

ФАРМАКОЛОГИЯ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

ВОССТАНОВЛЕНИЕ РЕАКТИВНОСТИ ЛЕГОЧНЫХ СОСУДОВ НА СОСУДОСУЖИВАЮЩИЕ АГЕНТЫ У КРЫС С МОНОКРОТАЛИНОВОЙ ФОРМОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БЛОКАДЕ ТРАНСПОРТЕРА СЕРОТОНИНА

В. В. Кожевникова, Н. А. Медведева¹

Исследовали дозозависимое изменение реактивности сосудов малого круга кровообращения на фенилэфрин и серотонин у крыс с монокроталиновой формой легочной гипертензии (МКТ-ЛГ) при хроническом применении флуоксетина. Показано, что флуоксетин способствует уменьшению констрикторного ответа легочных сосудов, повышенного у животных с МКТ-ЛГ. Полученные данные свидетельствуют о восстановлении реактивности легочных сосудов при хроническом применении флуоксетина у животных с МКТ-ЛГ.

Ключевые слова: монокроталиновая форма легочной гипертензии, флуоксетин, транспортер серотонина, фенилэфрин, серотонин, изолированные легочные сосуды крыс

ВВЕДЕНИЕ

Одним из факторов патогенеза легочной гипертензии (ЛГ) является серотонин, который способен модулировать тонус сосудов [2, 6]. Вазоконстрикторный эффект серотонина опосредован через 5-НТ_{1B/D} рецептор, расположенный на поверхности гладкомышечных клеток, экспрессия которого увеличивается при монокроталиновой форме ЛГ [5, 10]. Но вопрос о вкладе рецепторов серотонина в патогенез легочной гипертензии недостаточно изучен. В настоящее время изучается действие блокаторов транспорта серотонина на развитие легочной гипертензии на различных объектах [3, 7, 8]. Эти работы предполагают возможность применения в будущем блокаторов транспорта серотонина для лечения легочной гипертензии. В связи с изложенным представленная работа была направлена на изучение влияния хронического применения одного из блокаторов транспорта серотонина — флуоксетина — на реактивность сосудов малого круга кровообращения у крыс с легочной гипертензией, вызванной введением монокроталина.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 32 половозрелых крысах самцах линии Вистар массой 150–200 г. Для создания физиологической модели ЛГ 17 животным подкожно под эфирным наркозом инъецировали водно-спиртовой раствор алкалоида монокроталина (МКТ) в дозе

60 мг/кг в объеме 0,5 мл. Остальным животным вводили 60 % спиртовой раствор в том же объеме [1, 4]. Через неделю каждая из этих групп крыс была разделена также на две группы: крысы первой группы получали флуоксетин при помощи желудочного катетера в дозе 10 мг/кг в сутки, крысы второй группы получали питьевую воду без флуоксетина [8]. Таким образом, через 4 нед после инъекции МКТ в эксперимент вступали 4 группы животных: контроль-контроль (К-К), контроль-флуоксетин (К-Ф), МКТ-контроль (МКТ-К) и МКТ-флуоксетин (МКТ-Ф). Крыс декапитировали и эксперименты проводили на изолированных сосудах.

В эксперименте использовали внутрileгочную артерию второго порядка, остальные ответвления, включая ответвления меньшего порядка данной артерии, перевязывали лигатурами. Длина изолированных сосудов была равна 4 мм. Для проведения опыта левую легочную артерию закрепляли на игле из нержавеющей стали с внутренним диаметром 0,5 мм так, чтобы дистальный конец сосуда оставался незакрепленным и сохранял всю рабочую поверхность эндотелия. Сосуды перфузировали с постоянным расходом, который составлял 2 мл/мин для внутреннего протока и 4 мл/мин для внешнего протока. Для перфузии использовали модифицированный физиологический раствор Кребса-Хенслайта (содержание веществ в мМ: NaCl — 118; KCl — 4,7; CaCl₂ — 3,3; MgSO₄ — 2,4; KH₂PO₄ — 1,18; глюкоза — 5,05; NaHCO₃ — 24,9; pH 7,4). Раствор аэрировали карбогеном (5 % CO₂, 95 % O₂) в течение 20 мин перед опытом; температуру раствора поддерживали на уровне 37–37,5°C. О реакции сосуда судили по изменению перфузионного давления. Исследование активного сосудистого тонуса начинали

