

Литература

1. Hypertension, the Kuna, and the epidemiology of flavanols / M.L. McCullough [et al.] // J. Cardiovasc // Pharmacol. – 2006. – Vol. 47. – P. S103–S109.
2. Impact of cocoa flavanol consumption on blood pressure responsiveness to exercise / N.M. Berry [et al.] // Br. J. Nutr. – 2010. – Vol. 103, № 10. – P. 1480–1484.
3. Westphal, S. Flavanol-rich cocoa ameliorates lipemia-induced endothelial dysfunction / S. Westphal, C. Luley // Heart vessels. – 2011. – Vol. 26, № 5. – P. 511–515.
4. Cardiovascular effects of flavanol-rich chocolate in patients with heart failure / A.J. Flammer [et al.] // Eur. Heart J. – 2012. – Vol. 33, № 17. – P. 2172–2180.
5. Dose-dependent increases in flow-mediated dilation following acute cocoa ingestion in healthy older adults / K.D. Monahan, [et al.] // J. Appl. Physiol. – 2011. – Vol. 111, № 6. – P. 1568–1574.
6. NOX2-mediated arterial dysfunction in smokers: acute effect of dark chocolate / L. Lofredo [et al.] // Heart. – 2011. – Vol. 97, № 21. – P. 1776–1781.
7. Blood pressure is reduced and insulin sensitivity increased in glucose-intolerant, hypertensive subjects after 15 days of consuming high-polyphenol dark chocolate / D. Grassi [et al.] // J. of Nutrition. – 2008. – Vol. 138, № 9. – P. 1671–1676.
8. Effects of low habitual cocoa intake on blood pressure and bioactive nitric oxide: a randomized controlled trial / D. Taubert [et al.] // JAMA. – 2007. – Vol. 298, № 1. – P. 49–60.
9. Effect of cocoa powder on the modulation of inflammatory biomarkers in patients at high risk of cardiovascular disease / M. Monagas [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2009. – Vol. 90, № 5. – P. 1144–1150.
10. Dietary flavanol intervention lowers the levels of endothelial microparticles in coronary artery disease patients / P. Horn [et al.] // Br. J. Nutr. – 2013. – Vol. 29. – P. 1–8.

ВЛИЯНИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ NO-СИНТАЗЫ (iNOS) НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ К_{АТФ}- КАНАЛОВ КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ У КРЫС ПОСЛЕ ИММОБИЛИЗАЦИИ

Лазуко С.С.

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

*Посвящается памяти моего мужа и учителя
профессора Александра Петровича Солодкова*

Свое наследие или своя научная школа будет тебя помнить только в одном случае, если при жизни будешь еще и еще раз воспроизводить свои работы в различной форме. Тогда когда тебя не будет, а этот стиль останется стилем творческой жизни твоих учеников, тогда они бессознательно будут воспроизводить твой стиль мышления еще и еще раз. Может кому-то придет в голову, что они работают в стиле своего учителя.

Из дневника профессора А.П. Солодкова

Одним из механизмов нарушения тонуса артериальных сосудов при стрессе является дисфункция эндотелиоцитов, характеризующаяся гипер-

продукцией монооксида азота (NO), активных форм кислорода (АФК), в частности супероксид-анионов, и других вазоактивных веществ. При воздействии многочисленных вазоактивных эндотелиальных факторов релаксации (ионов K^+ , продуктов P450 монооксигеназного пути, пероксида водорода и др.) важное значение имеет гиперполяризация, развивающаяся в результате активации калиевых каналов, находящихся в мембране гладкомышечных клеток. Потенциальными кандидатами на участие в формировании ответа гладкомышечных клеток стенки коронарных сосудов при различных воздействиях являются уникальные, чувствительные к изменению метаболизма и широко представленные в разнообразных тканях АТФ-чувствительные калиевые каналы (K_{ATP} -каналы) [5]. K_{ATP} -каналы не только способны отвечать на изменения внутриклеточного метаболизма, но и также могут активироваться при воздействии на них различных эндогенных медиаторов, таких как простагландины, агонисты бета-адренорецепторов, аденозин [6]. Активность K_{ATP} -каналов взаимосвязана с высвобождением монооксида азота [2].

