

П.І. Янчук, О.О. Виноградова, О.М. Пасічніченко, С.С. Костенко

Участь ейкозаноїдів у механізмі скоротливих реакцій ворітної вени на дію адреналіну і норадреналіну

Вивчали вплив індометацину ($7 \cdot 10^{-8}$ моль/л) на тонічну активність ізольованих сегментів ворітної вени (ВВ) щурів, індуковану адреналіном (10^{-5} моль/л) і норадреналіном ($5 \cdot 10^{-6}$ моль/л). Індометацин пригнічує норадреналініндуковані тонічні скорочення ВВ з інтактним ендотелієм і не впливає на скорочення деендотелізованої судини, що свідчить про участь у цих реакціях ейкозаноїдів ендотеліального походження. Пригнічення індометацином адреналініндукованих скоротливих реакцій ВВ як з наявним ендотелієм, так і без нього вказує на залучення до реакцій ейкозаноїдів, синтезованих, можливо, гладеньком'язовими клітинами судини.

Ключові слова: адреналін, норадреналін, ворітна вена, ендотелій, ейкозаноїди.

ВСТУП

Загальний та регіонарний периферичний опір, а також ємність судинної системи регулюються симпатичною нервовою системою, яка впливає на судини головним чином за рахунок вивільнення катехоламінів з симпатичних нервових закінчень і мозкової речовини надниркових залоз. Норадреналін та адреналін є потужними вазоактивними гуморальними факторами, дія яких проявляється через активацію α - та β -адренорецепторів. Але норадреналін, на відміну від адреналіну, мало впливає на β_2 -адренорецептори кровоносних судин і тому його основним ефектом є виражена короточасна гіпертензивна дія, яка пов'язана з активацією α -адренорецепторів судин і підвищенням периферичного судинного опору [1]. Окрім загальноновизнаної прямої дії норадреналіну безпосередньо на гладеньком'язові клітини (ГМК) судин відомо також про його ендотеліязалежну дію [2]. Зменшення констрикторних відповідей на дію норадреналіну після попередньої перфузії ізольованих препаратів базилярної артерії собак індометацином, автори пов'язують з

виділенням ендотелієм вазоконстрикторних факторів циклооксигеназного шляху утворення [3, 4]. У працях, присвячених дослідженню механізмів регуляції тонуусу ворітної вени (ВВ) катехоламінами, відсутні відомості щодо ролі в них ендотелію та ейкозаноїдів. Метою нашого дослідження було з'ясувати участь ейкозаноїдів у механізмах констрикторних реакцій ВВ, зумовлених дією адреналіну і норадреналіну, та можливі відмінності у цих механізмах, пов'язаних з різною чутливістю адренорецепторів до різних катехоламінів.

МЕТОДИКА

Експерименти проведені на 40 білих лабораторних щурах масою 200-300 г. У тварин після етаназії за допомогою глибокої наркотизації хлороформом здійснювали лапаротомію. Ретельно відпрепарувували ВВ від сполучних тканин і периваскулярних сплетінь, видаляли її фрагмент з організму і поміщали у розчин Тірде такого складу: NaCl – 8 г/л; KCl – 110 мг/л; CaCl₂ – 250 мг/л; MgSO₄ – 200 мг/л;

© П.І. Янчук, О.О. Виноградова, О.М. Пасічніченко, С.С. Костенко

NaHCO_3 – 1,6 г/л; KH_2PO_4 – 120 мг/л; глюкоза – 2 г/л. Судинний препарат закріплювали у плексигласовій камері з проточним підігрітим розчином Тіроде (2 мл/хв; $37 \pm 1^\circ\text{C}$) сталевими гачками, один з яких нерухомо вмонтовано у стінку камери, інший з'єднано зі стрижнем механоелектричного перетворювача. Тут судинні препарати підлягали пасивному розтягненню з силою 5 мН і витримувалися протягом 20–30 хв.

