

С.А.Бекузарова, А.С. Хромов, Л.Б. Долман, И.А. Бесланеев, Х.А. Курданов

Усиление вазодилатации на нитроглицерин в условиях высокогорья

После более чем столетнего успешного применения нитроглицерина в клинической практике ученым удалось выяснить, что в основе его терапевтического действия лежит высвобождение мощного вазодилаторного агента оксида азота (NO). Кроме того, в экспериментальных исследованиях было показано, что NO играет важную роль в механизмах вазодилатации при гипоксии. Поскольку нитроглицерин является донором экзогенного NO, а умеренная гипоксия способствует высвобождению эндогенного NO, мы предположили, что действие нитроглицерина может изменяться в условиях высокогорья. Для проверки этого предположения нами была проведена стандартная нитроглицериновая проба для здоровых людей в высокогорье и на равнине. При сопоставлении полученных результатов оказалось, что в условиях высокогорья прием нитроглицерина сопровождается достоверно более продолжительным снижением артериального давления и общего периферического сосудистого сопротивления. Таким образом, нами впервые показано, что высокогорная гипоксия увеличивает выраженность и продолжительность вызванной нитроглицерином периферической вазодилатации у здоровых людей. Это может быть обусловлено аддитивным вазодилаторным действием нитроглицерина и умеренной гипоксии. Полученные результаты следует учитывать при назначении экзогенных и эндогенных доноров оксида азота для лечения больных людей, находящихся в условиях высокогорья.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на самое широкое применение нитратов в клинической практике, для выяснения механизмов его терапевтического эффекта потребовалось более ста лет. В конце 70-х – начале 80-х годов XX века стало известно, что в основе вазодилаторного действия нитратов лежит высвобождение молекулы оксида азота (NO). Последующее за этим интенсивное изучение механизмов действия оксида азота в организме позволило установить, что его сосудорасширяющее действие связано с активацией растворимой гуанилатциклазы, которая преобразует находящийся в мышце неактивный гуанозинмонофосфат (ГМФ) в активный циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ). Это

приводит к увеличению внутриклеточного содержания последнего, снижению внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и расслаблению сосудистых гладких мышц [9, 18, 22, 23, 25]. Совсем недавно было показано, что биоактивация нитроглицерина для проявления вазорелаксации, так же, как и развитие толерантности к нитроглицерину, в значительной степени обусловлены активностью митохондриальной альдегиддегидрогеназы, которая специфически катализирует образование 1,2-глицерилдинитрата из нитроглицерина [10]. Оказалось, что альдегиддегидрогеназа обладает не только хорошо известной НАД-зависимой дегидрогеназной, но и эстеразной активностью, и ее каталитическое действие на нитроглицерин аналогично проявлению эстеразной активности с од-

ним важным исключением, заключающемся в том, что продуктом этой ферментативной реакции является нитрит- (NO_2^-), а не нитрат-анион (NO_3^-). Эти наблюдения хорошо согласуются с полученными ранее данными о том, что нитроглицерин распадается в тканях с образованием неорганического нитрит-аниона [17, 18]. Развитие толерантности к нитроглицерину сопровождается снижением активности митохондриальной альдегиддегидрогеназы и уменьшением накопления цГМФ в тканях. Образующийся в результате ферментативного распада нитроглицерина нитрит-анион в организме млекопитающих восстанавливается до мощного вазодилатора NO, который быстро окисляется с образованием нитрит- и нитрат-анионов, образуя, таким образом, замкнутый метаболический цикл. Особенно активно этот механизм начинает действовать в условиях гипоксии [5].

В многочисленных экспериментальных исследованиях *in vitro* и *in vivo* доказано, что гипоксия стимулирует синтез NO путем активации как ферментативного, так и неферментативного пути его образования в организме млекопитающих, что приводит к компенсаторной системной вазодилатации для обеспечения адекватной перфузии тканей в условиях недостатка кислорода [16, 20, 26, 28]. При этом NO способен действовать как прямой вазодилатор, стимулируя гуанилатциклазу и приводя к расслаблению гладких мышц, а также как непрямой вазодилатор, снижая продукцию вазоконстрикторных веществ [12] или вызывая гиперполяризацию клеток сосудистых гладких мышц и, тем самым, уменьшая их чувствительность к действию вазоконстрикторных агентов [11]. На активацию системы оксида азота в условиях гипоксии указывают и недавно полученные нами данные о значительном увеличении концентрации стабильных метаболитов NO

нитрат- и нитраанионов в крови жителей высокогорья [6].

