

Полученные данные согласуются с результатами, опубликованными ранее в работе [4], где экспериментальная ишемия тканей почки не оказала выраженного влияния на внутренностные нервы, в отличие от воздействия, обусловленного нарушением кровотока в грудной аорте.

Литература

1. Солтанов, В.В. Механизмы саморегуляции вегетативных функций в норме и патологии / В.В. Солтанов – Мн.: Наука и техника. – 1994. – 335 с.
2. Солтанов, В.В. Активация афферентных волокон тощей кишки монооксидом азота при ее ишемии / В.В. Солтанов, А.Г. Чумак // Роль монооксида азота в процессах жизнедеятельности: сб. ст. – Мн.: Полибиг. – 1998. – С. 78–81.
3. Солтанов, В.В. Компьютерные программы обработки электрофизиологических данных / В.В. Солтанов, В.Е. Бурко // Новости мед.-биол. наук. 2005. – № 1. – С. 90-96.
4. Ясюченя, Р.Н. Модификация активности симпатических эфферентных волокон при окклюзии почечной артерии и циркуляторной гипоксии спинного мозга / Р.Н. Ясюченя, А.Г.Чумак // Новости медико-биологических наук. – 2013. – Т. 8, № 4. – С. 106–112.
5. Denson, G. Fujikawa. Acute Neuronal Injury. The Role of Excitotoxic Programmed Cell Death Mechanisms / G. Denson. – Springer New York Dordrecht Heidelberg London. – 2010.

ОГРАНИЧЕНИЕ ИНДУКЦИИ iNOS КАК ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ВАЗОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА АДАПТАЦИИ К ПЕРИОДИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ ПРИ ИШЕМИИ И РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА

*Манухина Е.Б., * **** Горячева А.В., * Белкина Л.М., * Терехина О.Л., * Машина С.Ю., *
Абрамочкин Д.В., ** Буданова О.П., *** Маллет Р.Т., **** Дауни Г.Ф. *****

** НИИ общей патологии и патофизиологии, г. Москва*

*** МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва*

**** Московский государственный медико-стоматологический университет, г. Москва*

***** Центр медицинских наук Университета Северного Техаса, Форт-Уэрт, США*

Введение. Известно, что адаптация к периодической нормобарической гипоксии (АГ) обладает вазопротекторным эффектом, который проявляется, в частности, в предупреждении дисфункции эндотелия. Этот защитный эффект АГ был продемонстрирован для аорты крыс со спонтанной гипертензией, сосудов мозга у крыс с экспериментальной болезнью Альцгеймера, коронарных сосудов крыс при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда [1]. Однако данные о роли NO в предупреждении ишемических и реперфузионных (ИР) повреждений миокарда при предварительной адаптации к периодической гипоксии неоднозначны. В некоторых работах показано, что ингибирование синтеза NO препятствует формированию адаптационной защиты против ИР повреждения миокарда

[2]. С другой стороны, имеются данные о том, что ИР повреждение связано с гиперпродукцией NO, и АГ предупреждает увеличение уровня в плазме нитритов и нитратов во время реперфузии [3]. В пользу этого предположения свидетельствуют и данные о том, что ингибиторы NOS могут оказывать благоприятное действие при ИР повреждении [4].

В связи с этим цель настоящей работы состояла в оценке экспрессии разных изоформ NOS при АГ и выяснении возможности воспроизведения вазопротекторного эффекта АГ при ИР миокарда с помощью селективных ингибиторов NOS.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводились на крысах-самцах линии Вистар массой 250-280 г.

АГ гипоксической камере циклами. Каждый цикл состоял во вдыхании гипоксической газовой смеси (9,5-10% O₂) в течение 5-10 минут, чередующимся с дыханием атмосферным воздухом в течение 4 минут. Каждый сеанс АГ состоял из 5-8 циклов ежедневно. Полный курс АГ длился 21 день.

