

В. Ф. Сагач, М. М. Ткаченко, М. В. Шаповал

Залежність довжина — сила судинних гладеньких м'язів та система оксиду азоту за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну

На изолированных полосках воротной вены крыс показана роль хронического дефицита церебрального дофамина, вызванного повреждением мезостриатной дофаминергической системы мозга 6-гидроксидофамином и вклад системы оксида азота в реализацию зависимости длина — сила сосудистых гладких мышц. Выявлено существенное снижение сократительных ответов и увеличение жесткости сосудистых гладких мышц при их растяжении в условиях хронического дефицита мезостриатного дофамина. Показано их частичное восстановление после длительного введения животным предшественника оксида азота — L-аргинина. Сходные изменения отмечены на фоне блокады NO-синтазы и добавления L-аргинина при перфузии сосудистых препаратов интактных животных. Предполагается, что снижение сосудистой реактивности в условиях хронического дефицита мезостриатного дофамина обусловлено угнетением синтеза эндотелием оксида азота, а L-аргинин может быть использован для коррекции наблюдающихся сосудистых расстройств.

Вступ

Старіння та різні патологічні стани (атеросклероз, гіпертензія, реперфузійні пошкодження, ішемія тощо) супроводжуються структурними та функціональними змінами діяльності серцево-судинної системи [8, 10–12, 21]. За цих умов спостерігається потовщення судинної медіальної оболонки, збільшення розміру гладеньком'язових клітин і вмісту колагену в стінці судин, що призводить до підвищення її жорсткості [11, 15]. Показано пригнічення скорочувальних реакцій судинних гладеньких м'язів при реалізації залежності довжина — сила за умов експериментальної гіперхолестеринемії та спадкової артеріальної гіпертензії [8, 10].

Останнім часом показано, що ендотелій та біологічно активні речовини ендотеліального походження, як вазодилаторної (простациклін, оксид азоту), так і вазоконстрикторної дії (ендотелін, тромбоцитарноактивуючий фактор) беруть участь у регуляції судинного тону та формуванні судинних реакцій [3, 7, 9, 19, 22]. Старіння та патологічні стани часто супроводжуються зміною вивільнення NO і порушенням балансу між вазодилаторними та вазоконстрикторними факторами. Показано, що за цих умов спостерігається пригнічення ендотелійзалежних вазодилаторних реакцій та зміна скорочувальних реакцій судинних гладеньких м'язів при розтягуванні [8, 10, 12]. Вікові зміни супроводжуються зниженням синтезу церебрального дофаміну та його метаболітів внаслідок зменшення кількості дофамінергічних нейронів у мезостріатумі мозку [17]. При руйнуванні більше ніж 80% дофамінергічних нейронів з'являються симптоми паркінсонізму, які виявляються в порушенні рухів,

© В. Ф. Сагач, М. М. Ткаченко, М. В. Шаповал

постави та тонусу м'язів [1, 2]. Відомо, що при захворюванні паркінсонізмом у людини спостерігаються вазомоторні розлади [23], у тварин за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну (модель паркінсонізму) зменшуються активність NO-синтази, вміст NO_2^- у різних тканинах і пригнічуються ендотелійзалежні вазодилататорні реакції судин [5]. Введення попередника біосинтезу оксиду азоту L-аргініну може призводити до часткової корекції судинних порушень при різних патологічних станах [9, 18, 19].

Мета нашої роботи полягала у вивченні змін реакції довжина — сила судинних гладеньких м'язів і ролі системи L-аргінін — оксид азоту в реалізації цієї залежності в судинних гладеньких м'язах за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну.