Таким образом, гипоксию можно рассматривать как стимулятор продукции NO или иными словами – как своеобразный эндогенный донор этого мощного вазодилатора. Учитывая это мы предположили, что действие нитроглицерина может изменяться в условиях высокогорья. Специальные исследования, посвященные изучению особенностей вызванной нитроглицерином вазодилатации в условиях высокогорья, не проводились. Поэтому целью данной работы явилась оценка выраженности и продолжительности вазодилаторной реакции на одноразовое сублингвальное введение нитроглицерина у людей, проживающих в высокогорье.

МЕТОДИКА

Стандартная нитроглицериновая проба (0,5 мг сублингвально, однократно) была проведена для 24 здоровых жителей Приэльбрусья (2200 м над уровнем моря) в возрасте от 24 до 45 лет (10 мужчин и 14 женщин) и для 20 здоровых жителей равнины с аналогичным распределением по возрасту и полу.

При отборе обследуемых основное внимание уделялось исключению сердечно-сосудистой патологии, которая сопровождается нарушением функционального состояния эндотелия. Перед нитроглицериновой пробой пациентам проводили общеклиническое обследование и регистрировали электрокардиограмму и эхокардиограмму. Для исключения нестабильной гипертензии, а также симптоматической или ортостатической гипертензии артериальное давление измеряли в положении лежа после 5-минутного отдыха и через 2 мин после переведения в вертикальное положение. К обследованию допускались пациенты без признаков патологии на электрокардиограмме и эхокардиограмме, и сис-

толическое артериальное давление (АДс) в положении лежа у них было в пределах 100 – 139 мм рт. ст., диастолическое артериальное давление (АДд) – в пределах 60 – 89 мм рт. ст., а при проведении ортостатической пробы АДс снижалось менее чем на 20 мм рт.ст.

Перед обследованием каждому пациенту предоставляли информацию о цели, методике, объеме исследования, а также о возможных реакциях на введение нитроглицерина. Электрокардиограмму регистрировали с помощью интерпретирующего электрокардиографа (“Cardiette”, Италия), эхокардиограмму в В и М-режимах – с помощью ультразвукового аппарата “АЛОКА SSD-500” (Япония). АДс, АДд и частоту сердечных сокращений (ЧСС) определяли с помощью автоматического прибора для измерения артериального давления и пульса “Microlife® BP 2BH0” (Германия). Общее периферическое сопротивление (ОПС) рассчитывали общепринятым способом. Реакцию на введение нитроглицерина оценивали с помощью следующих показателей: АДс, АДд, ударный и минутный объемы крови (УОК, МОК соответственно), фракции выброса (ФВ), ЧСС и ОПС. В качестве основных критериев выраженности и продолжительности вазодилаторной реакции использовали значение АДс и ОПС. Регистрацию основных показателей кардиогемодинамики проводили до и после сублингвального введения нитроглицерина – вначале через каждую минуту в течение первых 15 мин после введения, а затем через каждые 5 мин вплоть до возвращения показателей к исходному уровню. Результаты исследования обрабатывали статистически с применением стандартной программы статистического анализа «Microsoft Excel».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнении основных показателей центральной гемодинамики у жителей рав-

нины и высокогорья до проведения нитроглицериновой пробы был выявлен ряд статистически достоверных различий, которые мы уже подробно описывали ранее [2]. Поэтому для сравнения вазодилаторной реакции на нитроглицерин у жителей равнины и высокогорья использовали не абсолютные, а относительные значения, нормированные по исходному значению до введения препарата.