Скорочення ізольованого фрагменту ВВ реєстрували за допомогою тензометричної установки [5]. Датчиком реєстрації був ємнісний механоелектричний перетворювач, сконструйований дослідно-конструкторським відділом Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України. Його сигнал подавали на підсилювач постійного струму, змонтованого на мікросхемі 140 ЧД8. Далі аналоговий сигнал відцифровували з використанням аналого-цифрового перетворювача (АЦП) і виводили на жорсткий диск і паралельно на монітор персонального комп'ютера для реєстрації даних з використанням програми «PowerGraph ver.2.1» виробництва фірми «ДИСофт» (Росія). Застосовували стандартну звукову карту АВЕ64 фірми «Creative» (США) зі стереотрактом, що дає змогу одночасно записувати електричні сигнали з двох незалежних датчиків. Цей комплекс обладнання дає можливість реєструвати сигнали амплітудою від 1 мВ до 2В.

Перевірку і калібрування системи здійснювали прямим прецизійним механічним впливом на датчик важків різної ваги і фіксації результату перетворення в цифровий формат на виході програми «PowerGraph ver.2.1». Зміни тонічного напруження гладеньких м'язів ізольованих сегментів ВВ вимірювали в абсолютних одиницях (міліньютонх).

У роботі були використані: норадреналін та адреналін (ВАТ «Здоров'я», Харків), індометацин («Sopharma», Болгарія), сапонін («Merck», Німеччина). Речовини подавали в камеру по проточній системі з постійною швидкістю 2 мл/хв. З тією ж швидкістю від-

мивали тестові речовини розчином Тіроде. Фармакологічну деендотелізацію препаратів ВВ здійснювали перфузією сапоніну у концентрації 0,5 мг/мл протягом 10 хв [6]. Повноту деендотелізації перевіряли за допомогою цитогістохімічного контролю зрізів перепаратів ВВ, пофарбованих гематоксиліном Брьомера та еозином, з використанням світлової мікроскопії (збільшення у 400 разів).

Статистичну обробку результатів експериментів здійснювали за допомогою аналітичного пакету Statistica 6.0, а перевірку на нормальність – за критерієм Шапіро–Уїлка. Для статистичної обробки параметричних результатів був використаний критерій Левена та критерій t Стьюдента для залежних вибірок, для непараметричних – тест Вілкоксона для залежних вибірок. У роботі амплітуда скорочень представлена у вигляді Me [25 %; 75 %] (медіана [верхня квартиль; нижня квартиль]) для непараметричних результатів, а для параметричних – $M \pm SD$ (середні значення \pm середнє квадратичне відхилення). Зміни вважали статистично значущими при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для з'ясування участі ейкозаноїдів у скоротливих реакціях ВВ на дію норадреналіну застосовували індометацин – блокатор циклооксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти. У контрольних дослідах при перфузії норадреналіну у концентрації $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л ($n=8$) спостерігали тонічні скорочення ВВ з амплітудою 6,25 [2,8; 8,2] мН. Після попередньої перфузії ВВ індометацином ($7 \cdot 10^{-8}$ моль/л) протягом 10 хв були зареєстровані скоротливі реакції ВВ на дію норадреналіну з амплітудою 2,6 [1,13; 4,75] мН ($n=8$), тобто істотно (на 58 %) менші від контролю ($P < 0,05$; рис.1). Після відмивання впродовж 30–40 хв реакції вени на дію норадреналіну відновлювалися до вихідного рівня. Ці результати свідчать про активну участь ейкозаноїдів у зростанні тонуусу ГМК ВВ.

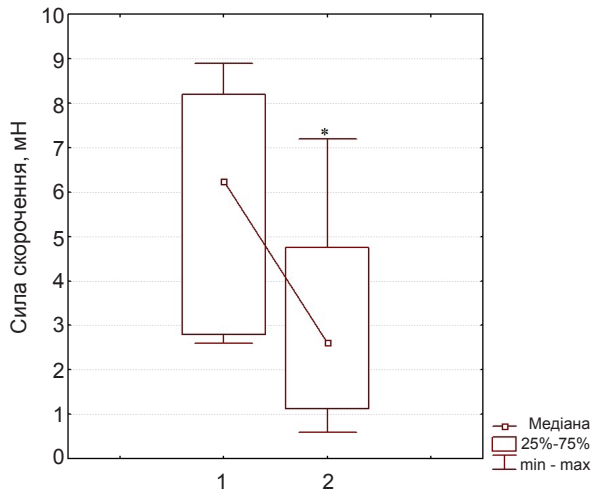


Рис. 1. Амплітуда тонічних скорочень ізольованих препаратів ворітної вени щура під впливом норадреналіну ($5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) до (1) та на тлі дії індометацину ($7 \cdot 10^{-8}$ моль/л; 2). * $P < 0,05$