Синтез NO в организме осуществляется посредством трех изоформ NO-синтазы: эндотелиальной, нейрональной и индуцированной. Выделяют Ca^{2+} -зависимые изоформы NO-синтазы: нейрональную и эндотелиальную [3].

Активность индуцированной NO-синтазы не зависит от наличия ионов кальция. Считается, что iNOS синтезируется при патологических состояниях. В этом случае NO продуцируется в количествах, тысячекратно превышающих нормальную продукцию в течение длительного промежутка времени [4].

Однако, мало данных о моделирующем эффекте монооксида азота, синтезируемого iNOS, на функциональную активность АТФ-чувствительных калиевых каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов при иммобилизационном стрессе.

Цель работы: изучить влияние NO, продуцируемого индуцированной NO-синтазой при стрессе, на функциональную активность K_{ATP} -калиевых каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов и системное артериальное давление у крыс.

Материал и методы. Тонус коронарных сосудов и сократительную функцию миокарда изучали на препаратах изолированного по Лангендорфу сердцах крыс-самок, в полость левого желудочка которых вводили латексный баллончик. Животные были подразделены на группы: 1-ая - контрольная (n=22); 2-ая - группа животных перенесшие 6-ти часовой иммобилизационный стресс (n=20).

Сердца перфузировали в условиях постоянного потока, на уровне объемной скорости коронарного потока (ОСКП) 10 мл/мин. Сердца сокращались в постоянном ритме с частотой 240 в минуту при подаче импульсов от электростимулятора С тип - 224 (HSE-НА, ФРГ).

Для изучения роли монооксида азота в регуляции тонуса коронарных сосудов в перфузионный раствор добавляли высокоселективный блокатор iNOS S-метилизотиомочевину (S-MT, 10^{-6} М, Sigma, USA). Для изучения роли K_{ATP} -каналов в регуляции тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда в перфузионный раствор добавляли блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид в концентрации 10 мкм/л. Вклад K_{ATP} -каналов в регуляцию тонуса сосудов сердца, определяли по величине вазоконстрикторного эффекта глибенкламида, выраженного в % от исходного перфузионного давления.

Иммобилизационный стресс воспроизводили путем фиксации животных на спине в течение 6-ти часов. Затем выпускали в клетку и через 90 минут брали в эксперимент.

Измерение артериального давления (АД) производили неинвазивным методом при помощи прибора фирмы «Panlab».

NO-синтазную активность определяли в сыворотке крови спектрофотометрически при длине волны 340 нм, по изменению уровня NADPH в среде. Активность NO-синтаз выражали в нмоль/г белка в минуту.

Определение стабильных продуктов деградации монооксида азота проводилось в плазме крови крыс, с помощью реакции Грисса [1].

Результаты и их обсуждение. В сердцах контрольных животных коронарное перфузионное давление, определяемое при ОСКП 10 мл/мин составляло 78 мм рт. ст., развиваемое внутрижелудочковое давление – 76 мм рт.ст.. В сердцах животных перенесших стресс, коронарное перфузионное давление было меньше, чем в контроле на 23% ($p < 0,05$, по сравнению с группой контроль). Снижение сопротивления сосудов сердца в группе животных, перенесших стресс, сопровождалось снижением и развиваемого внутрижелудочкового давления также на 23% ($p < 0,05$). Данный факт свидетельствует о постстрессорном снижении тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда.

Добавление в перфузионный раствор высокоселективного блокатора S-MT не оказывало влияния на изменение коронарного перфузионного давления и сократительную функцию миокарда контрольной группы животных. Блокада индуцированной NO-синтазы в группе животных, перенесших стресс, приводила к восстановлению коронарного перфузионного и развиваемого внутрижелудочкового давления до контрольных значений. Таким образом, NO, образующийся индуцированной NO-синтазой при стрессе, имеет важное значение в возникновении гипотонии коронарных сосудов и снижении сократительной функции миокарда.

В изолированных сердцах контрольных крыс, перфузируемых раствором Кребса-Хензelayта, содержащим глибенкламид, наблюдалось увеличение коронарного перфузионного давления на 92% ($p < 0,05$, по сравнению с группой контроль, не содержащей глибенкламид), и снижение развиваемого внутрижелудочкового давления на 28% ($p < 0,05$).

