

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2000

УДК 616.441-008.61-06:616.1-008.11-092.9

Л. С. Лукша, И. М. Багель, Л. М. Лобанок

СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ И ЭНДОТЕЛИЙЗАВИСИМЫЕ ДИЛАТАТОРНЫЕ РЕАКЦИИ АОРТЫ ПРИ ГИПЕРТИРЕОЗЕ

Лаборатория физиологии (руководитель — проф. Л. М. Лобанок) Института радиобиологии Национальной академии наук Республики Беларусь, Минск

Развитие гиперемии при гипертиреозе может быть обусловлено не только увеличением активности β -адренергической системы, но и усилением эндотелиальных влияний на тонус гладкомышечных клеток. Состоятельность этой гипотезы подтверждается результатами данной работы, цель которой заключается в изучении роли эндотелия в регуляции функциональной активности артериальных сосудов при гипертиреозе. Исследования выполнены на изолированных сегментах аорты эутиреоидных и гипертиреоидных крыс-самок. Изучали сократительные и эндотелийзависимые дилататорные реакции препаратов аорты при действии норадреналина и карбахолина соответственно. Установлено, что при гипертиреозе сократительные реакции аорты на норадреналин ослабевают в результате снижения чувствительности гладкомышечных клеток к данному агонисту и усиления ингибирующего влияния эндотелия на эти реакции. Дилататорные эндотелийзависимые реакции изолированной аорты при гипертиреозе усиливаются. Предполагается, что усиление дилататорных эффектов карбахолина обусловлено эндотелиальным гиперполяризующим фактором за счет повышения эффективности его действия в результате тироксин-стимулирующего увеличения числа единиц Na^+ , K^+ -АТФазного насоса. Результаты выполненных исследований свидетельствуют о важной роли эндотелия в механизмах гипертиреоидного нарушения кровообращения.

To prove the hypothesis that onset of hyperthyroidism may be attributed not only to hyperactivity of beta-adrenergic system but also to enhanced endothelial impacts on the tone of smooth muscle cells, the authors studied the role of endothelium in regulation of functional activity of arterial vessels in hyperthyroidism. The experiments were made on isolated aortic segments of euthyroid and hyperthyroid female rats. Contractile and endothelium-dependent dilatations of the aortic segments in response to noradrenaline and carbacholine, respectively, were studied. It was shown that in hyperthyroidism contractile reactions of the aorta to noradrenalin are less expressed as a result of low sensitivity of the smooth muscle cells to this agonist and strong inhibitory effect of endothelium on these reactions. Dilatatory endothelium-dependent reactions of the isolated aorta in hyperthyroidism are more expressed. Enhancement of carbacholine dilatatory effects may be due to endothelial hyperpolarising factor, whose efficiency grows with a thyroxine-stimulated rise in the number of units of the $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ pump. The findings indicate an essential role of endothelium in mechanisms of hyperthyroid circulatory disorders.

Нарушения кровообращения при дисфункциях щитовидной железы в значительной степени определяют клинику, тяжесть и исход этих заболеваний. В частности, при гипертиреозе развивается гиперфункция сердца за счет усиления сократимости миокарда и увеличения сердечного выброса [8]. Наряду с этим при тиреотоксикозе снижается общее периферическое сопротивление и угнетаются сократительные реакции кровеносных сосудов, что обуславливает увеличение периферического кровотока [12].

По мнению многих исследователей, при гипертиреозе увеличивается активность адренергической системы [4, 14], стимуляция β -рецепторов которой оказывает положительное хронотропное и инотропное действие на сердце, вызывает расслабление сосудов. Еще недавно усиление β -адренергической вазодилатации рассматривалось в качестве основной и практически единственной причины гиперемии при гипертиреозе [4]. В последние годы получены результаты, согласно которым тироксин увеличивает эндотелийзависимое расслабление, что, очевидно, также имеет важное значение в механизме возникновения реактивной гиперемии [14]. С другой стороны, в работе Lockette и соавт. [10] на изолированных препаратах аорты гипертиреоидных крыс обнаружено угнетение эндотелийзависимых и эндотелийнезависимых дилататорных реакций при действии ацетилхолина, кальциевого ионофора A23187 и нитропруссиды натрия, тогда как сократи-

тельные реакции на фенилэфрин были на уровне таковых у эутиреоидных животных.