¹ Кафедра физиологии человека и животных (зав. — проф. А. А. Каменский) Биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, 119992, Воробьевы горы, стр. 1, корп. 12.

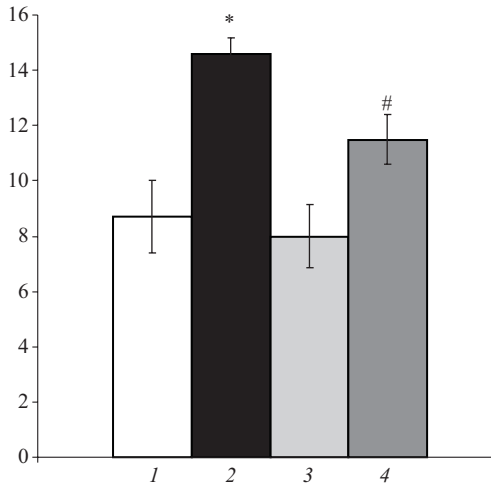


Рис. 1. Исходный тонус легочных сосудов животных групп К-К (1), МКТ-К (2), К-Ф (3) и МКТ-Ф (4), создаваемый перфузией физиологического раствора Кребса-Хенсляйта с постоянным расходом 2 мл/мин.

Отличия между группами животных, которым ежедневно внутривенно вводили воду или водный раствор флуоксетина достоверны при: # — $p < 0,05$. По оси ординат — перфузионное давление, мм рт. ст. Отличия МКТ групп по сравнению с соответствующими контрольными достоверны при * — $p < 0,01$.

после 20-минутной стабилизации сосуда. Для анализа констрикторной реакции были проведены опыты с перфузией разных концентраций серотонина и фенилэфрина — от $5 \cdot 10^{-8}$ М до $5 \cdot 10^{-5}$ М. Смену раствора на более концентрированный проводили после достижения плато ответа на предыдущую концентрацию. Данные экспериментов на изолированных сосудах представлены как величины перфузионного давления в мм рт. ст. за вычетом исходного тонуса сосудов, создаваемого перфузией физиологическим раствором.

Данные представлены в виде средних значений $\pm \mu$ ($\mu = SEM/\sqrt{n}$, где μ — стандартная ошибка среднего, SEM — стандартное отклонение, n — количество аргументов). Обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0, достоверность полученных результатов оценивали по непараметрическим критериям Манна-Уитни и Крускала-Уоллеса ANOVA. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что развитие ЛГ вызывает изменение исходного тонуса легочных сосудов, создаваемого перфузией физиологического раствора с постоянным расходом 2 мл/мин в сторону увеличения. Исходный тонус изолированных легочных сосудов животных группы МКТ-К ($14,6 \pm 0,6$ мм рт. ст.) был достоверно больше исходного тонуса животных группы К-К ($8,7 \pm 1,3$ мм рт. ст.) ($p < 0,01$). Достоверных различий между исходным тонусом легочных сосудов животных групп К-Ф ($8 \pm 1,1$ мм рт. ст.) и МКТ-Ф ($11,5 \pm 0,9$ мм

