

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ БЛОКАТОРА ЭСТРАДИОЛОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА РАЗВИТИЕ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ФОРМЫ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ОВАРИЭКТОМИРОВАННЫХ САМОК КРЫС ЛИНИИ WISTAR

Ю. О. Ковалева, М. М. Артемьева, О. С. Медведев, Н. А. Медведева¹

Ранее нами показано, что у овариэктомированных самок крыс линии Wistar отсутствие эстрадиола (E_2) предупреждает развитие гипоксической формы легочной артериальной гипертензии (ЛАГ). В данной работе изучали влияние хронического введения блокатора эстрадиоловых рецепторов типов α и β на развитие гипоксической формы легочной гипертензии, вызываемой хроническим введением E_2 . Эксперименты проводили на овариэктомированных самках крыс линии Wistar. Животные получали эстрадиол в дозах 15 и 60 мкг/кг в день и блокатор ICI 182,780 эстрадиоловых рецепторов α и β в дозе 150 мкг/кг в день в течение месяца. ЛАГ вызывали хроническим действием гипоксии (5000 м над уровнем моря, O_2 – 10%) в течение 2-х недель по 10 ч в день. Развитие ЛАГ при хроническом действии эстрадиола, по-видимому, опосредуется через специфические рецепторы к эстрадиолу α и β , так как он достоверно снимается на фоне введения их блокатора.

Ключевые слова: легочная гипертензия; хроническая гипоксия; давление в правом желудочке; самки крыс; овариэктомия; эстрадиол; блокатор эстрадиоловых рецепторов; ICI 182,780, фулвестрант

ВВЕДЕНИЕ

Гипертензия малого круга кровообращения, или легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) — состояние, характеризующееся патологическим повышением легочного сосудистого сопротивления и, как следствие, уменьшением кровотока и газообмена в легких, гипертрофией и нарушением насосной функции правого желудочка сердца [13]. В середине 80-х годов прошлого века до появления специфической направленной терапии средняя продолжительность жизни у больных с идиопатической ЛАГ от момента установления диагноза была 2,8 лет [3]. За два последних десятилетия проделана большая работа по изучению патогенеза данного заболевания, исследованию механизмов возникновения и течения ЛАГ, поиску адекватной терапии и улучшения качества жизни пациентов при данном диагнозе [5, 6, 8]. Заболеваемость среди женского населения разных возрастов превышает таковую среди мужчин [12]. Данный факт дает основание говорить о гендерных различиях в проявлении заболевания и о возможном участии половых гормонов в сложном патологическом процессе. Последнее также подтверждается появлением большего процента заболеваний сердечно-сосудистой системы у женщин после наступле-

ния менопаузы в сравнении с женщинами фертильного возраста [9]. Протекторный эффект женского полового гормона эстрадиола на состояние сосудистого русла показан в экспериментах на животных. E_2 инициирует геномным и негеномным путем выработку окиси азота и простаглицлина, которые действуют на гладкую мышцу, что приводит к расширению сосудов и уменьшению сосудистого сопротивления [11]. Вклад половых гормонов в развитие различных форм ЛАГ в экспериментах на животных не однозначен. Показано, что эстрадиол оказывает протекторное влияние на развитие этого заболевания при монокроталиновой и блеомициновой моделях легочной гипертонии [14, 15]. Также протекторный эффект E_2 показан при использовании гипоксической модели легочной гипертензии на самках крыс [4, 10]. У овариэктомированных самок крыс эстрадиол инициирует развитие гипоксической формы легочной гипертензии [1]. Действие женского полового гормона опосредуется в основном через специфические рецепторы к эстрадиолу α и β , расположенные как на мембране, так и в ядре клетки [9, 11]. Поэтому целью настоящего исследования было изучение влияния хронического введения блокатора эстрадиоловых рецепторов на развитие легочной артериальной гипертензии у овариэктомированных самок крыс линии Wistar, вызываемой хроническим введением E_2 .

¹ Кафедра фармакологии ФФМ (зав. – проф. О. С. Медведев) и кафедра физиологии человека и животных Биологического факультета (зав. - проф. А. А. Каменский) МГУ им. М. В. Ломоносова, 119192, Москва, Ломоносовский пр-т., дом 31, корп. 5.

