

# Роль тромбоксану та лейкотрієнів у реалізації скоротливих реакцій ворітної вени, викликаних дією ацетилхоліну і норадреналіну

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

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології»; E-mail: alenka\_vinogradova@ukr.net

*Досліджували вплив пікогаміду та зілеутону на тонічну скоротливу активність ізольованих препаратів ворітної вени щурів, індуковану ацетилхоліном ( $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л) і норадреналіном ( $5 \cdot 10^{-7}$  моль/л). Синтезовані ендотеліальними клітинами продукти перетворення арахідонової кислоти (простагландини, лейкотрієни) відіграють важливу роль у місцевій регуляції судинного тонуусу. Утворені внаслідок каскаду ферментативних перетворень сполуки здатні модулювати ефект інших вазоактивних чинників. Пікогамід ( $6,5 \cdot 10^{-5}$  моль/л) – блокатор тромбоксанових рецепторів і тромбоксансинтази – пригнічує ацетилхолініндуковані скорочення ізольованих сегментів ворітної вени з інтактним ендотелієм на 29 % та норадреналініндуковані – на 45 % щодо контролю. Отримані результати свідчать про участь тромбоксану та/ або ендопероксиду  $H_2$  у досліджуваних нами судинних реакціях. Часткове усунення досліджуваних тонічних реакцій блокатором 5-ліпоксигенази зілеутоном ( $4,2 \cdot 10^{-5}$  моль/л) на 23% відносно контрольних значень свідчить про те, що у підвищенні тонуусу ворітної вени під дією ацетилхоліну і норадреналіну задіяні продукти ліпоксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти.*

*Ключові слова:* ацетилхолін; норадреналін; ворітна вена; тромбоксан; лейкотрієни.

## ВСТУП

Метаболіти арахідонової кислоти відіграють важливу роль у регуляції судинного тонуусу як за умов норми, так і патології. Із арахідонової кислоти утворюється велика кількість метаболітів з різними характеристиками, що об'єднуються під загальною назвою – ейкозаноїди. Існує три основні шляхи їх синтезу: циклооксигеназний (ЦОГ) каскад ферментативних перетворень, яким утворюються простагландини; ліпоксигеназний, котрим синтезуються лейкотрієни і деякі гідропероксиди; та шлях утворення цитохрому P-450, яким формуються P450-ейкозаноїди. Внаслідок усіх цих перетворень утворюються вазоактивні речовини або ж сполуки, що здатні модулювати ефект інших вазоактивних чинників [1]. Серед усієї групи ейкозаноїдів

тромбоксан  $A_2$  та простагландин  $I_2$  є найбільш важливими у механізмі підтримання серцево-судинного гомеостазу. Вони утворюються в ендотелії судин і в тромбоцитах і чинять протилежні ефекти [2,3].

Здатність до синтезу ЦОГ-залежних простаноїдів, зокрема простагландинів  $D_2$  та  $E_2$ , тромбоксану  $A_2$  мають клітини Купфера, що у великій кількості знаходяться в печінці та її судинах (в тому числі і у ворітній вені – ВВ) [4, 5]. Після блокади ЦОГ у ВВ собак відбувається потужна констрикція брижових та ворітних судин, але завдяки компенсаторним механізмам загальний кровотік у печінці може залишатись незмінним [6]. У ВВ морських свинок виявлено тромбоксанові рецептори, а також здатність судини змінювати свою скоротливу активність під дією тромбоксану і простагландинів  $D_2$ ,  $E_2$  [7]. У

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

дослідах, проведених на венах щурів, було показано, що арахідонова кислота і тромбін викликають ендотелійзалежне підвищення тону судин у реакціях, індукованих норадреналіном [8]. Участь простаноїдів також виявлена у механізмі дії агоністів  $\alpha_1$ - та  $\alpha_2$ -адренергічних рецепторів судин пальця людини [9]. Звуження загальної сонної артерії щурів, індуковане норадреналіном, реалізується через  $\alpha_1$ -адренорецептори і є залежним від судинозвужувальних простагландинів [10]. У дослідженнях на базилярній артерії та аорті собак перфузія індометацином судин з інтактним ендотелієм викликає зменшення констрикторних відповідей на дію норадреналіну, що автори пов'язують з вивільненням ендотелієм констрикторних факторів циклооксигеназного шляху утворення [11, 12]. Раніше нами було показано, що індометацин пригнічує тонічну активність ізольованих препаратів ВВ зі збереженим ендотелієм, індуковану як ацетилхоліном, так і норадреналіном, що підтверджує участь простаноїдів у реалізації таких судинорухових реакцій [13].