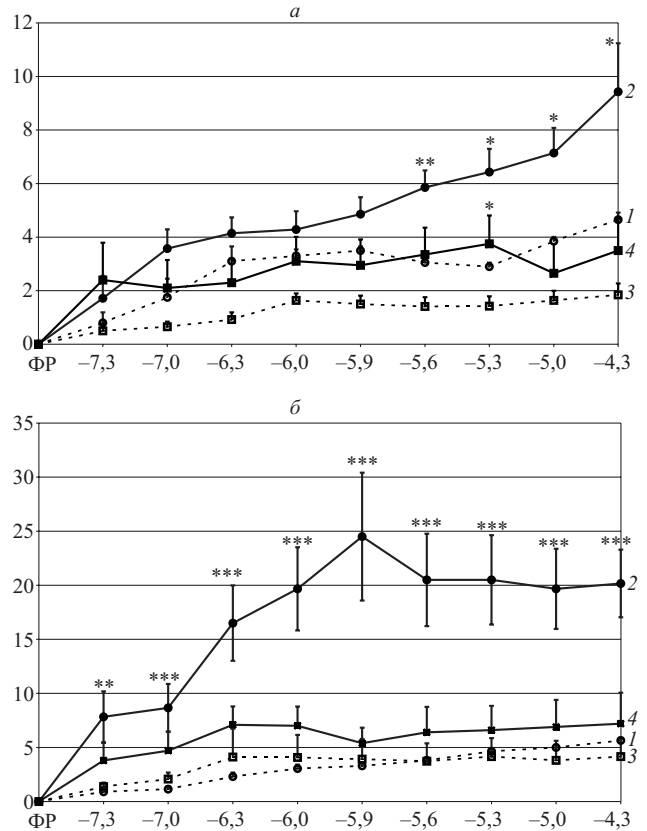


Рис. 2. Изменение перфузионного давления изолированных легочных сосудов животных групп К-К (1), МКТ-К (2), К-Ф (3) и МКТ-Ф (4) в ответ на перфузию фенилэфрина (а) и серотонина (б).

По оси ординат — перфузионное давление, Δ мм рт. ст; по оси абсцисс — логарифм концентрации фенилэфрина (а) и серотонина (б). Отличия МКТ групп по сравнению с соответствующими контрольными достоверны при: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$.

рт. ст.) не наблюдали ($p > 0,05$) (рис. 1). При сравнении исходного тонуса легочных сосудов животных групп К-К и К-Ф достоверных отличий не обнаружено ($p > 0,05$), в то время как сравнение исходного тонуса легочных сосудов животных групп МКТ-К и МКТ-Ф показало их наличие ($p < 0,05$). Таким образом, флуоксетин не влияет на исходный тонус легочных сосудов контрольных животных и достоверно уменьшает его у животных с монокроталиновой ЛГ.

Одним из проявлений легочной гипертензии является изменение реактивности сосудов малого круга кровообращения к констрикторным агентам, поэтому в нашей работе проводилось изучение дозозависимых ответов легочных сосудов на перфузию фенилэфрина и серотонина. При концентрации фенилэфрина $5 \cdot 10^{-8}$ М и $1 \cdot 10^{-7}$ М сужение сосудов у животных всех групп было незначительно, в ряде случаев ответ не возникал. В связи с этим данные концентрации фенилэфрина рассматривались как пороговые (рис. 2, а). В диапазоне концентраций фенилэфрина $5 \cdot 10^{-7}$ М — $5 \cdot 10^{-5}$ М у всех исследуемых групп животных на-

блюдалось достоверное увеличение сократительного ответа легочных сосудов, причем вазоконстрикция была прямо пропорциональна росту концентрации фенилэфрина. При концентрациях фенилэфрина $2,5 \cdot 10^{-6}$ М — $5 \cdot 10^{-5}$ М перфузионное давление изолированных легочных сосудов животных группы МКТ-К было достоверно выше, чем перфузионное давление легочных сосудов животных группы К-К. При сравнении перфузионного давления изолированных сосудов животных групп К-Ф и МКТ-Ф выявлена достоверность при концентрации фенилэфрина $5 \cdot 10^{-6}$ М. В диапазоне концентраций фенилэфрина $5 \cdot 10^{-7}$ М — $5 \cdot 10^{-5}$ М перфузионное давление изолированных легочных сосудов животных групп МКТ-К и К-К было достоверно выше, чем перфузионное давление легочных сосудов животных групп МКТ-Ф и К-Ф соответственно. Таким образом, ЛГ вызывает увеличение сократительного ответа легочных сосудов на перфузию фенилэфрина в диапазоне концентраций $2,5 \cdot 10^{-6}$ М — $5 \cdot 10^{-5}$ М. Хроническое применение флуоксетина уменьшает перфузионное давление у контрольных животных и у животных с монокроталиновой ЛГ.