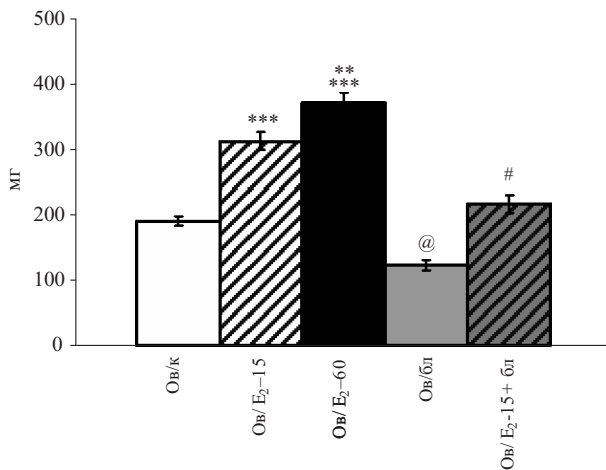


Рис. 1. Масса матки овариэктомированных самок крыс линии Wistar, подвергавшихся воздействию хронической гипоксии и введению эстрадиола в дозах 15 и 60 мкг/кг в день, блокатора эстрадиоловых рецепторов ICI182,780 в дозе 150 мкг/кг отдельно и в сочетании с эстрадиолом (15 мкг/кг) ежедневно в течение 1 месяца.

По оси ординат — масса, мг. Здесь и на рис. 2 и 3: Ов/к — группа контроля, получавшая растворитель в объеме 200 мкл. Ов/Е₂-15 — группа, получавшая эстрадиол в дозе 15 мкг/кг. Ов/Е₂-60 — группа, получавшая эстрадиол в дозе 60 мкг/кг. Ов/бл — группа, получавшая блокатор эстрадиоловых рецепторов в дозе 150 мкг/кг. Ов/Е₂-15+бл — группа, получавшая эстрадиол в дозе 15 мкг/кг в сочетании с блокатором эстрадиоловых рецепторов в дозе 150 мкг/кг.

*** — Достоверное увеличение массы матки крыс групп Ов/Е₂-15 и Ов/Е₂-60 в сравнении с группой Ов/к ($p < 0,001$); ** — значимое увеличение массы матки в группе Ов/Е₂-60 в сравнении с группой Ов/Е₂-15 ($p < 0,01$); # — достоверное уменьшение массы матки группы Ов/Е₂-15+бл в сравнении с группами Ов/Е₂-15 и Ов/Е₂-60 ($p < 0,001$); @ — значимое уменьшение массы матки в группе Ов/бл в сравнении с группой Ов/к ($p < 0,001$).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на самках линии Wistar. Животные “входили” в исследование в возрасте двух месяцев. Крыс содержали в стандартных условиях согласно требованиям Council Directive 86/609/ЕЕС. Эксперименты выполнены на 54 крысах, разделенных на 5 групп. В начале исследования была проведена билатеральная овариэктомия всем животным. Через 2 недели после операции самкам начинали вводить вещества по группам: группа Ов/к ($n = 7$) — животным ежедневно вводили растворитель; группы Ов/Е₂-15 ($n = 8$) и Ов/Е₂-60 ($n = 10$), которым ежедневно вводили Е₂ в дозах 15 и 60 мкг/кг в день соответственно; группа Ов/Е₂-15+бл ($n = 10$), которым совместно с Е₂ в дозе 15 мкг/кг вводили блокатор эстрогеновых рецепторов ICI 182,780 в дозе 150 мкг/кг, группа Ов/бл ($n = 11$), которым вводили только ICI 182,780 в дозе 150 мкг/кг. Спустя две недели овариэктомированных самок крыс, которым продолжали вводить обозначенные вещества, подвергали воздействию гипобарической гипоксии (подъем в барокамере на 5000 м над уровнем моря, $O_2 - 10\%$) на 10 ч в день в течение 14 дней. Один раз в неделю у животных всех групп про-

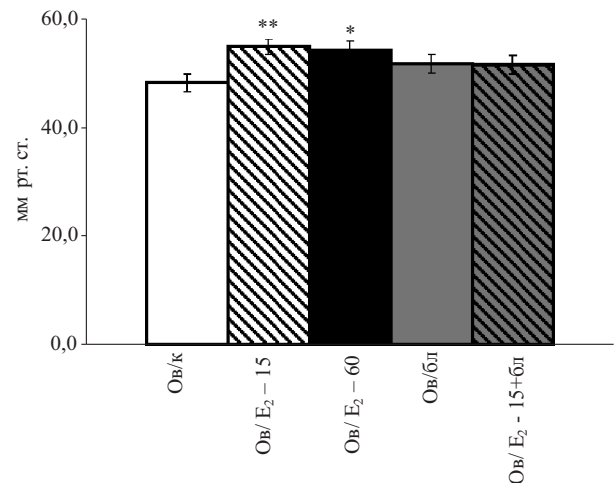


Рис. 2. Величина систолического артериального давления в правом желудочке сердца овариэктомированных самок крыс линии Wistar, подвергавшихся воздействию хронической гипоксии в течение 2 недель и введению эстрадиола в дозах 15 и 60 мкг/кг в день, блокатора эстрадиоловых рецепторов ICI182,780 в дозе 150 мкг/кг отдельно и в сочетании с эстрадиолом (15 мкг/кг) ежедневно в течение 1 месяца.