Метою нашого дослідження було перевірити можливу участь тромбоксану та лейкотрієнів у опосередкуванні тонічних реакцій ВВ, зумовлених дією ацетилхоліну та норадреналіну.

## МЕТОДИКА

Експериментальні дослідження проведені на 40 білих нелінійних лабораторних щурах обох статей масою 200–300 г. У гострому досліді після евтаназії за допомогою глибокої наркотизації хлороформом у тварин здійснювали лапаротомію та видаляли ВВ. Ретельно відпрепаровану від сполучної тканини та периваскулярних сплетень судину закріплювали у плексигласовій камері з проточним підігрітим розчином Тіроде. Тут судинні препарати підлягали пасивному розтягання з силою близько 5 мН та витримували впродовж 30 хв. Розчин, температуру якого підтримували в межах 37°C за

допомогою термостата, постійно подавали у камеру по проточній системі зі швидкістю 2–2,5 мл/хв. З тією самою швидкістю надходили досліджувані речовини. Скорочення ізольованого фрагмента ВВ реєстрували за допомогою тензометричної установки [14]. Зміни тонічного напруження гладеньких м'язів ізольованих сегментів ВВ вимірювали в абсолютних одиницях – міліньютонх. У роботі були використані: ацетилхолін, норадреналін (ВАТ «Здоров'я», Харків), пікотамід, зілеутон («Sigma-Aldrich», США). Для визначення участі у досліджуваних реакціях тромбоксану, синтезованого стінкою ВВ під дією ацетилхоліну та норадреналіну, застосовували неселективний блокатор тромбоксансинтетази та тромбоксанових рецепторів – пікотамід ( $6,5 \cdot 10^{-5}$  моль/л) [15]. Для дослідження загальної ролі лейкотрієнів у реалізації дії норадреналіну та ацетилхоліну на тонічну активність ВВ застосовували неселективний блокатор 5-ліпоксигенази – зілеутон ( $4,2 \cdot 10^{-5}$  моль/л). Кожну серію дослідів було проведено на 10 ізольованих препаратах ВВ печінки щурів.

Отримані результати оброблені з використанням аналітичного пакета Statistica 6.0 («StatSoft Inc.», США). Амплітуда скорочень судинних препаратів представлена як  $M \pm S$  (середні значення  $\pm$  середнє квадратичне відхилення). Зміни вважали статистично значущими при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У літературі існують дані, які свідчать про вплив антагоністів рецепторів тромбоксану  $A_2$ /простагландину  $H_2$  в ацетилхолініндукованих скоротливих реакціях судин [16,17]. У контрольних дослідах ацетилхолін спричиняв скорочення ВВ з амплітудою  $5,38 \pm 0,99$  мН. Після попередньої аплікації пікотамідом амплітуда цих скорочень знижувалися до  $3,8 \pm 1,09$  мН (рис.1). Підвищення тону ВВ, викликане дією норадреналіну, у контрольній групі становило  $3,99 \pm 0,74$  мН ( $n=10$ ). Після

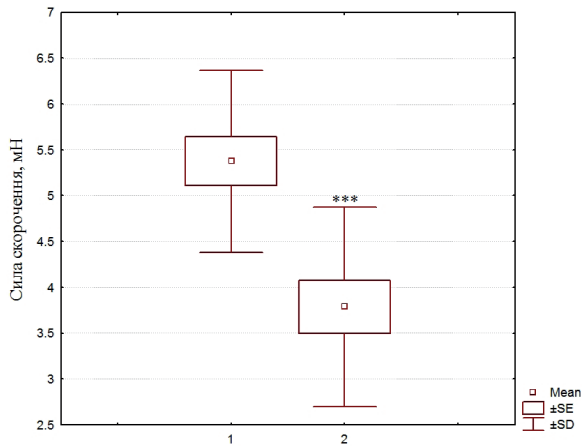


Рис.1. Амплітуда тонічних скорочень ізольованих препаратів ворітної вени щура, індукованих ацетилхоліном ( $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л) до (1) та під час (2) дії пікотаміду ( $6,5 \cdot 10^{-5}$  моль/л); \*\*\*  $P < 0,001$

блокування дії тромбксану пікотамідом амплітуда норадреналініндукованих тонічних реакцій ізольованих судинних препаратів була  $2,6 \pm 0,68$  мН (рис.2).