Методика

Експерименти проведено на судинних препаратах ворітної вени 6–8-місячних щурів-самців лінії Вістар масою 280–380 г. Здійснено дві серії дослідів. У першій серії досліджували три групи тварин: I група — інтактні тварини (контроль); II — тварини з хронічним дефіцитом мезостріатного дофаміну; III — тварини з хронічним дефіцитом мезостріатного дофаміну, які одержували кожну добу L-аргінін (25 мг/кг, внутрішньоочеревинно, фірми «Sigma», США) впродовж 1,5 міс. Тварин, яких досліджували в II серії експерименту розділили також на три групи: I група — інтактні тварини (контроль); II — тварини, судинні препарати яких перфузували з додаванням інгібітора NO-синтази метилового ефіру N^ω-нітро-L-аргініну (L-NAME, 10^{-5} моль/л, фірма «Sigma», США); III — тварини, судинні препарати яких перфузували з додаванням L-аргініну (10^{-6} моль/л) після дії L-NAME (10^{-5} моль/л). Хронічний дефіцит мезостріатного дофаміну (модель паркінсонізму) у тварин відтворювали за допомогою одностороннього пошкодження мезостріатних дофамінергічних проєкцій зліва нейротоксином 6-гідроксидофаміном (6-ГОДА, 40 мг/кг, внутрішньоочеревинно, фірми «Sigma», США). Через 1,5–2 міс після відтворення моделі тварин використовували у дослідженнях. Для контролю міри ураження щурів вводили агоніст дофамінових рецепторів — апоморфін (0,5 мг/кг, внутрішньоочеревинно). У тварин втрата на ураженому боці понад 95 % дофамінергічних нейронів у чорній субстанції та 91 % у вентральному тегментальному полі проявлялась у вигляді 7–8 контрлатеральних обертів за 1 хв протягом 30 хв після введення агоніста [4]. У цьому дослідженні використовували тварин з аналогічними характеристиками. Судинні препарати довжиною 3–5 мм, завтовшки 1–1,5 мм і масою 1–2 мг отримували з ворітної вени печінки тварин після декапітації та відкриття черевної порожнини. Судинні смужки вміщували у термостатовану перфузійну камеру об'ємом 1 мл, де їх піддавали початковому пасивному розтягванню силою 2–2,5 мН і витримували 30 хв. Препарати перфузували розчином Кребса при 36,4–37 °С.

Скорочувальну активність судинних гладеньких м'язів вивчали за допомогою механоелектричного перетворювача 6MX1С у режимі, який був близький до ізометричного. Смужки дозовано розтягували до 8–14 мН і реєстрували зміну амплітуди фазних скорочень для отримання змін залежності довжина — сила гладеньких м'язів судин. За допомогою окулярного гвинто-

вого мікрометра МОВ-1-15^х вимірювали довжину смужок. Розраховували довжину м'яза, яка характерна для його максимального скорочення (L_{\max}) і жорсткість м'яза, що є співвідношенням приросту скорочувальної сили до змін довжини судинного препарата при його розтягуванні [14]. Обробку результатів здійснювали методом варіаційної статистики з використанням критерію *t* Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Додаткове розтягування смужок ворітної вени щурів (при вихідному розтягненні — 2–2,5 мН) силою 1–14 мН призводило до збільшення амплітуди фазних скорочень та жорсткості судинних гладеньких м'язів.

Перша серія досліджень. У контрольній групі тварин приріст сили скорочень при розтягуванні судин був істотнішим і найбільших значень (L_{\max}) він сягав при силі розтягування 8 мН. Приріст амплітуди фазних скорочень судинних гладеньких м'язів при цій силі розтягування становив $153,44\% \pm \pm 11,21\%$ відносно вихідного значення (рис. 1, *a*). Подальше розтягування супроводжувалося зменшенням сили скорочень судин.

У тварин II групи приріст сили скорочень судинних гладеньких м'язів був значно меншим. Максимальних значень він сягав при збільшенні сили розтягування до 6 мН і становив $57,5\% \pm 13,97\%$ відносно вихідного значення, що відповідає L_{\max} (див. рис. 1, *a*). Це вказує на зменшення величини відповіді відносно контролю на дозоване розтягування у тварин за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну і свідчить про те, що максимальне значення скорочувальної відповіді судинних гладеньких м'язів у щурів з хронічним дефіцитом мезостріатного дофаміну досягається при меншій силі розтягування, ніж у контрольній групі.

Таким чином, у тварин II групи встановлено зміщення ліворуч кривої амплітуда фазних скорочень — сила дозованого розтягування судинних гладеньких м'язів. Подальше збільшення сили розтягування (з 6 до 14 мН) призводило до зменшення приросту амплітуди фазних скорочень судинних гладеньких м'язів.