По оси ординат — систолическое артериальное давление в правом желудочке, мм рт. ст.

** — значимое увеличение систолического артериального давления в правом желудочке в группе Ов/Е₂-15 в сравнении с группой Ов/к ($p < 0,01$);

* — достоверное увеличение систолического артериального давления в правом желудочке в группе Ов/Е₂-60 в сравнении с группой Ов/к ($p < 0,05$).

Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

водили измерение массы и систолического артериального давления непрямым плетизмографическим методом [7]. По истечении 14 дней гипоксического воздействия животных брали в острый физиологический эксперимент для измерения системного артериального давления (САД), частоты сердечных сокращений (ЧСС) и систолического давления в правом желудочке (СПЖД). Для этого под уретановым наркозом (1,2 г/кг) в бедренную артерию, бедренную вену и правый желудочек через яремную вену вводили катетеры (PE50). Регистрацию вышеприведенных параметров проводили с использованием датчиков фирмы STATNAM (США) на компьютере с частотой оцифровки 512 Гц с помощью модифицированной программы Bioshel [2]. В конце эксперимента наркотизированных животных забивали, после чего извлекали матку и сердце для взвешивания. Индекс массы сердца считали по следующей формуле: ПЖ/масса, где ПЖ — это масса правого желудочка сердца, масса — масса животного. Статистический анализ данных проводили по критерию Манна-Уитни для независимых переменных из пакета программы Statistica 6.0 (Statistica Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Масса тела животных, изначально одинаковая у всех крыс в начале эксперимента, не изменилась меж-

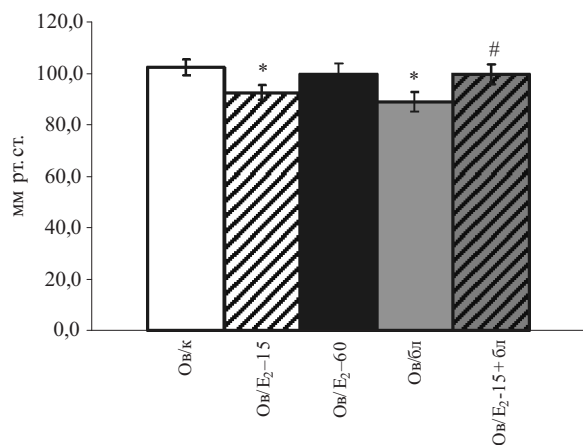


Рис. 3. Величина системного артериального давления овариэктомированных самок крыс линии Wistar, подвергавшихся воздействию хронической гипоксии и введению эстрадиола в дозах 15 и 60 мкг/кг в день, блокатора эстрадиоловых рецепторов ICI182,780 в дозе 150 мкг/кг отдельно и в сочетании с эстрадиолом (15 мкг/кг) ежедневно в течение 1 месяца.

По оси ординат — системное артериальное давление, мм рт. ст.

* — достоверное уменьшение системного артериального давления в группах Ов/Е₂ – 15 и Ов/бл в сравнении с группой Ов/к ($p < 0,05$);

— значимое увеличение системного артериального давления в группе Ов/Е₂ – 15 + бл в сравнении с группой Ов/бл ($p < 0,05$).

Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

ду группами после многочисленных воздействий. Еженедельное измерение систолического артериального давления непрямым методом не выявило отличий между группами. Для косвенной оценки наличия Е₂ в организме животного производили взвешивание маток крыс. Показано, что эстрадиол увеличивает массы маток крыс в группах, получавших его в дозах 15 мкг/кг в день (Ов/Е₂ – 15) и 60 мкг/кг в день (Ов/Е₂ – 60), по сравнению с группой Ов/к (312 ± 13 и 370 ± 16 мг vs 190 ± 8 мг, $p < 0,001$). Эффект носил доза-зависимый характер. Блокатор эстрогеновых рецепторов, вводимый совместно с Е₂ (группа Ов/Е₂ + бл), статистически значимо снижает массу матки в сравнении с группами Ов/Е₂ – 15 и Ов/Е₂ – 60, соответственно 215 ± 13 vs 312 ± 12 и 370 ± 16 мг, $p < 0,01$ и $p < 0,001$. Интересно, что в группе Ов/бл также наблюдали уменьшение массы матки по сравнению группой Ов/к (соответственно 122 ± 8 vs 190 ± 8 мг, $p < 0,001$), рис. 1. Приведенные данные позволяют говорить о соответствии ожидаемых эффектов вводимых веществ с наблюдаемыми в эксперименте. Для оценки степени развития гипоксической формы легочной гипертензии измеряли величину систолического давления в правом желудочке сердца и величину гипертрофии правого желудочка, как основные признаки развития исследуемого заболевания. В остром эксперименте проводили также измерение среднего артериального давления и частоты сердечных сокращений. После воздействия хронической гипоксии у животных групп Ов/Е₂ – 15 и Ов/Е₂ – 60 наблюдали увеличение СПЖД на 15 и 12,5 % по сравнению с группой Ов/к (соответственно, $54,6 \pm 1,4$ и

$54 \pm 1,6$ vs $48 \pm 1,5$ мм рт. ст., $p < 0,01$ и $p < 0,05$). Введение только блокатора (Ов/бл) или блокатора совместно с эстрадиолом (Ов/Е₂ – 15 + бл) не приводило к значимым изменениям по этому показателю по сравнению с контролем (рис. 2). Эти данные свидетельствуют о том, что хроническое введение эстрадиола овариэктомированным самкам инициирует развитие легочной гипертензии, и этот эффект, по-видимому, опосредуется через специфические рецепторы к эстрадиолу, так как совместное введение блокатора рецепторов к эстрадиолу и самого гормона не приводит к развитию ЛАГ у этих животных. При измерении прямым способом системного артериального давления выявлено уменьшение данного параметра у крыс, получавших эстрадиол в дозе 15 мкг/кг в день (Ов/Е₂ – 15), в сравнении с контролем (Ов/к) на 10 % ($102,1 \pm 3,1$ vs $92,3 \pm 2,8$ мм рт. ст.; $p < 0,05$), рис. 3. Таким образом, в большом круге кровообращения наблюдается эффект, противоположный тому, что наблюдается в малом круге кровообращения: в малом круге Е₂ инициирует развитие ЛАГ у овариэктомированных крыс, в то время как в сосудах большого круга кровообращения наблюдается проявление протекторного действия эстрадиола [11]. У животных, получавших блокатор эстрадиоловых рецепторов ICI 182,780 в дозе 150 мкг/кг, системное артериальное давление снизилось относительно контроля на 13 % (Ов/к) ($88,7 \pm 3,7$ vs $102,1 \pm 3,1$ мм рт. ст.; $p < 0,05$). Данный факт можно объяснить тем, что одним из проявлений действия блокатора специфических эстрадиоловых рецепторов α и β является стимуляция третьего рецептора к эстрадиолу GPR30, расположенного на клеточной мембране. Он стимулирует выработку окиси азота и простаглицлина, которые вызывают расслабление гладкой мышцы и могут инициировать расслабление сосуда и уменьшение сосудистого сопротивления и артериального давления [11]. Однако при введении блокатора эстрадиоловых рецепторов в дозе 150 мкг/кг совместно с эстрадиолом в дозе 15 мкг/кг (Ов/Е₂ – 15 + бл) эффект уменьшения системного артериального давления, наблюдаемый при отдельном введении блокатора в дозе 150 мкг/кг в группе Ов/бл, не наблюдался ($99,3 \pm 3,8$ vs $102,1 \pm 3,1$ мм рт. ст.; $p < 0,05$). Полученные данные не позволяют говорить о протекторной роли эстрадиола в развитии гипоксической формы легочной гипертензии, в отличие от результатов, полученных при исследовании монокроталиновой и блеомициновой форм ЛАГ [9, 10]. Полученные данные указывают также на то, что эффект инициации эстрадиолом развития легочной гипертензии опосредован через специфические α и β рецепторы к Е₂.

ВЫВОДЫ

1. При хроническом действии гипоксии у овариэктомированных самок крыс линии Wistar хронически вводимый эстрадиол в дозах 15 и 60 мкг/кг в день ини-

цирует развитие легочной гипертензии, о чем свидетельствует увеличение систолического правожелудочкового давления на 15 и 12,5 % соответственно по сравнению с контролем.