Введение в коронарное русло изолированного сердца крыс, перенесших 6-часовую иммобилизацию, глибенкламида сопровождалось увеличением коронарного перфузионного давления на 75%, что было на 17% меньше чем в контроле ($p < 0,05$). А также снижением развиваемого внутрижелудочкового давления на 21% ($p < 0,05$). Следовательно, стресс снижал эффективность действия глибенкламида в отношении величины коронарного перфузионного давления и сократительной функции миокарда, что может быть обусловлено снижением функциональной активности $K_{ATФ}$ -каналов, как гладкомышечных, так и эндотелиальных клеток.

Блокада синтеза монооксида азота S-MT, в контрольной группе животных не оказывала влияния на эффективность действия глибенкламида на коронарные сосуды. Это может свидетельствовать о том, что в условиях блокады индуцированного синтеза монооксида азота функциональная активность $K_{ATФ}$ -каналов не изменяется и, вероятно, находится под контролем монооксида азота, который синтезируется эндотелиальной NO-синтазой.

В изолированных сердцах крыс, перенесших 6-ти часовой иммобилизационный стресс, перфузируемых раствором Кребса-Хензелята, на фоне блокады синтеза монооксида азота (S-MT) интракоронарное введение глибенкламида при ОСКП 10 мл/мин, увеличивало коронарное перфузионное давление на 88% и снижало развиваемое внутрижелудочковое давление на 32%. Таким образом, блокада синтеза монооксида азота, продуцируемого iNOS, способствовала стабилизации функциональной активности $K_{ATФ}$ -каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов, после перенесенного стресса.

Снижение среднего артериального давления в группе животных, перенесших стресс, на 15%, ($p < 0,05$, по сравнению с контролем) может свидетельствовать о стресс-индуцированном снижении артериального давления, обусловленного гиперпродукцией монооксида азота, синтезируемого iNOS.

Результаты, полученные при исследовании активности NOS в сывотки крови крыс показали, что в группе животных перенесших стресс, активность индуцированной NO-синтазы увеличивалась в 9 раз, а эндотелиальной снижалась на 58 %, по сравнению с контрольными показателями. Содержание NO^2^-/NO^3^- в плазме крови контрольных крыс составило $29,2 \pm 1,4$ мкМ, а в группе животных, перенесших стресс, наблюдалось достоверное увеличение данных показателей ($37,3 \pm 1,2$ мкМ, $p < 0,05$, по сравнению с контролем), на фоне увеличения продуктов перекисного окисления липидов и подавления антиоксидантной активности.

На основании представленных данных можно заключить, что увеличение NO, синтезируемого iNOS, приводит к постстрессорной гипотонии коронарных сосудов изолированного сердца, а также может быть причиной снижения системного артериального давления. Иммобилизация крыс существенно подавляет активность $K_{ATФ}$ -каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов и создает выраженную зависимость их активности от iNOS.

Литература

1. Веремей, И.С. Восстановление NO₂/NO₃ цинковой пылью в присутствии аммиачного комплекса сульфата меди / И.С. Веремей, А.П. Солодков // Сборник научных трудов. – Витебск, 1999. – С. 274–277.
2. Солодков, А.П. К механизму развития изменений ауторегуляции коронарного кровотока у крыс с различной чувствительностью к стрессу / А.П. Солодков, И.Ю. Щербинин // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2002. – Т. 88., № 2. – С. 166–175.
3. Cannon, R.O. Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on the endothelium / R.O. Cannon // Clin. Chem. – 1998. – Vol. 44. – P. 1809–1819.
4. Forstermann, Li H. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease / Li H. Forstermann // J. Pathol. – 2000. – Vol. 90. – P. 244–254.
5. Noma, A. ATP-regulated K₊ channels in cardiac muscle / Noma A. // Nature. – 1983. – Vol. 305. – P. 147–148
6. Randall, M.D. The involvement of ATP-sensitive potassium channels in β -adrenoceptor-mediated vasorelaxation in the isolated rat mesenteric arterial bed / M.D. Randall, A.I. McCulloch // Br.J. Pharmacol. – 1995. – Vol. 115. – P. 607–612.