У тварин III групи виявляється достовірне підвищення фазної скорочувальної активності судинних гладеньких м'язів порівняно з II групою. Максимальний приріст амплітуди фазних скорочень у III групі досягався при силі розтягування 11 мН, $85,14\% \pm 4,19\%$, однак він був значно меншим, ніж у тварин I групи, але більшим порівняно з тваринами II групи. Це свідчить про те, що у тварин з хронічним дефіцитом мезостріатного дофаміну введення попередника оксиду азоту — L-аргініну призводить до збільшення скорочувальної відповіді судинних гладеньких м'язів на розтягнення і L_{\max} при цьому досягається при більшій силі розтягування, ніж у групі тварин, яким не вводили L-аргінін.

Таким чином, скорочувальні відповіді судинних гладеньких м'язів у тварин з хронічним дефіцитом мезостріатного дофаміну, які отримували L-аргінін були більш значними і досягалися при більшій силі розтягування ніж у тварин, які його не отримували. Раніше нами було показано, що зменшення приросту амплітуди скорочень міокарда при розтягненні могло бути зумовлене підвищенням його жорсткості внаслідок пригнічення синтезу оксиду

азоту [20]. У даній роботі нахил кривої, що відображала зміни жорсткості судинних гладеньких м'язів при розтягуванні був достовірно більшим для тварин II групи порівняно з контролем (див. рис. 1, б). Максимальне значення жорсткості у контрольних тварин при силі розтягування 14 мН становило

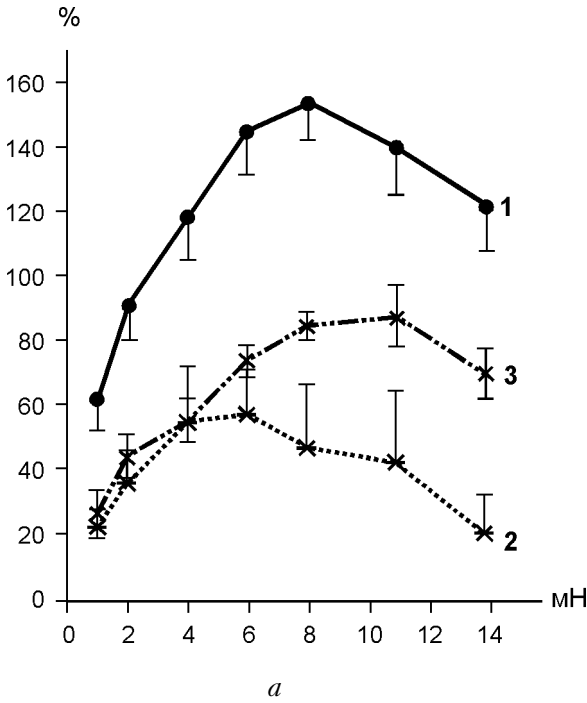
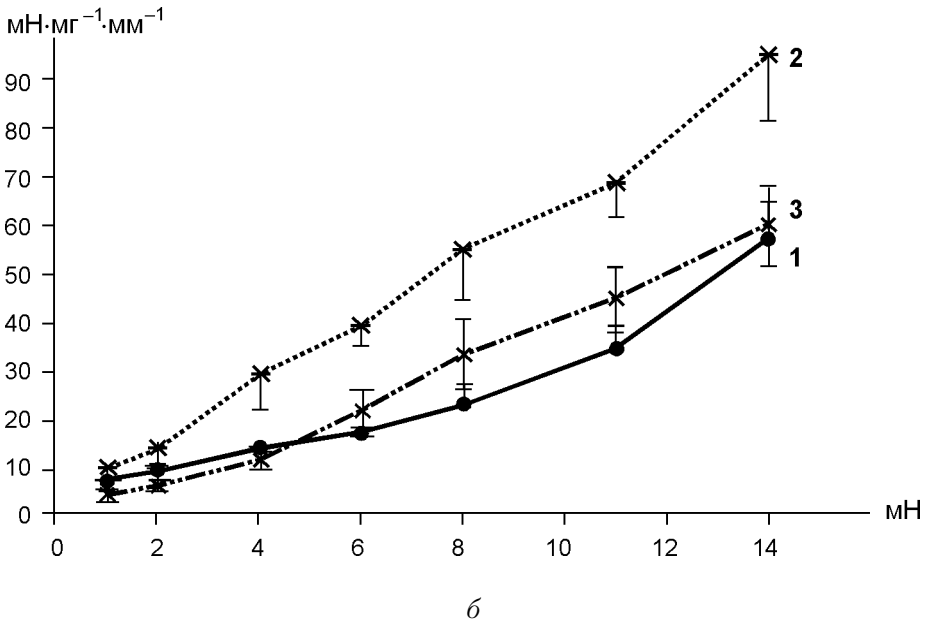