Таким образом, к настоящему времени отсутствует единая система представлений о механизмах гипертиреоидного нарушения кровообращения, что и обусловило проведение нами исследований роли эндотелия в регуляции функциональной активности сосудов при гипертиреозе.

Материалы и методы

Исследования выполнены на изолированных сегментах аорты эутиреоидных и гипертиреоидных крыс-самок. Гипертиреоз вызывали введением в рацион 2,5-месячных животных препарата "Эутирокс 100" (тироксин) из расчета 250 мкг на 1 кг массы в течение 3 нед. Животных наркотизировали тиопенталом-натрия (40 мг/кг).

Изучали сократительные и дилататорные реакции изолированных сегментов грудной части аорты с интактным эндотелием и дезэндотелизованных. При приготовлении препаратов и регистрации сосудистых реакций на действие вазоактивных веществ использовали классический метод работы с изолированными сосудами в нашей модификации [2, 6]. После предварительного сокращения сосудистых сегментов, вызванного норадреналином (10^{-9} — 10^{-7} М), определяли дилататорные реакции аорты на агонист

М-холинорецепторов карбахолин (10^{-7} — 10^{-4} М). Величину расслабления выражали в процентах от силы сокращения сегментов при действии $5 \cdot 10^{-7}$ М норадреналина. Ингибирующее влияние эндотелия на величину сократительных реакций гладкомышечных клеток при действии норадреналина определяли по разнице силы сокращения интактных и деэндотелизованных сосудистых сегментов, которую выражали в процентах по отношению к силе сокращения деэндотелизованных препаратов. Количественное описание зависимости величины сосудистой реакции от концентрации агониста проводили на основании уравнения Хилла, параметры которого определены методом нелинейной регрессии. Статистическую обработку полученных результатов проводили на ПЭВМ, используя *t*-критерий Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Развитие гипертиреоза у экспериментальных животных оценивали прежде всего по концентрации тиреоидных гормонов в сыворотке крови. К моменту исследований в группе подопытных крыс была повышена концентрация как тироксина ($132,1 \pm 31,0$ нмоль/л против $49,1 \pm 9,7$ нмоль/л у контрольных животных), так и трийодтиронина ($2,03 \pm 0,47$ и $0,95 \pm 0,14$ нмоль/л соответственно). Во-вторых, у гипертиреоидных крыс развивалась гипертрофия миокарда, о чем свидетельствовало увеличение отношения массы сердца к массе тела ($5,80 \pm 0,08$ мг/г, у контрольных — $4,87 \pm 0,13$ мг/г; $p < 0,05$) при одинаковой массе тела: $234,2 \pm 5,9$ и $247,5 \pm 9,1$ г соответственно.

Неспецифический агонист адренергических рецепторов норадреналин вызывает увеличение тонуса изолированных сегментов аорты, что свидетельствует о преобладании его α_1 -адренергических констрикторных эффектов над дилататорными, опосредуемыми α_2 - и β_2 -адренорецепторами. У гипертиреоидных животных сократительные реакции аорты на норадреналин были снижены (рис. 1). В частности, при концентрации агониста в растворе $5 \cdot 10^{-7}$ М величина констрикторного ответа изолированных сегментов аорты гипертиреоидных крыс была на 38% ($p < 0,05$) меньше по сравнению с соответствующими контрольными значениями. Важно отметить, что при более низких концентрациях норадреналина в растворе различия в силе сокращения препаратов эутиреоидных и гипертиреоидных животных значительно меньше (см. рис. 1).

Эти результаты согласуются с данными литературы. Известно, что при гипертиреозе прежде всего уменьшается максимальный эффект вазоконстрикторов и в меньшей степени — чувствительность сосудистых рецепторов к действию их специфических агонистов [7]. В ряде работ показано, что при гипертиреозе наступает угнетение максимальных сосудистых эффектов КС1 и селективного агониста α_1 -адренергических рецепторов фенилэфрина [12]. Механизмы этих изменений могут заключаться в уменьшении числа α_1 -адренергических рецепторов [7] и угнетении кальциевого тока через α_1 -адренорецепторзависимые кальциевые каналы [15].