Той факт, що індометацин пригнічує скоротливу активність ВВ, викликану дією норадреналіну, не виключає можливу участь ендотелію у опосередковуванні таких реакцій. Тому в наступній серії дослідів ми вирішили з'ясувати участь ейкозаноїдів у ендотеліозалежному скороченні ВВ під дією норадреналіну, порівнюючи скоротливі реакції судин з інтактним (контроль) та видаленим ендотелієм. Так, середня амплітуда тонічних скорочень деендотелізованих препаратів ВВ

($n=10$) була меншою від контролю на 52 % ($P < 0,01$) і становила $1,3 \pm 0,8$ мН (рис. 2, 3). Це свідчить про часткову участь ендотелію у опосередкуванні впливу норадреналіну на тонус ВВ.

Надалі наші дослідження були спрямовані на визначення ролі ендотелію в утворенні та виділенні ейкозаноїдів, як можливого посередника норадреналініндукованих скорочень ВВ. Деендотелізовані препарати ВВ перфузували розчином індометацину $7 \cdot 10^{-8}$ моль/л протягом 10 хв, після чого здійснювали аплікацію норадреналіну, який викликав їх скорочення з амплітудою 2,5 [2,3; 3,0] мН, але ці зміни були невірні, порівняно з контролем. Тобто ейкозаноїди, очевидно, не беруть участь у норадреналініндукованих тонічних скороченнях деендотелізованої ВВ.

Дослідження, проведені на ізольованих ГМК судин, свідчать про те, що такі клітини, на відміну від ендотеліальних, не задіяні у вивільненні ПГН₂ (попередника синтезу простагландинів) [7]. Разом з цим існують дані про здатність ендотеліальних клітин інших судин до синтезу простагландинів [8, 9].

Оскільки скоротливі реакції судинних препаратів ВВ, зумовлені дією норадреналіну, пригнічувались як індометацином, так і їх деендотелізацією, можна зробити припу-

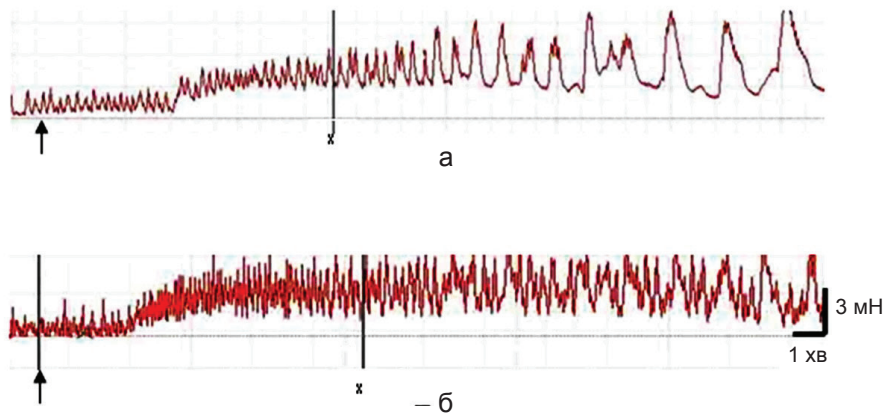


Рис. 2. Скоротлива активність інтактних (а) та деендотелізованих (б) ізольованих препаратів ворітної вени під впливом норадреналіну.