Рис. 1. Зміна амплітуди фазних скорочень (а) і жорсткості (б) судинних препаратів ворітної вени щурів при розтягуванні: 1 – контроль, 2 – тварини з хронічним дефіцитом мезостріатного дофаміну, 3 – тварини з хронічним дефіцитом мезостріатного дофаміну, які одержували кожен день L-аргінін.



57,72 мН·мг⁻¹·мм⁻¹ ± 7,5 мН·мг⁻¹·мм⁻¹, а в II групі — 96,03 мН·мг⁻¹·мм⁻¹ ± ± 13,78 мН·мг⁻¹·мм⁻¹, тобто на 68 % більше. Це свідчило про значне підвищення жорсткості судин у тварин за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну. У тварин III групи після введення L-аргініну нахил кривої жорсткості судин був істотно меншим, ніж у тварин II групи і він уже достовірно не відрізнявся від результатів I групи. Це свідчило про зменшення жорсткості судин у тварин за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну під впливом введення L-аргініну.

Раніше нами показано значне пригнічення NO-синтази, зниження вмісту NO₂⁻ у різних тканинах і ендотелійзалежних вазодилаторних реакцій за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну [4, 5], тому для з'ясування механізмів зменшення скоротливих відповідей судин на розтягування і збільшення їх жорсткості за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну (на моделі паркінсонізму) і визначення ролі системи оксиду азоту в розвитку вище зазначених змін реакцій судинних гладеньких м'язів проведено другу серію досліджень.

Друга серія досліджень. У II групі тварин пригнічення NO-синтази призводило до істотного зменшення приросту сили скорочень судинних гладеньких м'язів (рис. 2, а). Максимальний приріст скорочень при цьому становив лише 20,57% ± 4,12% і досягався він при силі розтягування 2 мН. Додавання при перфузії L-аргініну (III група) призводило до підвищення приросту сили скорочень судинних гладеньких м'язів і максимальне його збільшення спостерігалось при силі розтягування 4 мН. Подальше збільшення сили розтягування (до 14 мН) спричиняло зменшення приросту амплітуди фазних скорочень судинних гладеньких м'язів. Таким чином, приріст скорочувальних відповідей судин на розтягування суттєво зменшувався при пригніченні синтезу оксиду азоту і дещо відновлювався при додаванні L-аргініну. Схожі зміни жорсткості судин під впливом блокади синтезу оксиду азоту і при стимуляції його синтезу за допомогою L-аргініну спостерігались у цих груп тварин (див, рис.2, б). Додаткове розтягування судинних препаратів з силою (до 14 мН) призводить до збільшення жорсткості судинних гладеньких м'язів до 205,33 мН·мг⁻¹·мм⁻¹ ± 34,67 мН·мг⁻¹·мм⁻¹ у II групі тварин і до 119,82 мН·мг⁻¹·мм⁻¹ ± 10 мН·мг⁻¹·мм⁻¹ у III групі.

Нахил кривої жорсткості судинних гладеньких м'язів за умов перфузії L-NAME є достовірно більшим ніж у контролі, а за умов перфузії L-аргініну після дії L-NAME — меншим ніж на фоні перфузії L-NAME.