2. Блокада эстрадиоловых рецепторов снимает развитие гипоксической формы легочной гипертензии у овариэктомированных самок крыс линии Wistar.

3. Выявлено уменьшение системного артериального давления у овариэктомированных крыс с гипоксической формой легочной гипертензии, что свидетельствует о разнонаправленном влиянии эстрадиола: в малом круге эстрадиол усиливает развитие легочной артериальной гипертензии, а в большом — женский половой гормон уменьшает изменения, вызванные действием хронической гипоксии.

Работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-00845-а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю. О. Ковалева, М. М. Артемьева, М. Е., Илатовская и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **75**(12), 19 – 21 (2012).
2. О. П. Кундузова, А. Н. Мурашев, Н. А. Медведева, О. С. Медведев, *Экспер. и клин. фармакол.*, **60**(4), 32 – 34 (1997).
3. G. E. D'Alonzo, R. J. Barst, S. M. Ayres, et al., *Ann Intern Med.*, **115**(5), 343 – 349 (1991).
4. D. Q. Xu, Y. Luo, Y. Liu, et al., *Respir Res.*, **11**, 182 (2010).
5. Y. Fukumoto, H. Shimokawa, *Circ J.*, **75**, 1801 – 1810 (2011).
6. L. Fuso, F. Baldi, A. Di Perna, *Front Pharmacol.*, **2**, 21 (2011).
7. M. Gerova, F. Kristek, *Physiol. Res.*, **50**(2), 165 – 173 (2001).
8. E. S. Hoendermis, *Neth Heart J.*, **19**, 514 – 522 (2011).
9. R. A. Khalil, *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.*, **8**(1), 29 – 46 (2010).
10. T. Lahm, M. Albrecht, A. J. Fisher, et al., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **185**(9), 965 – 980 (2012).
11. G. R. A. do Nascimento, Y. V. Barros, A. K. Wells and R. A. Khalil, *Curr Hypertens Rev.*, **5**(4), 283 – 306 (2009).
12. M. E. Pugh, A. R. Hemnes, *Expert Rev Cardiovasc Ther.*, **8**(11), 1549 – 1558 (2010).
13. G. Simonneau, N. Galie, L. J. Rubin, et al., *J. Am. Coll Cardiol.*, **43**, 5S – 12S (2004).
14. S. P. Tofovic, X. Zhang, E. K. Jackson, et al., *Vascul Pharmacol.*, **45**(6), 358 – 367 (2006).
15. S. P. Tofovic, X. Zhang, E. K. Jackson, et al., *Vascul Pharmacol.*, **51**(2 – 3), 190 – 197 (2009).

Поступила 09.04.13

CHRONIC ADMINISTRATION OF ESTROGEN RECEPTORS ANTAGONIST REDUCES DEGREE OF HYPOXIA-INDUCED PULMONARY HYPERTENSION CAUSED BY CHRONIC INJECTIONS OF ESTROGEN IN OVARIECTOMISED FEMALE WISTAR RATS

Yu. O. Kovaleva, M. M. Artemyeva, O. S. Medvedev, and N. A. Medvedeva

Moscow State University, Lomonosovskii prosp. 31, 5, Moscow, 119192, Russia

As we showed previously, administration of estradiol in different doses (5 and 15 mcg per day for 21 day) initiates the development of pulmonary arterial hypertension (PAH) in ovariectomised female Wistar rats. The aim of current study was to analyze the involvement of antagonist of estrogen receptors type α - and β - ICI 182,780 (fulvestrant) in development of hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension. Ovariectomised female rats were separated into 5 groups received subcutaneously for 1 month : 1. Estrogen 15 mcg per day. 2. Estrogen 60 mcg per day 3. Antagonist of estrogen receptors type α - and β - fulvestrant 150 mcg per day. 4. Estrogen 15 mcg/d + fulvestrant 150 mcg/d. 5. Propylenglycol as a control group. PAH was induced by exposure to hypobaric hypoxia. Rats were housed in a hypobaric chamber at simulated altitude of 5000 m, 10 h a day, 2 wk (O_2 concentration reduced to 10%). We suppose that the development of pulmonary hypertension in ovariectomised female Wistar rats caused by administration of estrogen (15 mcg and 60 mcg per day for 1 month) is mediated by estrogen receptors type α - and β -.

Key words : pulmonary hypertension; chronic hypoxia; right ventricular blood pressure; female rats; ovariectomy; sex hormones; estradiol; blocker of estrogen receptors; ICI 182,780; fulvestrant