

## Литература

1. Родионов, Ю.Я. К проблеме физиологической регуляции системы свёртывания крови / Ю.Я. Родионов // Здоровоохранение Белоруссии. –1975. – № 7. – С. 31–33.
2. Rodionov, Yu.Ya. The phenomenon of the electromechanical cardiac control of basic animal organism's activities / Yu.Ya. Rodionov, V.P. Chikov // XXVIII Int. Congr. of Physiological Sciences. Abstracts. Budapest. Hungary. – 1980. – July 13–19.
3. Родионов, Ю.Я. Роль простагландинов в регуляции артериального давления / Ю.Я. Родионов, В.Я. Родионов, Т.Н. Мацуганова // Кардиология. –1977. – № 10. – С. 89–92.
4. Соколова, Р.И. Две модели артериальной гипертензии у крыс, вызванной индометацином в хроническом опыте / Р.И. Соколова [и др.] // Кардиология. – 1977. – № 10. – С. 78–85.
5. Родионов, Ю.Я. Влияние эритроцитарного гемолизата, тромбопластина и фосфатидилэтаноламина на кинетику ренин-ангиотензиногеновой реакции / Ю.Я. Родионов, В.Я. Родионов // VII Всесоюзная конференция по физиологии почек и водно-солевого обмена. – Чернигов. – 1985. – С. 189–190.
6. Шебеко, В.И. L-аргинин и дисфункция эндотелия при атеросклерозе / В.И. Шебеко, Ю.Я. Родионов // Медицинские новости. – 1999. – № 6. – С. 14–17.
7. Родионов, Ю.Я. Патологические аспекты прессорно-депрессорной (эндокринной) функции почек: дис. докт. мед. наук / Ю.Я. Родионов. – Витебск, 1979.
8. Moncada, S. Arachidonate metabolism in blood cells and the vessel wall / S. Moncada, E.A. Higgs // Clin. Haematol. – 1986. – V.15, № 2. – P. 273–292.
9. Brändle, M. Prolongation of life span in hypertensive rats by dietary interventions. Effects of garlic and linseed oil / Brändle M., Al Makedessi, Weber R.K., Dietz K., Jacob R. // Basic Res. Cardiol. – 1997. – V. 92. – P. 223–232.

## РОЛЬ АКТИВИРУЕМЫХ КАЛЬЦИЕМ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ В АЦЕТИЛХОЛИНЗАВИСИМОЙ NO-ОПОСРЕДУЕМОЙ ДИЛАТАЦИИ ИЗОЛИРОВАННОГО КОЛЬЦА АОРТЫ

*Скринауэ С.С.*

*Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
г. Витебск*

*Посвящается памяти моего учителя,  
профессора Солодкова Александра Петровича*

*Учитель мой, моих друзей. Спасибо Вам!  
И верьте – Вы живы в памяти моей,  
Вы навсегда остались в ней...*

**Введение.** Регуляция сократительной активности гладкомышечных клеток кровеносных сосудов в системном кровообращении зависит от комплексного взаимодействия вазоконстрикторных и вазодилататорных стимулов из циркулирующих в кровяном русле гормонов, нейромедиаторов, эндотелиального фактора гиперполяризации, а так же кровяного давления [2]. Все эти сигналы обрабатываются сосудистыми гладкомышеч-

ными клетками, определяя активность их сократительного аппарата, а, следовательно, диаметр и гидравлическое сопротивление кровеносных сосудов. Ионные каналы играют важную роль в этом процессе. Подобно всем гладкомышечным клеткам, сосудистая гладкомышечная клетка в качестве пускового механизма для сокращения использует ионы кальция. В регуляции миогенного тонуса сосудов важную роль играют активируемые кальцием калиевые каналы (ВКСа-каналы), расположенные в гладкомышечных клетках артериальных сосудов. [2,4]. Открытие ВКСа-каналов, расположенных в сарколемме гладкого миоцита [4], связано с увеличением внутриклеточной концентрации ионов кальция, приводит к выходу ионов калия из клетки и развитию гиперполяризации мембраны [4]. В свою очередь, гиперполяризация сарколеммы сопровождается закрытием потенциалзависимых, а также чувствительных к растяжению кальциевых каналов и расширению сосуда. Кроме того, эти каналы могут быть активизированы сосудорасширяющими средствами, действуя через цГМФ и цАМФ каскады эпоксидов арахидоновой кислоты [3]. Сосудорасширяющие средства и вазоконстрикторы могут влиять на частоту и амплитуду  $Ca^{2+}$  залпов и таким образом влиять на активность ВКСа канала [1,4,5,6]. При сахарном диабете, а также при стрессе одной из основных причин нарушения сосудистого тонуса является дисфункция эндотелия. В результате этого происходит снижение функциональной активности эндотелиальных факторов гиперполяризации, механизм действия которых [4,5] связан с активацией ВКСа-каналов, а при длительном стрессорном воздействии наблюдается гиперпродукция эндотелиального монооксида азота, сопровождающаяся развитием сосудистой гипотонии. [4].