Залежність довжина — сила гладеньких м'язів — це здатність м'язів будь-якого типу при розтягуванні збільшувати скоротливе напруження без додаткової активації процесів, які пов'язані зі збудженням і скороченням. І. М. Сеченов визначив цю здатність як «дорогоцінну властивість м'язів» [13]. Зі збільшенням довжини гладеньких м'язів, сила скорочень, яку вони здатні розвивати, збільшується до максимуму при оптимальній довжині, а після перерозтягування гладеньких м'язів ця сила зменшується.

Ендотелій при дії різних агоністів і під впливом механічних факторів вивільняє вазоконстрикторні та вазодилаторні фактори [3, 7, 9, 21, 22]. Механічні впливи на ендотелій проявляються при розтягуванні судинної стінки та при змінах внутрішньосудинного тиску. Останні викликають деформацію

цитоскелету ендотеліальних клітин і призводять до вивільнення вазоактивних речовин, які впливають на скорочувальні реакції судинних гладеньких м'язів. Обмеженість цих впливів спостерігається при різних патологічних станах. Раніше нами була показана модулююча дія речовин ендотеліального походження на скорочувальні реакції судинних гладеньких м'язів у реалізації залежності довжина – сила [6].

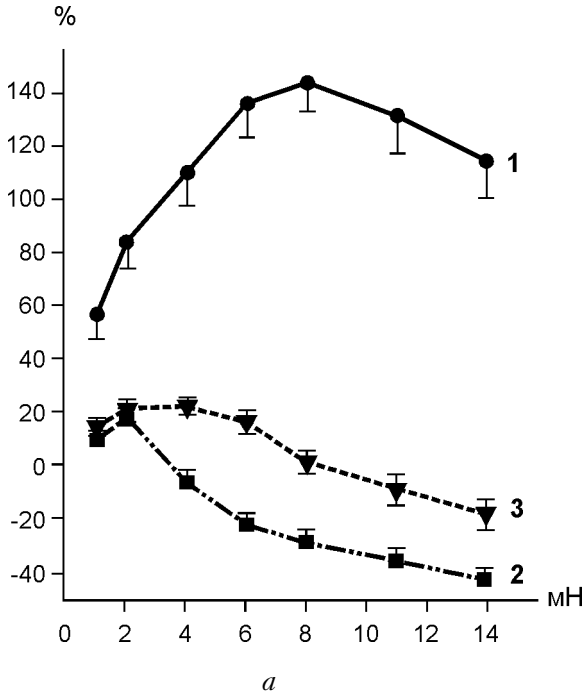
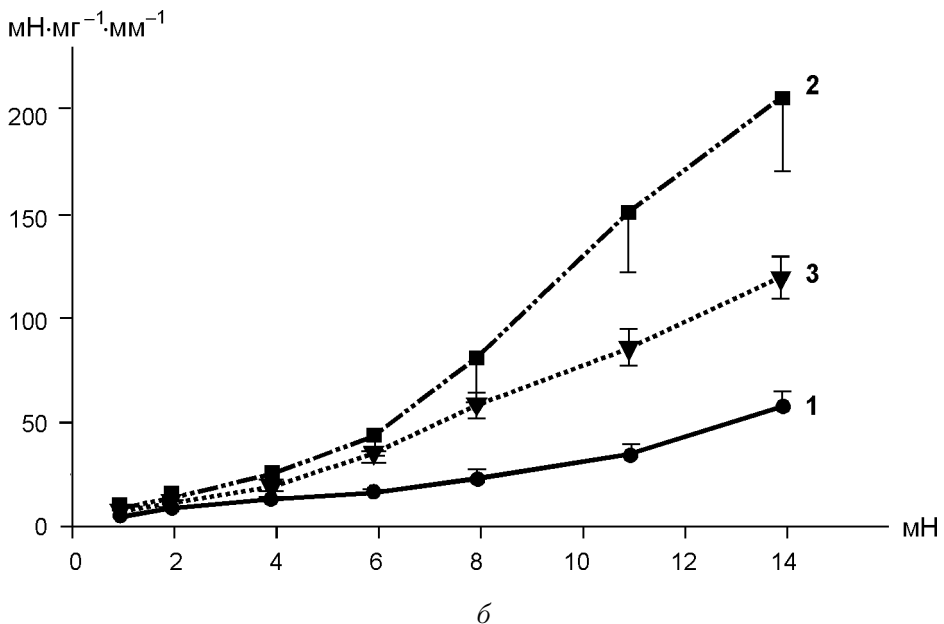


Рис. 2. Зміна амплітуди фазних скорочень (а) і жорсткості (б) судинних препаратів ворітної вени щурів при розтягванні: 1 — контроль, 2 — на фоні перфузії L-NAME, 3 — додавання L-аргініну на фоні перфузії L-NAME.