Отримані результати свідчать про часткове опосередкування тромбксаном підвищення тону ВВ, зумовленого дією як ацетилхоліну, так і норадреналіну. Тромбксанові рецептори можуть також активуватись попередником тромбксану простагландином

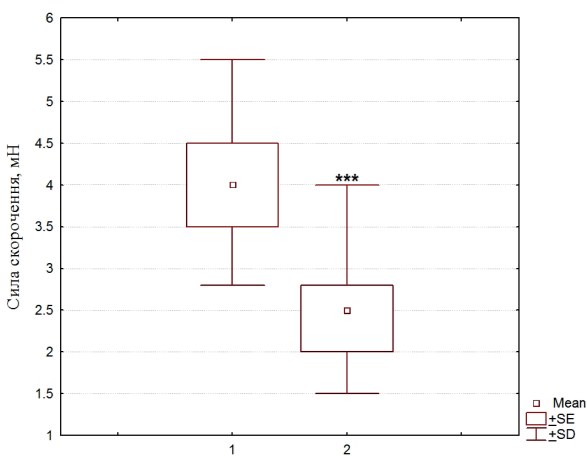


Рис.2. Амплітуда тонічних скорочень ізольованих препаратів ворітної вени щура, індукованих норадреналіном ( $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л) до (1) та під час (2) дії пікотаміду ( $6,5 \cdot 10^{-5}$  моль/л); \*\*\*  $P < 0,001$

$H_2$  тому, цілком ймовірно, що він задіяний у досліджуваних нами реакціях.

Разом з тим є відомості, що у ацетилхолініндукованих реакціях коронарних артерій кролів простагландини участі не беруть, але в них задіяні лейкотрієни  $C_4$  та  $D_4$  [18]. У зв'язку з цим ми вирішили дослідити загальну участь лейкотрієнів у опосередкуванні скоротливих реакцій ВВ, індукованих ацетилхоліном і норадреналіном.

У контрольних дослідах амплітуда тонічного скорочення ВВ, індукованого ацетилхоліном, становила  $4,6 \pm 1,17$  мН, після застосування зілеутону –  $3,56 \pm 1,0$  мН (рис. 3). У наступній серії дослідів амплітуда норадреналініндукованих тонічних скорочень ВВ у контрольній групі щурів становила  $4,29 \pm 1,03$  мН. На тлі дії зілеутону (рис.4) цей показник знизився до  $3,34 \pm 0,86$  мН. Статистично вірогідне зменшення амплітуди тонічних скорочень ВВ, викликаних дією ацетилхоліну та норадреналіну після застосування блокатора ферменту 5-ліпоксигенази зілеутону, свідчить про участь лейкотрієнів у цих реакціях.

Таким чином, ми розглянули два механізми часткового опосередкування вазоактивної дії норадреналіну та ацетилхоліну

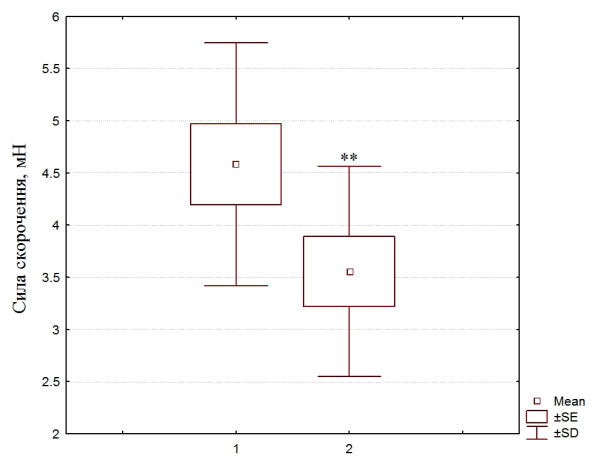


Рис.3. Амплітуда тонічних скорочень ізольованих препаратів ворітної вени щура, індукованих ацетилхоліном ( $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л) до (1) та під час (2) дії зілеутону ( $4,2 \cdot 10^{-5}$  моль/л); \*\*  $P < 0,01$