При сопоставлении полученных результатов оказалось, что в условиях высокогорья прием нитроглицерина сопровождается более продолжительным падением артериального давления, чем на равнине. Степень и скорость снижения АДс на введение нитроглицерина в горах и на равнине достоверно не различалась (рис. 1). Максимальное снижение АДс отмечалось в обеих группах в среднем через 8 мин после введения нитроглицерина и составляло 9,8 % в группе жителей равнины и 11,1 % в группе жителей высокогорья ($P > 0,05$; результаты на рис. 1 не представлены). Однако, начиная с 15-й минуты у жителей равнины отмечалось постепенное увеличение АДс, и к 25-й минуте оно достоверно не отличалось от исходного уровня. В отличие от этого у жителей высокогорья значение АДс оставалось достоверно ниже исходного вплоть до 65-й минуты периода наблюдения. Межгрупповая достоверность абсолютных значений АДс отмечалась в период с 15-й по 60-ю минуту включительно. При сравнительном анализе относительных изменений АДс после однократного введения нитроглицерина жителям равнины и высокогорья (рис.2) были выявлены сходные различия, но статистически достоверные межгрупповые относительные изменения АДс отмечались в период с 20-й по 50-ю минуту периода наблюдения. Эти различия между динамикой абсолютного и относительного изменения АДс не существенны и могут быть обусловлены отно-

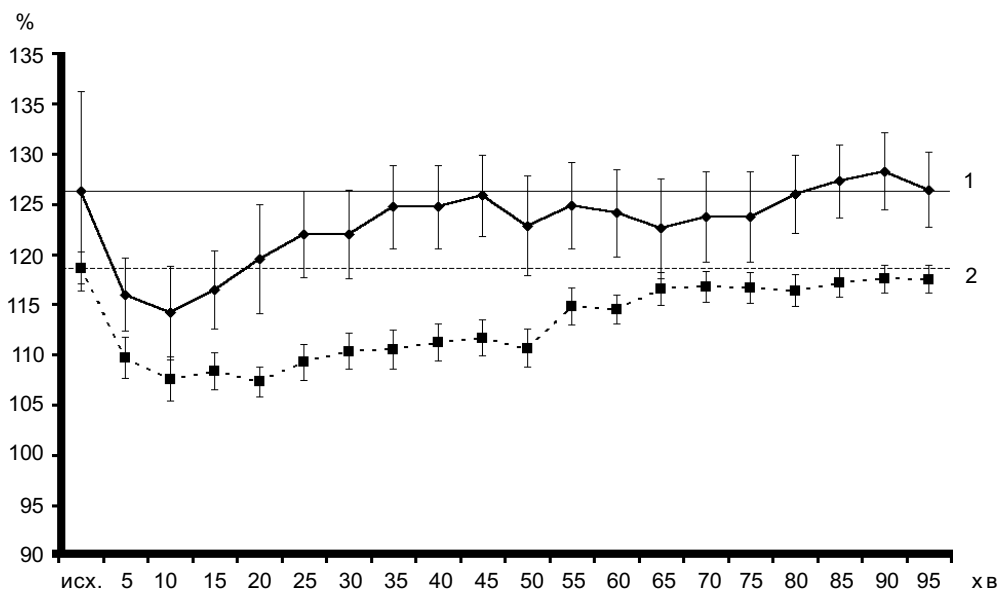


Рис. 1. Изменение систолического артериального давления у здоровых жителей равнины (1) и высокогорья (2) после сублингвального введения нитроглицерина

сительно небольшим количеством обследуемых в группах. Таким образом, выраженность и скорость максимального снижения АДс на введение нитроглицерина у здоровых жителей равнины и высокогорья не различается, однако продолжи-

тельность отрицательной баротропной реакции у жителей высокогорья более чем в 2 раза выше, чем на равнине.