Отже, вищезгадані факти та раніше отримані нами дані про зменшення активності NO-синтази, вмісту NO_2^- у різних тканинах і зниження ендотелій-залежних вазодилаторних реакцій судин за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну у тварин [5] указують на те, що зміни скорочувальних реакцій і підвищення жорсткості судинних гладеньких м'язів пов'язані з пригніченням синтезу NO за цих умов. Відомо, що оксид азоту утворюється в ендотеліальних клітинах з L-аргініну під впливом NO-синтази та його введення може призводити до посилення синтезу оксиду азоту і часткової корекції судинних порушень при різних патологічних станах [9, 16, 18, 19]. Отримані нами результати свідчать, що за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну пролонговане введення тваринам L-аргініну частково відновлює скорочувальні реакції та нормалізує підвищену жорсткість судинних гладеньких м'язів. Подібні зміни скорочувальних реакцій та жорсткості відмічені нами також на фоні пригнічення NO-синтази та додавання L-аргініну при перфузуванні судинних препаратів інтактних тварин.

Таким чином, можна припустити, що зниження судинної реактивності за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну зумовлено пригніченням синтезу оксиду азоту ендотелієм, а L-аргінін можна використовувати для корекції судинних розладів, які спостерігаються за цих умов.

Подяка: Автори висловлюють щирю вдячність М. М. Олешку та С. О. Таланову за допомогу в моделюванні паркінсонізму у тварин.

V. F. Sagach, M. N. Tkachenko, M. V. Shapoval

LENGTH-TENSION RELATION IN VASCULAR SMOOTH MUSCLE AND NITRIC OXIDE PATHWAYS IN A CHRONIC MESOSTRIATAL DOPAMINE DEFICIENCY

This study investigated the influence of the chronic cerebral dopamine deficiency after 6-hydroxydopamine lesions of dopaminergic mesostriatal system and NO pathways on the length-tension relation in vascular smooth muscles to their distension. Experiments were performed on isolated strips of rat portal vein. The results indicate that the attenuated contraction responses and the increased stiffness of vascular smooth muscles to the distension in a chronic mesostriatal dopamine deficiency. It was found that these responses may be, in part, normalized after a long-term L-arginine administration. The same changes were marked in the responses of intact vascular strips after the inhibition of NO-synthase activity and L-arginine perfusion. It has been suggested that, in a chronic mesostriatal dopamine deficiency, the reduced vascular reactivity was due to the decreasing of NO synthesis by endothelium and L-arginine could be used in the treatment of these vascular disorders.