**Цель исследования.** Выяснить вклад активируемых кальцием калиевых каналов в ацетилхолинзависимой дилатации изолированного кольца аорты в условиях интактной системы синтеза монооксида азота и после блокады эндотелиального монооксида азота L-NAME.

**Материалы и методы.** Опыты проводили на 60 препаратах изолированного кольца аорты крыс линии Вистар. Эксперименты на животных проводились в соответствии с требованиями Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990). Каждому животному внутрибрюшинно вводили гепарин (500 ед/кг) и затем под уретановым наркозом (1г/100г веса тела) вскрывали грудную клетку, удаляли сердце, легкие, отпрепаровывали грудную аорту, иссекали ее фрагмент длиной 5-10 мм и помещали его в охлажденный до 4°C раствор Кребса-Хензелейта. В охлажденном растворе фрагмент аорты тщательно очищали от жировой и соединительной ткани и лезвием вырезали кольцевой сегмент шириной 3 мм. Один конец кольцевого сегмента аорты жестко фиксировали, а другой прикрепляли к рычажку датчика силы F30 Type372 (Hugo Sachs Elektronik, Германия). Приготовленный таким образом кольцевой сегмент аорты помещали в термостатируемую ванночку,

заполненную раствором Кребса-Хензелята следующего состава (мМ/л): NaCl – 118; KCl – 4,8; MgSO<sub>4</sub> 1,18; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> -1,2; CaCl<sub>2</sub> – 2,5; NaHCO<sub>3</sub> – 25,0; глюкоза - 11; рН-7,4 при температуре 37°С. Раствор насыщали карбогеном (95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>). Регистрацию напряжения препарата, сокращающегося в изометрическом режиме, осуществляли при помощи модульного усилителя HSE. Данные заносили в компьютер, где обрабатывались при помощи программы HSE ACAD (Германия). В течение периода стабилизации, который составлял 2 часа, каждые 15 минут обновляли, омывающий препарат аорты, раствор Кребса-Хензелята. Состояние стимулируемой продукции монооксида азота эндотелием изолированного кольца аорты оценивали по величине реакции расслабления в ответ на кумулятивное введение в питательную жидкость ацетилхолина (от 10<sup>-11</sup> до 10<sup>-4</sup> М, Sigma, USA) на фоне предварительного сокращения, вызванного стандартной дозой фенилэфрина (10<sup>-6</sup> М, Sigma, USA). Результат выражали как процент расслабления от величины сокращения, полученной после введения фенилэфрина.

Для выяснения роли ВКСа-каналов использовали блокатор данных каналов тетраэтиламмоний в концентрации 1мМ (Sigma, USA).

Для выяснения роли монооксида азота в эндотелийзависимом расслаблении кольца аорты использовали неселективный блокатор NO-синтазы метиловый эфир N-ω-нитро-L-аргинин (L-NAME, 1×10<sup>-4</sup>М, Sigma, USA).

Для сравнения двух количественных признаков применялся t-критерий Стьюдента, а также использовали программное обеспечение GraphPad Prism (San Diego, California, USA). Результаты эксперимента выражали как среднее арифметическое плюс – минус ошибка средней величины  $x \pm Sx$ . Различия принимали достоверными при значении вероятности ошибки  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** Исходное напряжение изолированных колец аорты во всех исследуемых группах составляло от 1925±81 до 2061±31 мг. Под влиянием фенилэфрина (10<sup>-6</sup>М) прирост напряжения сегмента аорты в контроле составлял 1500±115 мг, что не отличалось от значений в исследуемых группах. Таким образом, исходные условия для действия ацетилхолина были одинаковыми.