На следующий день после завершения курса АГ у крыс вызывали локальную ишемию миокарда *in situ* путем перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии на 30 минут с последующей реперфузией в течение 60 минут. Во время ИР проводилась непрерывная регистрация ЭКГ в I отведении.

Оценка эндотелийзависимой дилатации коронарных сосудов проводилась на изолированном сердце, перфузируемом по Лангендорфу, по изменению величины коронарного потока в ответ на введение ацетилхолина (10⁻⁷М). Экспрессию белка изоформ NO-синтазы (NOS) определяли в миокарде левого желудочка с помощью Вестерн-блот анализа с соответствующими антителами.

Исходя из полученных результатов по экспрессии изоформ NOS, было изучено влияние селективного ингибитора iNOS аминугуанидина (АМГ) на вызванную ИР дисфункцию эндотелия коронарных сосудов. АМГ вводили в дозе 50 мг/кг, в/б в течение 2 дней до эксперимента.

Статистическая обработка проводилась с помощью t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна-Уитни. Данные усреднялись по группам и приводились как M±SEM. Различия считались достоверными при p<0,05.

Результаты и обсуждение. АГ приводила к уменьшению экспрессии iNOS на 71% (p<0.05), а eNOS – на 41% по сравнению с контролем (p<0.05). Содержание в миокарде nNOS после АГ не изменилось. Полученные данные позволяют предположить, что АГ предупреждает повреждение миокарда и сосудов при ИР за счет ограничения экспрессии белка iNOS и eNOS.

ИР вызывала значительную дисфункцию эндотелия коронарных сосудов (Рис. 1). После АГ эндотелийзависимая вазодилатация достоверно не отличалась от контроля. Введение крысам АМГ предупреждало дисфункцию эндотелия коронарных сосудов аналогично АГ, и угнетение эндотелийзависи-

мого расширения коронарных артерий после введения АМГ, как и после АГ, было недостоверным. Полученный результат подтверждает предположение об участии iNOS в ИП повреждении, а также о том, что одним из вазопротекторных механизмов АГ является ограничение экспрессии iNOS при ИП.

Несмотря на то, что периодическая гипоксия способна сама по себе стимулировать синтез NO [1], АГ предупреждает гиперпродукцию NO при ИП миокарда и ограничивает сопутствующий нитративный стресс в миокарде и сосудах [5]. В настоящей работе мы показали, что АГ предупреждает экспрессию iNOS и eNOS при ИП. Поскольку избирательное ингибирование iNOS оказывало вазопротекторное действие, аналогичное действию АГ, можно предположить, что ограничение экспрессии iNOS, по крайней мере, частично, обеспечивает вазопротекторный эффект АГ. Одним из возможных механизмов предупреждения гиперэкспрессии iNOS состоит в том, что NO, синтезированный во время АГ, за счет механизма отрицательной обратной связи, ограничивает экспрессию гена iNOS путем предупреждения активации фактора транскрипции iNOS – NF- κ B [6].

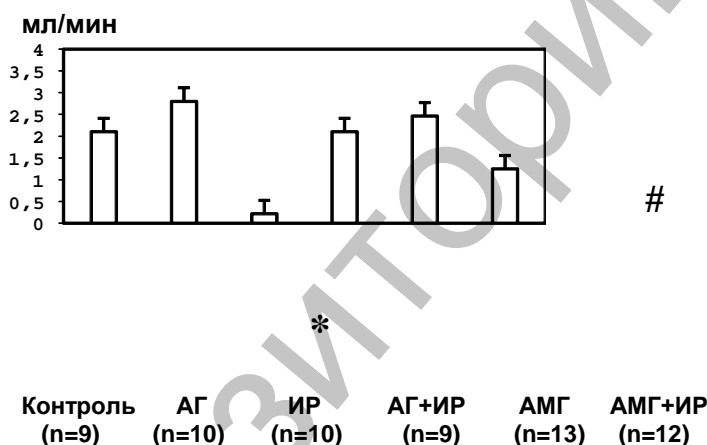


Рисунок 1. Влияние АМГ на нарушение эндотелийзависимой дилатации коронарных сосудов при ИП миокарда. Диаграммы показывают величину прироста коронарного протока в ответ на ацетилхолин в мл/мин. * $p < 0.05$ по сравнению с контролем; # $p < 0.05$ по сравнению с ИП.