↑ – початок введення норадреналіну у концентрації $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л;
X – початок відмивання препарату розчином Тіроде

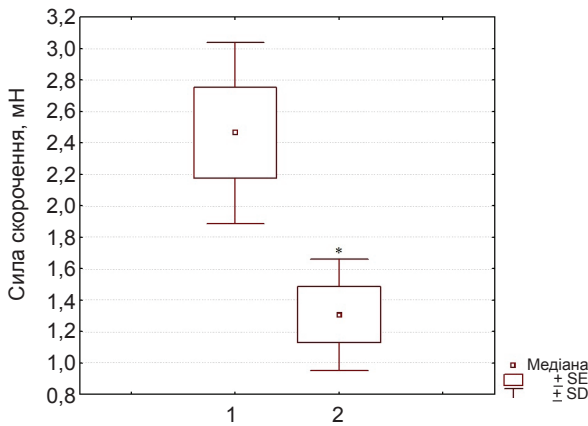


Рис. 3. Зміна амплітуди тонічних скорочень ізолюваних препаратів ворітної вени щура під дією норадреналіну ($5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) до (1) та після (2) їх деендотелізації (n=10). * $P < 0,05$

щення, що дія норадреналіну на гладенькі м'язи ВВ опосередковується її ендотелієм через виділення ендотеліоцитами продуктів циклооксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти.

У зв'язку з тим, що катехоламіни адреналін і норадреналін мають різну афінність до α - та β -адренорецепторів ми припустили, що механізми залучення ейкозаноїдів до скоротливих реакцій ВВ можуть відрізнятися. Тому у наступній серії дослідів вивчали участь ейкозаноїдів у адреналініндукованих тонічних реакціях ізолюваних препаратів ВВ.

У контрольних дослідах при перфузії ВВ адреналіном у концентрації 10^{-5} моль/л, спостерігали тонічні скорочення з амплітудою $4,5 \pm 0,3$ мН (n=8). Після аплікації індометацину у концентрації $7 \cdot 10^{-8}$ моль/л протягом 10 хв адреналін викликав скорочення ВВ із силою $3,1 \pm 0,7$ мН, тобто на 24 % меншою ($P < 0,001$) у порівнянні з контролем (рис. 4). Це свідчить про участь продуктів циклооксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти у реакціях ВВ на дію адреналіну.

Виникає питання, чи задіяний ендотелій в опосередкуванні скоротливої реакції ВВ на дію адреналіну. Після деендотелізації амплітуда тонічних скорочень ВВ, індукованих адреналіном (10 мкмоль/л), становила $3,8 \pm 0,3$

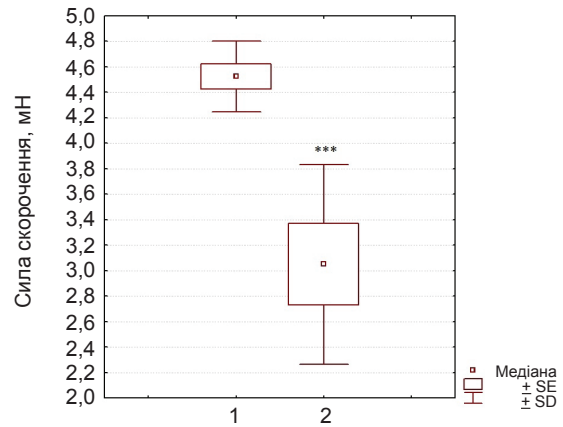


Рис. 4. Амплітуда тонічних скорочень ізолюваних препаратів ворітної вени щура під впливом адреналіну (10^{-5} моль/л) до (1) та на тлі дії індометацину ($7 \cdot 10^{-8}$ моль/л; 2). *** $P < 0,001$

мН, тобто на 12,5 % була меншою ($P < 0,05$) від середньої амплітуди контрольних реакцій, що вказує на часткове опосередкування цих реакцій ендотелієм судин.

Для визначення джерела утворення ейкозаноїдів, які опосередковують вказані скоротливі реакції вени, була застосована аплікація індометацину для адреналінвикликаних тонічних реакцій деендотелізованих препаратів ВВ. Після цього активність препаратів становила $2,3 \pm 0,63$ мН. Тобто блокада циклооксигенази деендотелізованих препаратів ВВ зменшувала силу скорочень, індукованих адреналіном, на 34,3 % ($P < 0,001$; рис. 5).