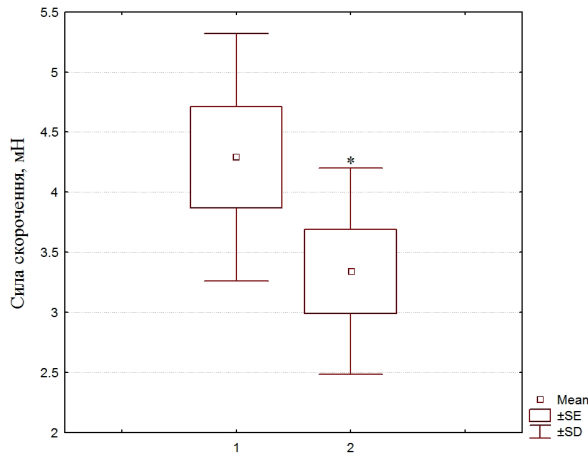


Рис. 4. Амплітуда тонічних скорочень ізольованих препаратів ворітної вени щура, індукованих норадреналіном ( $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л) до (1) та під час (2) дії зилеутону ( $4,2 \cdot 10^{-5}$  моль/л); \*  $P < 0,05$

на ВВ щурів. Результати наших досліджень вказують на участь тромбоксану (продукту циклооксигеназного перетворення арахідонової кислоти) у реалізації цієї дії. Також нам вдалося виявити причетність лейкотрієнів до констрикторних реакцій ВВ, індукованих ацетилхоліном та норадреналіном.

Аналіз вищезгаданих даних літератури безперечно вказує на складні механізми регуляції судинного тону, в тому числі і судин печінки, у яких істотну роль відіграють ейкозаноїди. Подальше вивчення таких механізмів необхідне для формування фундаментальних знань, а також для з'ясування механізмів виникнення і розвитку патологічних станів судин та розробки методів їх корекції.

## ВИСНОВКИ

Пікотамід пригнічує ацетилхолін- та норадреналініндуковані тонічні скорочення ізольованих сегментів ВВ з інтактним ендотелієм, що свідчить про участь у цих реакціях тромбоксану та/ або ендопероксиду  $H_2$ .

У реалізації тонічних відповідей ВВ щурів, зумовлених дією ацетилхоліну та норадреналіну, задіяні також продукти ліпоксигеназного шляху перетворення арахідонової

кислоти, на що вказує часткове усунення досліджуваних реакцій блокаторм ліпоксигенази зилеутоном.

**О.О. Виноградова, П.І. Янчук,  
О.М. Пасичніченко**

## РОЛЬ ТРОМБОКСАНА И ЛЕЙКОТРИЕНОВ В МЕХАНИЗМЕ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ ВОРОТНОЙ ВЕНЫ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ДЕЙСТВИЕМ АЦЕТИЛХОЛИНА И НОРАДРЕНАЛИНА

Изучали влияние пикотамида и зилеутона на тоническую сократительную активность изолированных препаратов воротной вены крыс, индуцированную ацетилхолином ( $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л) и норадреналином ( $5 \cdot 10^{-7}$  моль/л). Пикотамид ( $6,5 \cdot 10^{-5}$  моль/л) подавляет ацетилхолин- и норадреналининдуцированные тонические сокращения изолированных сегментов воротной вены с интактным эндотелием, что свидетельствует об участии тромбоксана и / или ендопероксида  $H_2$  в этих реакциях. Частичное устранение указанных реакций блокаторм липоксигеназы зилеутоном ( $4,2 \cdot 10^{-5}$  моль/л) свидетельствует о том, что в таких реакциях задействованы продукты липоксигеназного пути превращения арахидоновой кислоты.

Ключевые слова: ацетилхолин; норадреналин; воротная вена; тромбоксан; лейкотриены.

**O.O. Vinogradova, P.I. Yanchuk,  
O.M. Pasichnichenko**

## ROLE OF THROMBOXANE AND LEUKOTRIENES IN MECHANISMS OF CONTRACTILE REACTIONS OF PORTAL VEIN, INDUCED BY ACETYLCHLINE AND PHENYLEPHRINE

Effects of picotamide and zileuton on tonic contractile activity of the rat portal vein preparations, induced by acetylcholine ( $2 \cdot 10^{-5}$  mol/l) and phenylephrine ( $5 \cdot 10^{-7}$  mol/l) were investigated. Conversion of arachidonic acid products (prostaglandins, leukotrienes) synthesized by endothelial cells, plays an important role in the local regulation of vascular tone. The compounds formed in a cascade of enzymatic transformations can modulate the effect of other vasoactive factors. Picotamide ( $6,5 \cdot 10^{-5}$  mol/l) - thromboxane receptor and thromboxane-synthase blocker - depress acetylcholine-induction tonic contraction of isolated segments of portal vein with intact endothelium by 29% and norepinephrine- induction reduction of 45% relative to the control values. The obtained results indicate a participation of thromboxane and/or endoperoxide  $H_2$  in this reaction. Partial inhibition of the contractions by 5-lipoxygenase blocker zileuton ( $4,2 \cdot 10^{-5}$  mol/l) at 23% relative to control values suggests, that products of lipoxigenase pathways of

arachidonic acid conversion are involved in mechanisms of specified reactions. These data indicate complex mechanisms of regulation of vascular tone of the portal vein, which play an important role eicosanoids. Further study of these mechanisms is necessary for the formation of basic knowledge, as well as to elucidate the mechanisms of occurrence and development of pathological conditions of vessels and the development of methods of their correction.