При сопоставлении значений ОПС до введения нитроглицерина оказалось, что у жителей высокогорья этот показатель

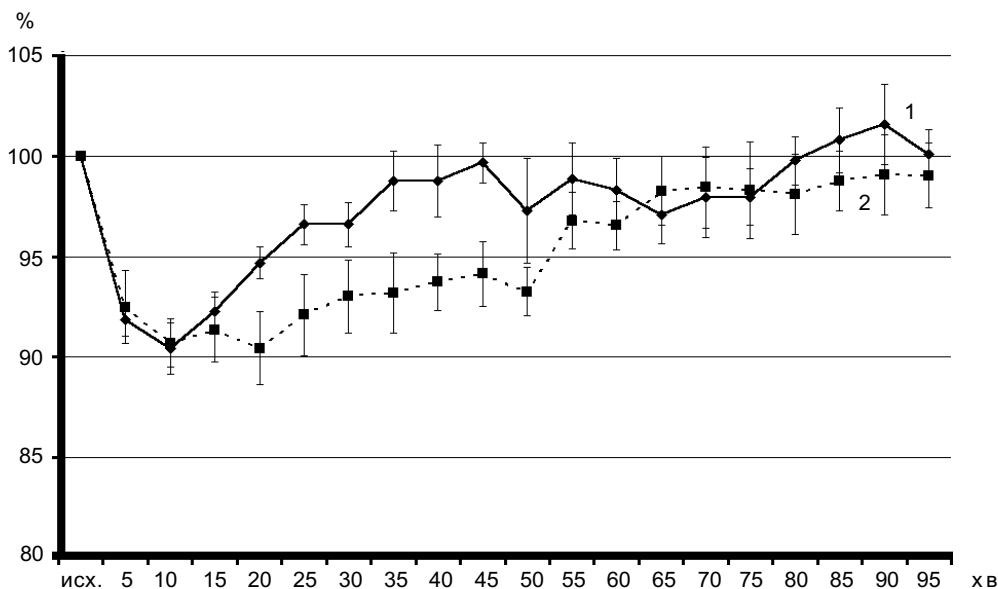


Рис. 2. Влияние нитроглицерина на относительные изменения систолического артериального давления у здоровых людей на равнине (1) и в высокогорье (2)

достоверно ниже, чем у жителей равнины, поэтому дальнейший сравнительный анализ мы проводили для относительных изменений ОПС. Введение нитроглицерина жителям высокогорья приводило к более выраженному и продолжительному снижению ОПС по сравнению с реакцией у жителей равнины (рис.3). Эти различия становились статистически достоверными уже через 5 мин после введения нитроглицерина и сохранялись вплоть до 90-й минуты наблюдения. У жителей равнины максимальное снижение ОПС отмечалось на 10-й минуте и составляло 12,7 %, а у жителей высокогорья – 17,8 % ($P < 0,05$). Повышение ОПС до исходного значения у жителей равнины происходило к 40-й минуте, а у жителей высокогорья – к 95-й минуте периода наблюдения.

Таким образом, нитроглицерин у здоровых жителей высокогорья вызывает более выраженную и продолжительную периферическую вазодилатацию. Изменение действия фармакологических препаратов в горах отмечали еще в середине прошлого века [1]. При лечении хронической сердечной недостаточности у жи-

телей высокогорья наблюдалась лучшая ответная реакция на применение нитратов, молсидамина, гидралазина и нифедипина [3].

Вопрос о механизмах усиления вазодилаторной ответной реакции на доноры NO в условиях гипоксии остается открытым. В экспериментах на эпикардальных коронарных артериях свиньи снижение оксигенации буферного раствора с 147 до 7 мм рт. ст. приводило к достоверному усилению дилаторной реакции на аутентичный NO и его доноры (нитроглицерин, нитропруссид натрия, SIN-1) [4]. При оценке реакций интактных и деэндотелизированных артерий на нитроглицерин было показано, что гипоксия усиливает вызванное нитроглицерином расслабление интактных артерий и не изменяет реакцию деэндотелизированных артерий. В нормально оксигенированном растворе реакция деэндотелизированных сосудов на нитроглицерин была более выраженной по сравнению с таковой интактных коронарных артерий [15]. Эти данные указывают на то, что гипоксия влияет на функциональную активность эндотелия и