Отримані нами результати вказують на участь продуктів циклооксигеназного перетворення у механізмі скорочень ВВ, зумовлених дією адреналіну. Але такі реакції, ймовірно, є лише частково ендотелійзалежними, адже пригнічення індометацином адреналініндукованих скорочень для деендотелізованих судинних препаратів є навіть більш ефективним, ніж для ВВ з інтактним ендотелієм. Такі результати вказують на можливу участь у реакціях ВВ, викликаних дією адреналіну, ейкозаноїдів, що синтезуються ГМК або іншими клітинами судинної стінки. Існують літературні відомості, що підтверджують можливість синтезу та виді-

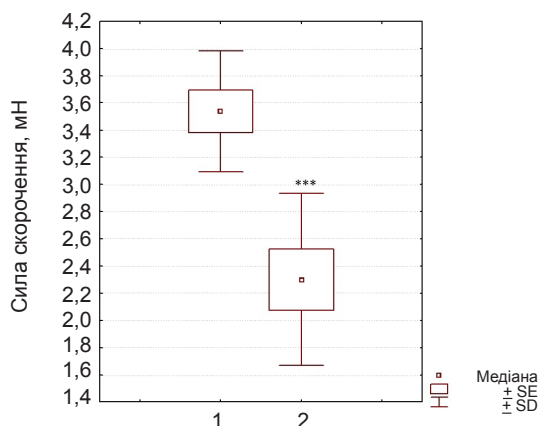


Рис. 5. Амплітуда тонічних скорочень деендотелізованих препаратів ворітної вени щура під впливом адреналіну (10^{-5} моль/л) до (1) та на тлі дії (2) індометацину ($7 \cdot 10^{-8}$ моль/л). *** $P < 0,001$

лення ейкозаноїдів (простагландинів $F_{2\alpha}$ та H , тромбоксанів A_2 та B_2) ГМК інших судин, наприклад, ниркової артерії кроля, аорти свині та кроля, загальної сонної артерії щурів, базиллярної артерії собак [10–12].

Виходячи з отриманих нами результатів та літературних даних, слід зауважити про тісну взаємодію катехоламінів і ейкозаноїдів у судинному руслі. Ймовірно, протаноїди, як міжклітинні посередники, виконують роль підсилювачів дії катехоламінів. Можливо, таке явище пов'язане з тим, що адреналін і норадреналін посилено синтезуються та вивільняються в кровоносне русло під час стресу, а ейкозаноїди при запальних процесах, травмах, а отже при пов'язаних між собою фізіологічних і патологічних станах організму.

ВИСНОВКИ

1. Індометацин пригнічує норадреналініндуковані тонічні скорочення ВВ з інтактним ендотелієм і не впливає на скорочення деендотелізованої судини, що свідчить про участь у цих реакціях ейкозаноїдів ендотеліального походження.

2. Пригнічення індометацином адреналініндукованих скоротливих реакцій ВВ

як з інтактним ендотелієм, так і без нього вказує на залучення до реакцій ейкозаноїдів, синтезованих, імовірно, ГМК судини.

**П.І. Янчук, Е.А. Виноградова,
О.М. Пасичніченко, С.С. Костенко**

УЧАСТИЕ ЕЙКОЗАНОИДОВ В МЕХАНИЗМЕ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ ВОРОТНОЙ ВЕНЫ НА ДЕЙСТВИЕ АДРЕНАЛИНА И НОРАДРЕНАЛИНА

Изучали влияние индометацина ($7 \cdot 10^{-8}$ моль/л) на тоническую активность изолированных сегментов воротной вены (ВВ) крысы, индуцированную адреналином (10^{-5} моль/л) и норадреналином ($5 \cdot 10^{-6}$ моль/л). Индометацин угнетает норадреналининдуцированные тонические сокращения ВВ с эндотелием и не влияет на сокращения деэндоотелизированных сосудов, что свидетельствует об участии в этих реакциях ейкозаноидов эндотелиального происхождения. Угнетение индометацином адреналининдуцированных сократительных реакций ВВ как с эндотелием, так и без него указывает на вовлечение в реакции ейкозаноидов, синтезированных, возможно, гладкомышечными клетками сосуда. Ключевые слова: адреналин, норадреналин, воротная вена, эндотелий, ейкозаноиды.