Литература

1. Manukhina, E.B. Role of nitric oxide in cardiovascular adaptation to intermittent hypoxia / Manukhina E.B., Downey H.F., Mallet R.T. //Exp. Biol. Med. – 2006. – V. 231. – P. 343–365.
2. Ding, H.L. Inducible nitric oxide synthase contributes to intermittent hypoxia against ischemia/reperfusion injury / Ding H.L., Zhu H.F., Dong J.W., Zhu W.Z., Yang W.W., Yang H.T., Zhou Z.H. // Acta Pharmacol. Sin. – 2005. – V. 26. – P. 315–322.
3. Ryou, M.-G. Hypoxic conditioning suppresses nitric oxide production upon myocardial reperfusion / Ryou M.-G [et al.] //Exp. Biol. Med. – 2008. – V. 233. – P. 766–774.

4. Davani, S. Delayed 24 hours Nomega-nitro-L-arginine methyl ester injection induces pharmacological cardioprotection against reperfusion injury / S. Davani [et al.] // Cell Mol Biol. – 2007. – V. 52 (Suppl). – OL868-OL873.
5. Горячева, А.В. Роль предупреждения гиперпродукции оксида азота в кардиопротекторном эффекте адаптации к периодической гипоксии / А.В. Горячева [и др.] // Патол. физиол. эксперим. Терапия – 2012. – № 1. – С. 23–28.
6. Chang, K. Nitric oxide suppresses inducible nitric oxide synthase expression by inhibiting post-translational modification of I-kappa-B. / K. Chang [et al.] // Exp Mol Med. – 2004. – 36 – P. 311–324.

ВЛИЯНИЕ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОХОМА P450 И УРОВЕНЬ СУР3А-ЗАВИСИМОГО МОНООКСИГЕНИРОВАНИЯ У БЫСТРЫХ И МЕДЛЕННЫХ МЕТАБОЛИЗЕРОВ

Цейликман В.Э., Козочкин Д.А., Цейликман О.Б.

Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск

Южно-Уральский государственный университет, г. Челябинск

Известно, что определенные изоформы цитохрома P450 вовлечены в терминальную биотрансформацию глюкокортикоидов[2]. Поэтому их участие в метаболической регуляции стресса представляется вполне вероятным. Имеются данные о сопряженности между собой содержания кортикостерона и активностей изоформ семейства СУР 3А, осуществляющих реакции 6 бета гидроксирования глюкокортикоидов [3]. В связи с этим, представляется важным изучение соотношения между исходным уровнем микросомального окисления и стрессорными изменениями содержания цитохрома P450 и СУР 3А- зависимого монооксигенирования в зависимости от длительности стресса. Изучением этого вопроса являлось целью настоящего исследования.

Методика. Исследование выполнено на 38 крысах линии Sprague-Dowley. Гипокинетический стресс моделировали путем помещения животных в клетки-пеналы из органического стекла сроком 1 день и 3 дня. Изучали непосредственное и отсроченное действие стресса на исследованные показатели. Состояние микросомального окисления оценивали по «времени гексеналового сна», с помощью теста «гексеналовый сон». Гексенал вводили внутривентриально в виде 5% водного раствора из расчета 60 мг на 1 кг массы. Длительность сна оценивали по времени нахождения животных в боковом положении. Окончанием сна считали момент восстановления рефлекса переворачивания. Это позволило, по скорости метаболизма гексенала, разделить особей на фенотипические группы по каталитической активности изоформ цитохрома P-450 зависимых монооксигеназ. Активность изоформ СУР3А определяли по реакции диметилирования эритромицина[2]. Содержание кортикостерона определяли спектрофлуориметри-