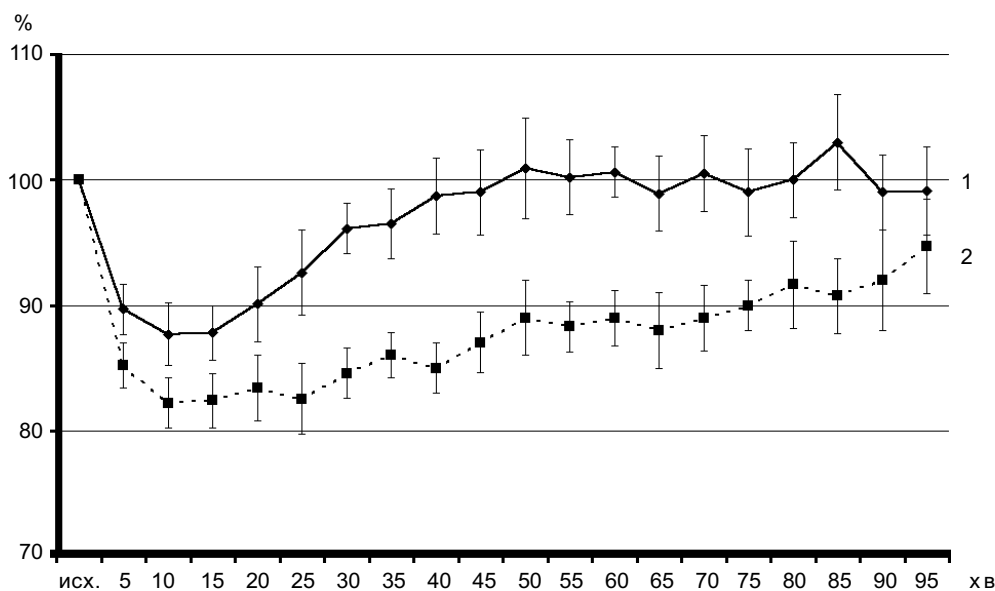


Рис. 3. Относительное изменение общего периферического сопротивления у здоровых жителей равнины (1) и высокогорья (2) после сублингвального введения нитроглицерина

значительно изменяет действие вазодилататоров, фармакологическая активность которых реализуется через него.

Такое более выраженное и продолжительное вазодилататорное действие нитроглицерина в условиях высокогорья может быть также обусловлено изменением чувствительности сосудистых гладких мышц к действию нитратов при гипоксии. Об этом свидетельствуют результаты экспериментальных исследований на артериальных сосудах, в которых было показано, что одним из основных механизмов гипоксической вазодилатации является уменьшение входящего тока Ca^{2+} [8, 13, 27], в частности, селективное угнетение активности кальциевых каналов L-типа [14]. В то же время в изолированных сенсорных нейронах гипоксия вызывала подъем концентрации Ca^{2+} в цитозоле, вызванный изменениями в трех клеточных субструктурах: работой натриевых и кальциевых каналов L-типа, а также накоплением Ca^{2+} в митохондриях [21]. Такое кажущееся, на первый взгляд, противоречие может объясняться тем, что расслабление сосудистых гладкомышечных клеток при гипоксии связано не с уменьшением концентрации Ca^{2+} в миоплазме, а со снижением чувствительности сократительного аппарата к ионам Ca^{2+} за счет цАМФ-зависимого фосфорилирования киназы легкой цепи миозина [7, 13].

Еще одним объяснением усиления вызванной нитроглицерином вазодилаторной реакции при гипоксии могут быть недавно полученные нами данные об активации системы оксида азота у здоровых людей, проживающих в высокогорье [6]. Повышение вазодилаторной активности нитроглицерина, введенного на фоне усиленной продукции оксида азота в условиях гипоксии, может быть обусловлено конкурентным взаимодействием между эндотелийзависимой вазодилатацией и вазодилатацией, вызванной нитроглицери-

ном [25]. Учитывая то, что фармакологическая активность эндотелиального оксида азота и нитроглицерина фактически идентична [19], их воздействие направлено на общую конечную часть биохимического метаболического пути, то есть, на стимуляцию растворимой гуанилатциклазы и повышение внутриклеточной концентрации цГМФ. Поэтому введение нитроглицерина на фоне увеличенного вследствие гипоксии содержания эндогенного оксида азота может приводить к усилению вазодилаторной реакции. В поддержку этого предположения свидетельствуют данные о том, что ведение предшественника оксида азота L-аргинина способно снизить или даже предотвратить развитие толерантности к нитратам [24].