Полученные на деэндотелизованных препаратах результаты свидетельствуют не только о снижении величины максимальной реакции гладкомышечных клеток в ответ на действие норадре-

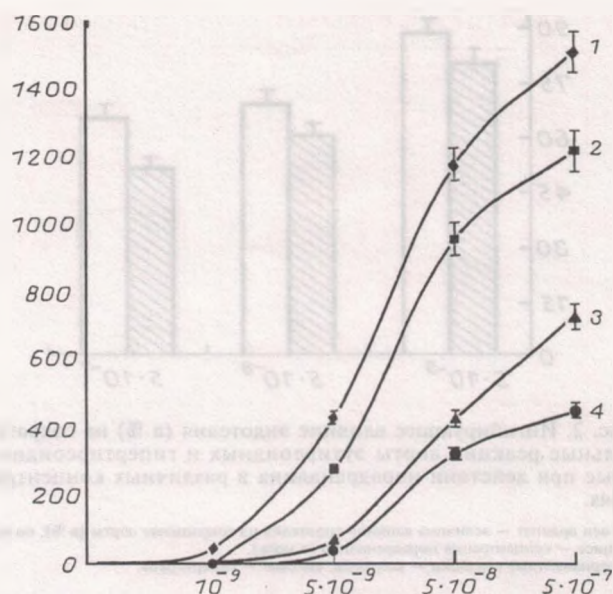


Рис. 1. Констрикторные эффекты норадреналина на препаратах аорты с эндотелием (3, 4) и без эндотелия (1, 2) у эутиреоидных (1, 3) и гипертиреоидных (2, 4) крыс.

По оси ординат — сила сокращения (в мг); по оси абсцисс — концентрация норадреналина (в моль).

налина, но и об уменьшении их чувствительности к исследуемому адреноагонисту: EC_{50} для деэндотелизованной аорты гипертиреоидных крыс на 58% больше этой же характеристики эутиреоидных животных — $21,5 \pm 1,9$ и $13,6 \pm 0,5$ нмоль соответственно ($p < 0,05$).

Интактный эндотелий имеет специфические α_2 -адренорецепторы, стимуляция которых норадреналином вызывает высвобождение из эндотелиоцитов монооксида азота (NO). Эндотелиальный NO свободно диффундирует к прилежащим гладкомышечным клеткам и вызывает их расслабление, реализуемое через активацию гуанилатциклазы. Поэтому сосудистые эффекты норадреналина — результат интеграции констрикторной реакции на стимуляцию α_1 -адренорецепторов гладкомышечных клеток и эндотелийзависимой дилататорной реакции на стимуляцию эндотелиальных α_2 -адренорецепторов. Кроме этого, NO высвобождается эндотелиоцитами спонтанно, без стимуляции каких-либо рецепторов [11]. Косвенным критерием эндотелийзависимой дилататорной компоненты эффектов норадреналина является величина ингибирующего влияния эндотелия на сокращение сосудов, которую рассчитывали, сравнивая эффекты норадреналина на деэндотелизованных и интактных препаратах аорты. Из рис. 2 видно, что ингибирующее влияние эндотелия у гипертиреоидных крыс больше, чем у эутиреоидных животных.

Существуют различия в чувствительности α -адренорецепторов к действию их неспецифических агонистов в разных концентрациях — при низких концентрациях стимулируются преимущественно α_2 -адренорецепторы, при более высоких α_1 -адренорецепторы [1]. Следовательно, при действии низких концентраций норадреналина функциональное значение имеет и спонтанное, и рецепторопосредованное высвобождение NO (через α_2 -адренорецепторы), а при более высоких — в основном спонтанное.

