

**ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА
НА ЭНДОТЕЛИЙЗАВИСИМЫЕ КОРОНАРОРАСШИРЯЮЩИЕ
ЭФФЕКТЫ АЦЕТИЛХОЛИНА И БРАДИКИНИНА
В ИЗОЛИРОВАННОМ СЕРДЦЕ МОРСКОЙ СВИНКИ**

*В.И. Козловский¹, В.В. Зинчук¹, С. Хлопицкий²
¹Гродно, УО «ГрГМУ»,
²Ягеллонский университет (Краков, Польша)*

Окислительный стресс, характеризующийся избыточной продукцией активных форм кислорода (АФК), играет важную роль в патогенезе различных сердечно-сосудистых заболеваний. Показано, что АФК, в частности, супероксид анион, инактивируют монооксид азота (NO), что ведёт к нарушению эндотелий-зависимой регуляции перфузии тканей [3]. В то же время недостаточно изучено влияние острых эпизодов окислительного стресса, которые могут иметь место, например, при ишемии-реперфузии, на эндотелий-зависимую вазодилатацию.

Цель исследования – изучение влияния острого окислительного стресса, вызванного взаимодействием ксантина и ксантиноксидазы (КО), на эндотелий-зависимую коронарную вазодилатацию в изолированном сердце морской свинки.

Материал и методы. Исследования выполнены на изолированном сердце морской свинки, перфузируемом ретроградно через аорту раствором Кребса-Хензелята под постоянным давлением 60 мм рт. ст. по методу Лангендорфа [4]. Для моделирования острого окислительного стресса была использована широко известная модель взаимодействия ксантина и КО, ре-

зультатом которого является генерация супероксид аниона [1]. С целью индуцирования ксантиноксидазного окислительного стресса осуществлялась инфузия КО (0,01 ЕД/мин, 30 мин) в сердце, перфузируемое раствором Кребса, содержащим ксантин ($5 \cdot 10^{-4}$ М). Эндотелий-зависимая коронарная вазодилатация оценивалась по коронарорасширяющим ответам на ацетилхолин и брадикинин. Указанные соединения, а также эндотелий-независимый вазодилататор S-нитрозопеницилламин (SNAP) вводились болюсно до и после инфузии ксантиноксидазы. Статистическая обработка полученных данных проведена непараметрическими методами с помощью компьютерной программы «Статистика 6». Данные представлены как медиана и интерквартильный размах (25 – 75 процентиля). При сравнении ответов на исследуемые соединения до и после применения фармакологических антагонистов использовался критерий Уилкоксона для связанных групп.

Результаты и их обсуждение. Ацетилхолин и брадикинин вызывали дозозависимый прирост коронарного потока в изолированном сердце морской свинки. После инфузии КО в раствор Кребса, содержащий ксантин, отмечено увеличение коронарной вазодилатации, индуцированной брадикинином, и, в то же время, уменьшение коронарорасширяющего ответа на ацетилхолин (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние инфузии КО (0,01 ЕД/мин, 30 мин) в перфузионный раствор Кребса, содержащий ксантин ($5 \cdot 10^{-4}$ М) на коронарорасширяющие эффекты брадикинина, ацетилхолина и SNAP в изолированном сердце морской свинки – Ме (25%;75%)

| Соединение | Доза (М) | Прирост коронарного потока (мл/мин) | |
|-------------|---------------------------|-------------------------------------|----------------------|
| | | до инфузии КО | после инфузии КО |
| брадикинин | $3 \cdot 10^{-13}$ (n=10) | 0,70 (0,62; 1,22) | 3,03 (1,97; 3,60)* |
| | 10^{-12} (n=9) | 2,93 (2,10; 4,45) | 8,46 (5,33; 10,26) * |
| | $3 \cdot 10^{-12}$ (n=6) | 7,00 (4,56; 9,54) | 9,76 (7,11; 12,96)* |
| ацетилхолин | 10^{-10} (n=8) | 5,28 (4,23; 5,71) | 4,05 (3,04; 5,24)* |
| | $3 \cdot 10^{-10}$ (n=9) | 8,41 (5,57; 11,07) | 5,19 (4,96; 7,36)* |
| SNAP | 10^{-10} (n=6) | 2,42 (2,06; 5,89) | 2,19 (1,98; 5,07) |

Примечание: * – статистически достоверное различие между группами ($p < 0,05$).