Добавление в ванночку ацетилхолина (10<sup>-11</sup> – 10<sup>-4</sup>М) приводило к дозозависимому расслаблению кольца аорты, предварительно сокращенного фенилэфрином. В контрольных изолированных кольцах аорты максимальная дилатация возникала при концентрации ацетилхолина в ванночке 10<sup>-5</sup>М и составляла 60% от предварительного сокращения фенилэфрином. Блокада синтеза монооксида азота L-NAME приводила к незначительному расслаблению кольца аорты, вызываемому ацетилхолином, что составляло 10% от прироста его напряжения, вызванного фенилэфрином. При этом чувствительность гладкомышечных клеток артериальных сосудов к ацетилхолину снижалась EC<sub>50</sub> – 2,65×10<sup>-6</sup> ( $p < 0,05$ , по сравнению с контролем (EC<sub>50</sub> – 1,44×10<sup>-7</sup>М)).

После блокады ВКСа-каналов тетраэтиламмонием вызываемая ацетилхолином релаксация изолированного кольца аорты была меньше, чем в контроле и составляла 31% от предварительного предсокращения при концентрации ацетилхолина  $5 \times 10^{-5}$  М ( $p < 0,05$ ), что было в значительной степени меньше, чем в контрольной группе животных. Концентрация ацетилхолина, вызывающая полумаксимальный ответ аорты не изменялась. Так,  $EC_{50}$  в контроле равнялась  $1,44 \times 10^{-7}$  М, после блокады ВКСа-каналов тетраэтиламмонием  $EC_{50}$  составила  $1,20 \times 10^{-7}$ – $1,2 \times 10^{-7}$  М.

При блокаде синтеза монооксида азота и ВКСа-каналов дилатация кольца аорты достигала максимума при концентрации ацетилхолина в ванночке  $10^{-4}$  М и составила 15%, как при блокаде NO без тетраэтиламмония. После блокады ВКСа-каналов на фоне L-NAME  $EC_{50}$  снизилась и составляла  $1,99 \times 10^{-8}$  М, что свидетельствует о повышении чувствительности эндотелия к ацетилхолину.

Таким образом, блокада ВКСа-каналов тетраэтиламмонием приводила к уменьшению ацетилхолинзависимой NO-опосредуемой вазодилатации изолированного кольца аорты, а блокада монооксида азота как с интактными каналами, так и на фоне тетраэтиламмония практически полностью устраняет ацетилхолинзависимую вазодилатацию изолированного кольца аорты. Следовательно, в ацетилхолинзависимой вазодилатации участвуют активируемые кальцием калиевые каналы и их активность находится под контролем эндотелиального монооксида азота.

#### **Выводы.**

1. Активируемые кальцием калиевые каналы участвуют в ацетилхолинзависимой NO-опосредуемой дилатации изолированного кольца аорты.

2. Активность ВКСа-каналов находится под контролем эндотелиального монооксида азота.

#### **Литература**

1. Векшина, О.М. Влияние градиента  $Ca^{2+}$  на структуру мембран саркоплазматического ретикулума / О.М. Векшина, Ю.А. Ким, Н.Л. Векшин // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2007. – Т. 144, № 11. – С. 517–521.
2. Власов, Т.Д. Механизмы регуляции сосудистого тонуса / Т.Д. Власов // Региональное кровообращение и микроциркуляция. – 2002. – № 3. – С. 68–77.
3. A molecular switch for specific stimulation of the  $BCa$  channel by cGMP and cAMP kinase / X.-B. Zhou [et al.] // J. Biol. Chem. – 2001. – Vol. 276. – P. 43239–43245.
4. Nelson, M.T. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle / M. T. Nelson, J. M. Quayle // Am. J. Physiol. – 1995. – Vol. 268. – P. 799, 822
5. Nilius, B Ion channels and their functional role in vascular endothelium / B. Nilius, G. Droogmans // Physiol. Rev. – 2001. – Vol. 81. – P. 1415–1459.
6. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular / V.M. Bolutina [et al.] // Nature. – 1994. – Vol. 368. – P. 850–853.