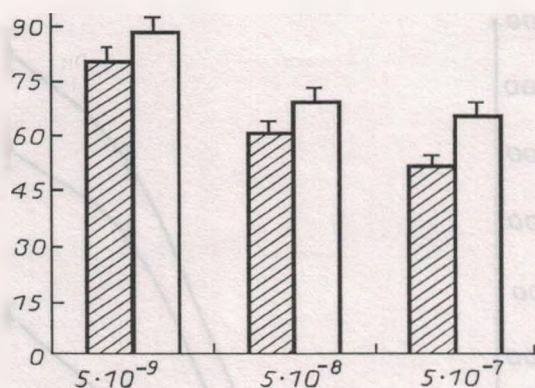


Рис. 2. Ингибирующее влияние эндотелия (в %) на сократительные реакции аорты эутиреоидных и гипертиреоидных крыс при действии норадреналина в различных концентрациях.

По оси ординат — величина влияния эндотелия на сокращение аорты (в %); по оси абсцисс — концентрация норадреналина (в моль).
Заштрихованные столбики — контроль; светлые — гипертиреоз.

С увеличением концентрации норадреналина в растворе различия в величине ингибирующего влияния эндотелия в опытных и контрольных исследованиях возрастали: при концентрации $5 \cdot 10^{-9}$ М они составляли 10%, при концентрации $5 \cdot 10^{-7}$ М — 26%. На основании этого можно полагать, что модификация эндотелиальной регуляции сократительных реакций сосудов при гипертиреозе обусловлена усилением в меньшей степени α_2 -адренорецепторстимулируемого и в большей степени спонтанного высвобождения NO. Эти данные согласуются с данными литературы, свидетельствующими о том, что при гипертиреозе наряду с модификацией сродства к агонистам α_1 - и β -адренорецепторов наблюдается относительная устойчивость механизмов, опосредуемых α_2 -адренорецепторами [5].

Усиление эндотелийзависимых реакций аорты при действии карбахолина, дилататорный эффект которого определяется высвобождением NO при стимуляции М-холинергических рецепторов, указывает на то, что при гипертиреозе подвергается модификации и М-холинергический рецепторстимулируемое высвобождение эндотелиального NO (рис. 3).

Определение конкретных механизмов усиления холинергических эндотелийзависимых реакций аорты при гипертиреозе требует дальнейших исследований. Тем не менее анализ собственных результатов и данных литературы позволяет высказать некоторые предположения по данному вопросу. В частности, установлено, что ингибирование синтеза NO полностью устраняет дилататорный эффект агонистов холинергических рецепторов для аорты эутиреоидных крыс, тогда как препараты аорты гипертиреоидных животных в этих условиях реализовали в среднем 20% расслабления от величины сокращения препарата на максимальную концентрацию норадреналина [12]. Именно в пределах этой величины наблюдалось усиление эндотелийзависимых вазодилататорных реакций аорты при действии карбахолина на сегменты аорты гипертиреоидных крыс в нашем исследовании (см. рис. 3). Следовательно, усиление холинергических эндотелиальных влияний при гипертиреозе происходит не только за счет NO, но и с участием других эндотелиальных медиаторов. Поскольку известно,

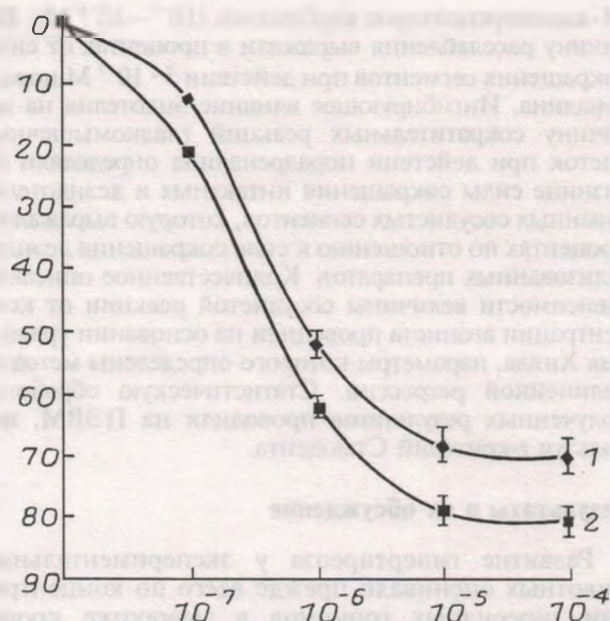


Рис. 3. Эндотелийзависимые дилататорные эффекты карбахолина у эутиреоидных (1) и гипертиреоидных (2) крыс.