Таким образом, нитроглицерин в условиях высокогорья вызывает у здоровых людей более выраженную и продолжительную периферическую вазодилатацию, что может обуславливаться аддитивным вазодилаторным эффектом нитроглицерина и гипоксии вследствие увеличения образования оксида азота и/или повышения чувствительности к нему эффекторного аппарата гладкомышечных клеток сосудов. Полученные результаты следует учитывать при назначении экзогенных и эндогенных доноров оксида азота для лечения людей, находящихся в условиях высокогорья.

**S.A. Bekuzarova, A.S. Khromov, L.B. Doloman,
I.A. Beslaneev, H.A. Kurdanov**

HIGH ALTITUDE HYPOXIA INCREASES VASODILATIVE REACTION ON NITROGLYCERIN IN HEALTHY SUBJECTS

After more than centenary successful use of nitroglycerin in clinical practice, scientists revealed that its medicinal effect is based on release of potent vasodilator nitric oxide (NO). Moreover, the experiments showed that NO plays an important role in hypoxia vasodilator mechanisms. Since nitroglycerin is an exogenous NO donor and moderate hypoxia facilitates release of endogenous NO, we suggested that nitroglycerin effects are changed in high altitude. To examine this suggestion,

we have carried out a standard nitroglycerin test for healthy volunteers living in high and low altitude areas. Comparison of obtained results showed that the use of oral nitroglycerin in high altitude areas is accompanied with significant prolonged decrease in blood pressure and total vascular resistance. So, we first found that high altitude hypoxia strengthens and extends nitroglycerin-induced peripheral vasodilation in healthy subjects. This effect might be caused by additive vasodilator effect of nitroglycerin and moderate hypoxia. This data should be taken into account when prescribing exogenous and endogenous NO donors to treat patients in high altitude areas.

International Center of Astronomical and Medicoecological Investigations, Terskol, Russia; Institute of Pharmacology and Toxicology, Kiev; A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Kiev, Ukraine

