние стресса и гипергликемии оказывается более тяжелым, нежели отдельные проявления данных состояний.

Литература

1. Diabetes mellitus, oxidative stress and endothelial dysfunction / D. Bonnefont-Rousselot, [et al.] // Ann Pharm Fr. – 2004. – Vol. 62. – № 3. – P. 147–157.
2. Glutathione reverses systemic hemodynamic changes induced by hyperglycemia in healthy subjects / R. Marfella [et al.] // Am J Physiol. – 1995. – Vol. – P. E1167-E1173.

3. Nilius, B Ion channels and their functional role in vascular endothelium / B. Nilius, G. Droogmans // *Physiol. Rev.* – 2001. – Vol. 81. – P. 1415–1459.
4. Physiological roles of K⁺ channels in vascular smooth muscle cells / E. A. Ko [et al.] // *J. Smooth Muscle Res.* – 2008. – Vol. 44. № 2. – P. 65–81.
5. Potassium channel contributions to afferent arteriolar tone in normal and diabetic rat kidney / C. M. Troncoso Brindeiro [et al.] // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2008. – Vol. 21. – P. 165–181.
6. The β1 subunit of the Ca²⁺-sensitive K⁺ channel protects against hypertension / U.S. Lee [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2004. – Vol. 113. – P. 955–957.

ВЛИЯНИЕ НИЛИ НА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ И МЕХАНИЗМЫ ЕГО РЕГУЛЯЦИИ ПРИ РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА

Лучкина О.А., Молотков О.В., Халепо О.В.
ГОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия»,
Смоленск, Россия

Диабетические микроангиопатии во многом определяют прогноз заболевания и судьбу больного. Согласно данным литературы, патогенез микроангиопатий при СД 1 типа складывается из токсического поражения микрососудов, дисфункции эндотелия как результата активации перекисного окисления липидов (ПОЛ), нарушения регуляции сосудистого тонуса, а также активизации аутоиммунных механизмов, повреждающих стенку микрососудов [1].

Однако, состояние микрогемодинамики в процессе формирования и развития СД 1 типа до сих пор мало изучено, что и послужило поводом для нашего исследования.

Материал и методы. Работа выполнена на 29 белых беспородных крысах самцах массой 150–200г. Экспериментальный СД вызывали 3-кратным внутрибрюшинным введением стрептозотоцина (СТЦ) в дозе 30 мг/ кг массы, поскольку именно эта модель является наиболее адекватной заболеванию человека [4].

Исследование микроциркуляции в кожных покровах проводили на 2, 4, 7, 10, 15 сутки от начала введения стрептозотоцина с помощью лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛАКК-02 (НПП «Лазма», Россия). У всех животных за сутки перед началом исследования регистрировали данные исходных доплерограмм [3].

Крысам 1-й (опытной) группы (СТЦ+НИЛИ) вводили стрептозотин и ежедневно подвергали низкоинтенсивному лазерному воздействию с частотой следования импульсов 1500 Гц на предварительно эпилированную область пояснично-крестцового отдела позвоночника. Контролем служили животные 2-й группы (СТЦ), которым также вво-