**P.I. Yanchuk, O.O. Vingradova,
O.M. Pasichnichenko, S.S. Kostenko**

PARTICIPATION OF EICOSANOIDS IN THE MECHANISMS OF CONTRACTILE REACTIONS OF PORTAL VEIN TO ADRENALINE AND NORADRENALINE

The influence of indometacine ($7 \cdot 10^{-8} M$) on the tonic contractile activity of the isolated rat portal vein (PV) under the action of adrenaline ($1 \cdot 10^{-5} M$) and noradrenaline ($5 \cdot 10^{-6} M$) was studied. Indometacine decreased the amplitude of noradrenaline-induced tonic constriction of PV with intact endothelium and produced no effect on constriction of vessels with denuded endothelial layer. The results suggest that these reactions are mediated by endothelial prostanoids. Inhibition of adrenaline-induced constriction of PV preparations with intact and denuded endothelium suggests that the contractile reactions are mediated by prostanoides derived from both endothelial and smooth muscle cells.

Key words: adrenaline, noradrenaline, portal vein, endothelium, prostanoides.

Taras Shevchenko National University, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Авакян О.М. Фармакологическая регуляция функции адренорецепторов. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.

2. Katusic Z.S., Shepherd J.T., Vanhoutte P.M. Endothelium-dependent contractions to calcium ionophore A23187, arachidonic acid and acetylcholine in canine basilar arteries // *Stroke*. – 1988. – № 19. – P.476–479.
3. Usui H., Kurahasi K., Shirahase H. Endothelium-dependent vasocontraction in response to noradrenaline in the canine cerebral artery // *Jap. J. Pharmacol.* – 1987. – № 44. – P.228–231.
4. Roberts R.E., Kendall D.A., Wilson V.G. α 2-adrenoceptor and NPY receptor-mediated contractions of porcine isolated blood vessels: evidence for involvement of the vascular endothelium // *Brit. J. Pharmacol.* – 1999. – №128. – P.1705–1712.
5. Блаттнер Р., Классен Х., Денерт Х., Дёринг Х. Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц. – М.: Мир, 1983. – 206 с.
6. Янчук П.І., Пасічніченко О.М., Комаренко В.І., Приходько Т.П., Цибенко В.О. З'ясування механізмів звужувальної дії ацетилхоліну на внутрішньопечінкові ворітні судини // *Фізіол. журн.* – 2006. – **52**, №5. – С.23–28.
7. Marta S., Mercedes C. Human vascular smooth muscle cells but not endothelial cells express prostaglandin E // *Circ. Res.* – 2000. – №87. – P.504–507.
8. Stansby G., Shukla N., Hamilton G. Comparison of prostanoid synthesis in cultured human vascular endothelial cells derived from omentum and umbilical vein // *Eur. J. Vascular Surgery*. – 1991. – **5**, № 5. – P.501–506
9. Furuhashi N., Miyazaki S., Kamura M. Role of endothelium and vasoconstrictor prostanoids in norepinephrine-induced vasoconstriction in isolated rat common carotid arteries // *Clin.Exp.Hypertens.* – 2000. – **22**, №5. – P.543–554.
10. Chaudhari A., Pedram A., Kirschenbaum M.A. Prostanoid biosynthesis in cultured rabbit renal microvascular smooth muscle cells. Effect of arachidonic acid, calcium, and A23187 // *Lab. Invest.* – 1990. – **63**, №1. – P.30–37.
11. Ody C., Duval D. Arachidonate incorporation and prostaglandin production in cultured endothelial and smooth muscle cells from pig aorta // *Prostaglandins Leukot Med.* – 1983.– **11**, №1. – P.63–72.
12. Hassid A., Williams C. Vasoconstrictor-evoked prostaglandin synthesis in cultured vascular smooth muscle // *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.* – 1983. – **245**, №3. – P.278–282.

Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка
E-mail: yanchuk49@ukr.net

Матеріал надійшов
до редакції 11.03.2013