Изучение реактивности изолированных легочных сосудов животных всех исследуемых групп к другому констриктору — серотонину — показало, что во всем диапазоне его концентраций происходит достоверное увеличение сократительного ответа легочных сосудов, причем вазоконстрикция прямо пропорциональна росту концентрации серотонина. При всех концентрациях серотонина перфузионное давление изолированных легочных сосудов животных группы МКТ-К было достоверно выше, чем перфузионное давление легочных сосудов животных группы К-К ($p < 0,01$), рис. 2, б. При сравнении перфузионного давления изолированных сосудов животных группы К-Ф с таковым у животных групп К-К и МКТ-Ф достоверных отличий не обнаружено. Таким образом, легочная гипертензия вызывает увеличение сократительного ответа легочных сосудов на перфузию серотонина во всем диапазоне концентраций. Хроническое внутрижелудочное введение флуоксетина не влияет на перфузионное давление контрольных животных и достоверно уменьшает перфузионное давление у животных с монокроталиновой ЛГ.

Легочная гипертензия — заболевание, которое характеризуется увеличением давления в малом круге кровообращения и гипертрофией правого желудочка сердца. При ЛГ происходит увеличение констрикторных реакций с последующим изменением диаметра просвета сосуда, которое начинается с пролиферации гладкомышечных клеток и гипертрофии гладких мышц средней оболочки сосудов [9]. Принимая во внимание изменение внутреннего диаметра легочных сосудов при развитии ЛГ, можно предположить наличие различий в исходном тоне данных сосудов. В

нашей работе в экспериментах на изолированных перфузируемых сосудах показано, что развитие ЛГ вызывает увеличение исходного тонууса легочных сосудов, в то время как хроническое применение флуоксетина достоверно уменьшает величину исходного тонууса сосудов малого круга кровообращения у животных с монокроталиновой ЛГ.

Согласно существующим представлениям серотонин является не только митогенным агентом, но и участвует в формировании сосудистого тонууса легочных сосудов при ЛГ через 5-HT_{1B} рецептор, экспрессия которого увеличивается при развитии заболевания [5, 10]. В нашей работе было проведено изучение констрикторных эффектов на серотонин и фенилэфрин изолированных легочных сосудов у животных с монокроталиновой ЛГ и на фоне хронического применения флуоксетина и без него. Констрикторный ответ легочных сосудов животных с ЛГ на серотонин в диапазоне концентраций $5 \cdot 10^{-8}$ — $5 \cdot 10^{-5}$ М был достоверно больше, чем сократительный ответ легочных сосудов контрольных животных в среднем в 7,3 раза. Хроническое применение флуоксетина в ходе развития ЛГ уменьшает сократительный ответ легочных сосудов во всем диапазоне используемых концентраций серотонина в группе МКТ-Ф до значений, полученных для групп К-К и К-Ф, что свидетельствует о том, что блокада транспортера серотонина приводит, по-видимому, к уменьшению количества или чувствительности рецепторов к серотонину. Этот эффект может вызывать уменьшение периферического сопротивления в малом круге кровообращения и способствовать улучшению состояния животных с ЛГ. Таким образом, показаны увеличение констрикторной реакции легочных сосудов в ответ на серотонин у животных с монокроталиновой ЛГ и ее уменьшение до уровня сократительного ответа контрольных животных при применении флуоксетина.