В условиях ингибирования NO-синтазы метиловым эфиром L-N^G-нитроаргинина (L-NAME, 10^{-4} М) и циклооксигеназы индометацином ($5 \cdot 10^{-6}$ М) также отмечалось потенцирование коронарной вазодилатации, вызванной брадикинином, причём степень потенцирования была выше в сравнении с экспериментами без ингибиторов (таблица 2). Это свидетельствует о том, что данный феномен обусловлен активацией NO- и простаглицлин-независимого компонента коронарорасширяющего ответа на брадикинин. Указанный компонент может быть обусловлен так называемым эндотелиальным гиперполяризующим фактором (EDHF), который отвечает за эндотелий-зависимую вазодилатацию в условиях ингибирования синтеза NO и простаглицлина [2].

Таблица 2 – Влияние инфузии КО в перфузионный раствор Кребса, содержащий ксантин, на коронарорасширяющие эффекты брадикинина и ацетилхолина в присутствии L-NAME и индометацина в изолированном сердце морской свинки – Ме (25%;75%)

| Соединение | Доза (М) | Прирост коронарного потока (мл/мин) | |
|----------------------|--------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| | | до инфузии ксантинооксидазы | после инфузии ксантинооксидазы |
| брадикинин (n=6) | $3 \cdot 10^{-13}$ | 0,22 (0,15;0,57) | 2,07 (1,09;3,73)* |
| | 10^{-12} | 1,56 (1,35;1,88) | 6,95 (5,24;8,66)* |
| | $3 \cdot 10^{-12}$ | 2,99 (1,97;3,73) | 9,80 (7,24;11,83)* |
| ацетилхолин (n=5) | 10^{-10} | 3,50 (3,36;3,72) | 4,12 (3,77;5,12) |
| | $3 \cdot 10^{-10}$ | 5,21 (4,25;5,36) | 8,90 (6,91;9,74)* |

Примечание: p – вероятность нулевой гипотезы при сравнении данных, полученных до и после инфузии КО (критерий Вилкоксона), * – статистически достоверное различие между группами (p<0,05).

Добавление в перфузионный раствор энзимов, инактивирующих АФК – супероксид дисмутазы (100 ЕД/мл) и каталазы (3000 ЕД/мл) – уменьшало степень потенцирования коронарорасширяющего ответа на брадикинин после инфузии КО. Это подтверждает роль АФК в механизме развития данного феномена.

Заключение. Таким образом, окислительный стресс, вызванный взаимодействием ксантина и ксантинооксидазы, потенцирует эндотелий-зависимую коронарную вазодилатацию, вызванную брадикинином. Данный феномен связан с активацией NO- и простаглицлин-независимого пути. Полученные данные свидетельствуют о том, что брадикинин может играть важную роль в регуляции коронарного кровообращения в условиях окислительного стресса.

Список литературы

1. Bullough, D.A. Acadesine prevents oxidant-induced damage in the isolated guinea pig heart / D.A. Bullough, S. Potter, M.H. Fox [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1993. – Vol. 266, №2. – P. 666–672.
2. Félétou, M. EDHF: an update / M. Feletou, P.M. Vanhoutte // Clin. Sci. (Lond.) – 2009. – Vol. 117, №4. – P. 139–155.
3. Gryglewski, R.J. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor / R.J. Gryglewski, R.M. Palmer, S. Moncada // Nature – 1986. – Vol. 320. – P. 454–456.
4. Kozlovski, V.I. Effects of two beta-3 agonists, CGP 12177A and BRL 37344, on coronary flow and contractility in isolated guinea pig heart / V. I. Kozlovski, S. Chlopicki, R. J. Gryglewski // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2003. – Vol. 41, №5. – P. 706–713.