По оси ординат — величина расслабления (в %); по оси абсцисс — концентрация карбахолина (в моль).

что простаглицлин не принимает участия в эндотелийзависимом расслаблении грудной аорты крысы [11], логично предположить, что усиление дилататорных эффектов обусловлено эндотелиальным гиперполяризующим фактором, химическая структура которого к настоящему времени не установлена [12].

Имеются отдельные сообщения о том, что эндотелиальный гиперполяризующий фактор играет определенную роль в развитии эндотелийзависимого расслабления магистральных сосудов крысы [13]. Кроме того, установлено, что эндотелиальный гиперполяризующий фактор гиперполяризует мембрану гладкомышечных клеток, активируя Na^+ , K^+ -АТФазу и открывая АТФ-чувствительные калиевые каналы [9]. Этот факт имеет важное значение для интерпретации полученных результатов, поскольку известно, что гормоны щитовидной железы повышают эффективность Na^+ , K^+ -АТФазного насоса за счет увеличения количества составляющих его единиц [3]. В связи с этим можно предположить, что при гипертиреозе прежде всего увеличивается не количество эндотелиального гиперполяризующего фактора, а эффективность его действия за счет тироксинстимулируемого увеличения числа единиц Na^+ , K^+ -АТФазного насоса как следствие этого внутриклеточной концентрации ионов K^+ , что является необходимым условием реализации вазодилататорного эффекта эндотелиального гиперполяризующего фактора на уровне гладкомышечных клеток. Эти предположения требуют дальнейших исследований.

Таким образом, гипертиреоз вызывает угнетение констрикторных и усиление дилататорных реакций артериальных сосудов. Наступающие изменения обусловлены, с одной стороны, уменьшением чувствительности гладкомышечных клеток сосудов к действию вазоконстрикторов (норадреналин), с другой — активацией спонтанного и рецеп-

торопосредованного высвобождения эндотелиального релаксирующего фактора (NO) и, возможно, гиперполяризующего фактора. Данные регуляторные сдвиги являются одним из механизмов реактивной гиперемии, которая характерна для гипертиреоза.

Выводы

1. При гипертиреозе сократительные реакции аорты на норадреналин ослабевают в результате снижения чувствительности гладкомышечных клеток к данному агонисту и усиления ингибирующего влияния эндотелия на эти реакции.

2. Дилататорные эндотелийзависимые реакции изолированной аорты при гипертиреозе усиливаются. Усиление дилататорных эффектов карбахолина может быть обусловлено эндотелиальным гиперполяризующим фактором за счет повышения эффективности его действия в результате тироксинстимулируемого увеличения числа единиц Na^+ , K^+ -АТФазного насоса.

3. В механизмах гипертиреоидного нарушения кровообращения важная роль принадлежит усилению дилататорных влияний эндотелия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Габриелян Э. С., Амроян Э. А., Акопов С. Э. Физиология и фармакология сосудистой стенки. — Ереван, 1987.
2. Лобанок Л. М., Лукиш Л. С. // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1995. — Т. 35, № 2. — С. 269–273.
3. Марри Р., Греннер Д., Меуес П., Родуэлл В. Биохимия человека: Пер. с англ. — М., 1993. — Т. 1–2.
4. Chemla D., Levenson J., Valensi P. et al. // Am. J. Cardiol. — 1990. — Vol. 65, N 7. — P. 494–500.
5. Del Rio G., Zizzo G., Marrama P. et al. // Clin. Endocrinol. — 1994. — Vol. 40, N 2. — P. 235–239.
6. Furchgott R. F., Zawadzki J. V. // Nature. — 1980. — Vol. 288, N 5789. — P. 373–376.
7. Gunasekera R. D., Kuriyama H. // Br. J. Pharmacol. — 1990. — Vol. 99, N 3. — P. 541–547.
8. Klein I. // Am. J. Med. — 1990. — Vol. 88, N 6. — P. 631–637.
9. Komori K., Vanhoutte P. M. // Blood Vessels. — 1990. — Vol. 27. — P. 238–245.
10. Lockette W., Otsuka Y., Hirt E. // Agents Actions. — 1987. — Vol. 22, Suppl. — P. 125–132.
11. Luscher T. F., Vanhoutte P. M. // The Pulmonary Circulation and Acute Lung Injury. — New York, 1991. — P. 79–116.
12. McAllister R. M., Grossenburger V. D., Delp M. D., Laughlin M. H. // Am. J. Physiol. — 1998. — Vol. 274, N 5. — P. E946–E953.
13. Nagao T., Illiano S., Vanhoutte P. M. // Ibid. — 1992. — Vol. 263. — P. H1090–H1094.
14. Scivoletto R., Fortes Z. B., Garsia-Leme J. // Eur. J. Pharmacol. — 1986. — Vol. 129, N 3. — P. 271–278.
15. Stratton D. B., Morrow R. J. // Life Sci. — 1991. — Vol. 48. — P. 2207–2214.