Изучались также эффекты другого констриктора — фенилэфрина в диапазоне концентраций $5 \cdot 10^{-8}$ — $5 \cdot 10^{-5}$ М, который действует через α_1 -адренорецепторы, расположенные на гладкомышечных клетках сосудов. Показано достоверное увеличение констрикторного ответа легочных сосудов животных группы МКТ-К по сравнению с контрольными животными в среднем в 2 раза. Флуоксетин уменьшал сократительную реакцию легочных сосудов до значений, полученных для контрольных животных, что свидетельствует об изменении чувствительности или количества α_1 -адренорецепторов. Таким образом, в нашей работе были показаны увеличение констрикторной реакции легочных сосудов в ответ на фенилэфрин у животных с монокроталиновой ЛГ и ее уменьшение до уровня сократительного ответа контрольных животных при применении флуоксетина.

ВЫВОДЫ

1. Длительная блокада транспортера серотонина уменьшает исходный тонус изолированных перфузируемых легочных сосудов у животных с монокроталиновой формой легочной гипертензии до уровня контрольных животных.

2. Хроническое применение флуоксетина приводит к уменьшению констрикторных реакций сосудов малого круга кровообращения на серотонин и фенилэфрин у животных с монокроталиновой легочной гипертензией.

3. Хроническое применение флуоксетина восстанавливает реактивность изолированных легочных сосудов животных с монокроталиновой формой легочной гипертензии к вазоконстрикторным факторам, что можно рассматривать как уменьшение проявления симптомов легочной гипертензии, вызванной инъекцией монокроталина.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. П. Давыдова, А. В. Постников, Л. В. Дьяконов, О. В. Любитский, *Рос. физиол. ж.*, **89**(12), 1516 – 1522 (2003).
2. A. P. Fishman, *Chest*, **1114**(3), 242 – 247 (1998).
3. C. Guignabert, B. Raffestin, R. Benferhat, et al., *Circ.*, **111**, 2812 – 2819 (2005).
4. K. M. Ito, M. Sato, K. Ushijima, et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **279**(4), H1786 – H1795 (2000).
5. M. R. MacLean, P. Hearve, S. Eddahibi, and S. Adnot, *Br. J. Pharmacol.*, **131**, 161 – 168 (2000).
6. M. R. MacLean, *J. Lab. Clin. Med.*, **134**, 105 – 114 (1999).
7. E. Marcos, E. Fadel, O. Sanchez, et al., *Circ. Res.*, **94**, 1263 – 1270 (2004).
8. E. Marcos, S. Adnot, M. H. Pham, et al., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **168**, 487 – 493 (2003).
9. P. M. Russo-Magno and N. S. Hill, *Hosp. Pract.*, **36**(3), 29 – 32, 37 – 40 (2001).
10. H.-L. Wang, X. Dong, X.-H. Zhang, and J. Xing, *Acta Pharmacol. Sin.*, **22**(3), 269 – 273 (2001).

Поступила 20.04.07

CHRONIC BLOCKADE OF SEROTONIN TRANSPORTER PROMOTES RESTORATION OF THE SENSITIVITY OF PULMONARY VESSELS TO VASOCONSTRICTIVE AGENTS IN RATS WITH MONOCROTALINE-INDUCED PULMONARY HYPERTENSION

V. V. Kozhevnikova and N. A. Medvedeva

Chair of Human and Animal Physiology, Department of Biology, Moscow State University, Moscow GSP-2, 119992, Russia

Dose-dependent change of the reactivity of pulmonary vessels with respect to serotonin and phenylephrine were investigated in rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension caused by the chronic administration of fluoxetine. It was found that the treatment with fluoxetine favors a decrease of the vasoconstrictive response in pulmonary vessels. The results suggest that the chronic administration of fluoxetine can restore the reactivity of pulmonary vessels and eliminate the symptoms of pulmonary hypertension.