*A.A. Bogomoletz Institute of Physiology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вейн А. М., Голубев В. Л., Берзиньш Ю. Э. Паркинсонизм. – Рига: Зинатне, 1981. – 325 с.
2. Маньковский Н. Б., Вайншток А. Б., Олейник Л. И. Сосудистый паркинсонизм. – К.: Здоров'я, 1982. – 208 с.
3. Мойбенко О.О., Сагач В.Ф., Шаповал Л.М. та ін. Роль ендотелію та біологічно активних речовин ендотеліального походження в регуляції кровообігу і діяльності серця // Фізіол. журн. – 1997. – **43**, №1-2. – С. 3-18.
4. Сагач В.Ф., Базілюк О.В., Олешко М.М. та ін. Пошкодження середнього мозку та функція ендотелію: вплив нав'язаної фізичної активності і гіпоксії на рівень ендотелінів у крові // Нейрофізіологія / Neurophysiology. – 1998. – **30**, №1. – Р. 18-24.
5. Сагач В.Ф., Базілюк О.В., Олешко М.М. та ін. Система оксиду азоту за умов хронічного дефіциту церебрального дофаміну та гіпоксії // Фізіол. журн. – 1999. – **45**, №1-2. – С. 16-25.
6. Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н. Роль ендотелію во взаимоотношеннях довжина – сила судинних гладких м'язів // Докл. АН України. – 1993. – №10. – С. 168-172.
7. Сагач В.Ф. Ендотелін та серцево-судинна система // Фізіол. журн. – 1998. – **44**, №1-2. – Р. 103-111.
8. Ткаченко М.М. Скорочувальні реакції судинних гладеньких м'язів за умов гіперхолестеринемії та змін функціональної активності ендотелію // Там же. – 1997. – **43**, №1-2. – С. 57-63.
9. Ткаченко М.М. Оксид азоту та судинна регуляція // Журн. АМН України. – 1997. – **3**, №2. – С. 251-254.
10. Ткаченко М.М. Роль ендотелію в скорочувальних реакціях судинних гладеньких м'язів гіпертензивних щурів // Фізіол. журн. – 1997. – **43**, №5-6. – С. 89-95.
11. Фролькіс В.В., Безруков В.В., Кульчицкий О.К. Старение и экспериментальная патология сердечно-сосудистой системы. – К.: Наук. думка, 1994. – 248 с.
12. Фролькіс В.В., Базілюк О.В., Сыкало И.В. Роль ендотелію в возрастных изменениях реакцій судин до дійствию фізіологічески активних речовин і гіпоксії // Пробл. старения и долголетия. – 1993. – **3**, №2. – С. 83-90.
13. Хаютин В.М., Рогоза А.И. Регуляция кровеносных сосудов, порождаемая приложенными к ним механическими силами. – В кн.: Руководство по физиологии. Физиология кровообращения. Регуляция кровообращения. – Л.: Наука, 1986. – С. 37-66.
14. Brown V.P., Heistad D. Capacitance of the rabbit portal vein and inferior vena cava // J. Physiol. (London). – 1986. – **381**. – Р. 417-425.
15. Corman B., Duriez M., Poitevin P. et al. Aminoguanidine prevents age-related arterial stiffening and cardiac hypertrophy // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – **95**, №3. – Р. 1301-1306.
16. Forstermann U. Biochemistry and molecular biology of nitric oxide synthases // Arzneimittelforschung. – 1994. – **44**, №3A. – Р. 402-407.
17. Marshall J.F., Rosenstein A.J. Age-related decline in rat striatal dopamine metabolism in regionally homogeneous // Neurobiol. Aging. – 1990. – **11**, №2. – Р. 131-137.
18. Maxwell A.J., Cooke J.P. Cardiovascular effects of L-arginine // Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. – 1998. – **7**, №1. – Р. 63-70.
19. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology // Pharmacol. Rev. – 1991. – **43**, №2. – Р. 109-142.
20. Prendergast B.D., Sagach V.F., Shah A.M. Basal release of nitric oxide augments the Frank-Starling response in the isolated heart // Circulation. – 1997. – **96**, №4. – Р. 1320-1329.

21. *Rossitti S., Frangos J., Girard P.R., Bevan J.* Regulation of vascular tone // *Can. J. Physiol. and Pharmacol.* — 1995. — **73**, №5. — P. 544-550.
22. *Vane J.R.* The endothelium: maestro of the blood circulation // *Phil. Trans. Raj. Soc. London Ser. B. Biol. Sci.* — 1994. — **343**, №1304. — P. 225-246.
23. *Youdim M.B., Riederer P.* Understanding Parkinson's disease // *Sci. Am.* — 1997. — **276**, №4. — P. 52-59.

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця
НАН України, Київ*

*Матеріал надійшов
до редакції 11.10.99*

Ця стаття була представлена до редакції «Фізіологічного журналу» 11 жовтня 1999 р., а 14 жовтня трагічно обірвалося життя її співавтора — молодшого наукового співробітника відділу фізіології кровообігу Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

Марини Вікторівни Шаповал.

Вона була перспективним дослідником і завоювала авторитет та визнання у колег своєю наполегливою працею.

Марина Вікторівна була стипендіатом Президента НАН України.

Її смерть — це тяжка, непоправна втрата для колег та друзів.