Поступила 13.07.99

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2000

УДК 616.379-088.64-06:616.611-092.9

В. В. Полторак, Н. И. Горбенко, А. И. Гладких, О. В. Иванова

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА Е НА РАЗВИТИЕ НЕФРОПАТИИ У КРОЛИКОВ С ДИТИЗОНЫМ ДИАБЕТОМ

Лаборатория патофизиологии (зав. — проф. В. В. Полторак) Украинского научно-исследовательского института фармакотерапии эндокринных заболеваний, Харьков

Целью работы было исследование влияния витамина Е на развитие ранней стадии диабетической нефропатии в условиях экспериментального инсулинзависимого сахарного диабета. Абсолютную инсулиновую недостаточность воспроизводили путем внутривенной инъекции дитизона (35 мг на 1 кг массы тела) самцам кроликов породы шиншилла. Витамин Е (токоферол ацетат) применяли перорально в виде желатиновых капсул по 100 мг на кролика ежедневно в течение 2 мес. У животных, получавших витамин Е, отмечалось достоверное снижение базальной гипергликемии, повышение базальной инсулинемии и улучшение толерантности к глюкозе относительно диабетического контроля. Под влиянием витамина Е наблюдались нормализация повышенного дитизоном уровня холестерина, β -липопротеидов и снижение концентрации диеновых конъюгатов в сыворотке крови диабетических животных. Ангипротекторный эффект витамина Е, который проявлялся в снижении микроальбуминурии, массы почки и толщины базальной гломерулярной мембраны, обосновывает целесообразность его использования для предупреждения или ослабления клинической нефропатии у больных сахарным диабетом.

The effects of vitamin E (VE) on early-stage diabetic nephropathy were studied in experimental insulin-dependent diabetes mellitus. Absolute insulin deficiency was modelled with an intravenous injection of ditizone to male rabbits (35 mg/kg). Vitamin E (tocopherol acetate) was given orally as gelatin capsules, 100 mg per animal daily for 2 months. VE-fed rabbits exhibited a significant lowering of basal hyperglycemia, rise of basal insulinemia, and better glucose tolerance than diabetic control. VE also normalized ditizone-increased level of cholesterol, beta-lipoproteins and reduced concentrations of dienic conjugates in blood serum of the diabetic animals. Angioprotective effect of VE manifesting in lowering of microalbuminuria, mass of the kidney and thickness of basal glomerular membrane validates the efficiency of VE in prevention or attenuation of clinical nephropathy in patients with diabetes mellitus.

В настоящее время приблизительно у 35% больных инсулинзависимым сахарным диабетом (тип 1) и у 15% пациентов с инсулиннезависимой формой заболевания (тип 2) развивается одно из самых серьезных микрососудистых осложнений — диабетическая нефропатия [17]. Это клинический син-

дром, который характеризуется стойкой альбуминурией, ранним повышением артериального давления, неуклонным снижением уровня клубочковой фильтрации и высоким риском инвалидизации и смертности вследствие сердечно-сосудистой патологии [20].