Key words: acetylcholine; phenylephrine; portal vein; thromboxane; leukotrienes.

## REFERENCES

- Iniguez MA, Cacheiro-Llaguno C, Cuesta N. Prostanoid function and cardiovascular disease. Arch Physiol Biochem. 2008 Jul;114(3):201-9.
- Fresno M, Diaz-Munoz M, Cuesta N. Prostanoid actions in cardiovascular physiopathology. An R Acad Farm. 2008 May;74(4):1-23.
- Smyth EM, Grosser T, Wang M. Prostanoids in health and disease. J Lipid Res. 2009 Apr; 50:S423-8.
- Graupera M, March S, Engel P. Sinusoidal endothelial COX-1-derived prostanoids modulate the hepatic vascular tone of cirrhotic rat livers. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2005 Apr; 288(4):763-70.
- Pestel S, Schlaf G, Götze O. Differences in the involvement of prostanoids from Kupffer cells in the mediation of anaphylatoxin C5a-, zymosan-, and lipopolysaccharide-dependent hepatic glucose output and flow reduction. Lab Invest. 2003 Dec; 83(12):1733-41.
- Kinoshita G, Washizu M, Kondo M. The effect of indomethacin on liver blood flow and oxygen supply-uptake relationship in the dog. J Vet Med Sci. 1995 Apr; 57(2):193-7.
- Eglen R, Whiting R. The action of prostanoid receptor agonists and antagonists on smooth muscle and platelets. Br J Pharmacol. 1988 Jun; 94(2):591-601.
- Lüscher TF, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. Hypertension. 1986 Apr; 8:344-8.
- Srinivasa A, Marshall JM. Effects of cyclooxygenase inhibition on vascular responses evoked in fingers of men and women by iontophoresis of 1- and 2-adrenoceptor agonists. J Physiol. 2011 Sep; 589(18):4555-64.
- Higashi Y, Sasaki S. Excess norepinephrine impairs both endothelium-dependent and -independent vasodilation in patients with pheochromocytoma. Hypertension. 2002; 39:513-18.
- Wang A, Nishihashi T, Murakami S. et al. Noradrenaline-induced contraction mediated by endothelial COX-1 metabolites in the rat coronary artery. J Cardiovasc Pharmacol. 2003 Dec; 42:S39-42.
- Roberts RE, Kendall DA, Wilson VG.  $\alpha$ 2-adrenoceptor and NPY receptor-mediated contractions of porcine isolated blood vessels: evidence for involvement of the vascular endothelium. Br J Pharmacol. 1999 Dec; 128:1705-12.
- Pasichnichenko O, Vynogradova O, Yanchuk P. Endothelium-dependent contraction of rat portal vein under the action of acetylcholine and norepinephrine. Fizyka zhivogo. 2009;17(2):127-9 [Ukrainian].
- Yanchuk P, Vynogradova O, Pasichnichenko O, Kostenko S. Participation of eicosanoids in the mechanism of contractile responses of the portal vein to the action of adrenaline and noradrenaline. Fiziol Zh. 2013; 59(6):43-48 [Ukrainian].
- Modesti P. Picotamide: an Inhibitor of the formation and effects of TxA2. Cardiovascular Drug Reviews. 1995 Dec;13(4):353-64.
- Rapoport RM, Williams SP. Role of prostaglandins in acetylcholine-induced contraction of aorta from spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. Hypertension. 1996 Jul; 28:64-75.
- Kurashi K, Nishihashi T, Trandafir C. Diversity of endothelium-derived vasocontracting factors arachidonic acid metabolites. Acta Pharmacol Sin. 2003 Nov; 24(11):1065-9.
- Jino H, Kurahashi K, Usui H. Possible involvement of endothelial leukotrienes in acetylcholine-induced contraction in rabbit coronary artery. Life Sci. 1996. – 59(12):961-67.

*Матеріал надійшов  
до редакції 22.10.2014*