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алиев М.А. Гипертония и горный климат. – Фрунзе: Илим, 1966. – 315 с.
2. Доломан Л.Б., Сагач В.Ф., Курданов Х.А. та ін. Особливості кардіогемодинаміки та ендотелій-залежної судинної реактивності у мешканців високогір'я // Фізіол. журн. – 2002. – **48**, №4. – С. 33–8.
3. Молдоташев И.К. Особенности фармакотерапии хронической сердечной недостаточности в условиях высокогорья // Терап. архив. – 1988. – **60**, №2. – С. 92–96.
4. Моссе І.В., Тишкін С.М., Соловійов А.І. Порівняльна характеристика ефективності дії NO-донорів на коронарні артерії свині в нормі та при гіпоксії // Ліки. – 1998. – №5. – С. 9–12.
5. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. – М.: Наука, 1998. – 159 с.
6. Сагач В.Ф., Доломан Л.Б., Коцюруба А.В. та ін. Збільшений вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в крові мешканців високогір'я // Фізіол. журн. – 2002. – **48**, №5. – С. 3–8.
7. Соловьев А.И. цАМФ-зависимый механизм ослабления сосудистых гладкомышечных клеток при гипоксии, не связанный со снижением концентрации Ca^{2+} в миоплазме // Докл. АН СССР. – 1985. – **285**, №5. – С. 1252–1256.
8. Соловьев А.И., Стефанов А.В. Механизмы изменения кальциевой проводимости сарколеммы гладкомышечных клеток сосудов при гипоксии // Физиол. журн. СССР. – 1985. – **71**, №12. – С. 1560–1567.
9. Arnold W.P., Mittal C.K., Katsuki S., Murad F. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1977. – **74**, N8. – 3203–3207.
10. Chen Z., Zhang J., Stamler J.S. Identification of the enzymatic mechanism of nitroglycerin bioactivation // Ibid. – 2002. – **99**. – P. 8306–8311.
11. Earley S., Naik J.S., Walker B.R. 48-h Hypoxic exposure results in endothelium-dependent systemic vascular smooth muscle cell hyperpolarization // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2002. – **283**, № 1. – P. R79–85.
12. Faller D.V. Endothelial cell responses to hypoxic stress // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 1999. – **26**, № 1. – P. 74–84.
13. Franco-Obregon A., Lopez-Barneo J. Low pO_2 inhibits calcium channel activity in arterial smooth muscle cells // Amer. J. Physiol. – 1996. – **271**, №6. – P. H2290–H2299.
14. Franco-Obregon A., Urena J., Lopez-Barneo J. Oxygen-sensitive calcium channels in vascular smooth muscle and their possible role in hypoxic arterial relaxation // Proc. Nat. Acad. Sci. USA – 1995. – **92**, №10. – P. 4715–4719.
15. Fukuda S., Sakuma K., Tsukui A. et al. Hypoxia modifies the vasodilatory effects of nitroglycerin, prostaglandin E1, and hydralazine on isolated porcine coronary arteries // J. Cardiovasc Pharmacol. – 1994. – **23**, N5. – P. 852–858.
16. Giordano E., Guarnieri C., Muscari C., Caldarera C.M. Molecular mechanisms of response to low oxygen tension in the vascular wall // Cardiologia. – 1999. – **44**, № 9. – P. 779–782.
17. Ignarro L. J. Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein // Circulat. Res. – 1989. – **65**, № 1. – P. 1–21.
18. Ignarro L. J., Lippton H., Edwards J.C. et al. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide: evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1981. – **218**. – P. 739–749.
19. Ignarro L.J., Ross G., Tillisch J. Pharmacology of endothelium-derived nitric oxide and nitrovasodilators // J Med. – 1991. – 154, № 1. – P. 51–62.
20. Ishimura N., Kitaguchi K., Tatsumi K., Furuya H. Nitric oxide involvement in hypoxic dilatation of pial arteries in the cat // Anesthesiology. – 1996. – **85**, N6. – P. 1350–1356.
21. Kostyuk P.G., Stanika R.L., Koval L.M., Lukyanetz E.A. Intracellular mechanisms of hypoxia-induced changes in calcium homeostasis in neurons. – In: International conference «Astroeko-2002», Terskol, Russia (12–16 august, 2002) – Terskol, 2002. – P. 53.
22. Mc Danniell N., Chen X-L., Singer H. et al. Nitrovasodilators relax arterial smooth muscle by decreasing $[Ca^{2+}]_i$ and uncoupling stress from myosin phosphorylation // Amer. J. Physiol. – 1992. – **263**. – P. C.461–C.466.
23. Murad F., Mittal C.K., Arnold W.P. et al. Guanylate cyclase: activation by azide, nitro compounds, nitric oxide, and hydroxyl radical and inhibition by hemoglobin and myoglobin // Adv. Cyclic Nucleotide Res. – 1978. – **9**. – P. 145–158.
24. Parker J.O., Parker J.D., Caldwell R.W. et al. The effect of supplemental L-arginine on tolerance development during continuous transdermal nitroglycerin therapy // J. Amer. Coll. Cardiol. – 2002. – **39**, №7. – P. 1199–1203.
25. Rafflenbeul W., Bassenge E., Lichtlen P. Konkurrenz zwischen endothelabhängiger und Nitroglycerin-induzierter koronarer Vasodilatation // Z. Kardiol. – 1989. – **78**, Suppl. 2. – P. 45–47.

26. Siegel G., Grote J., Schnalke F., Zimmer K. The significance of the endothelium for hypoxic vasodilatation// Ibid. – 1989. – 78, №6. – P. 124 – 131.
27. Soloviev A.I., Stefanov A.V., Bazilyk O.V. et al. Changes in plasma membrane ionic permeability and related contractile responses in vascular smooth muscle at hypoxia // Pathophysiol. – 1996. – №3. – P. 11 – 20.
28. Vallet B., Winn M.J., Asante N.K., Cain S.M. Influence of oxygen on endothelium-derived relaxation factor / nitric oxide and K^+ -dependent regulation of vascular tone// J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1994. – 24, №4. – P. 596 – 602.

*Международ. центр астроном. и мед.-экол. исследований
НАН Украины и РАН, Терскол, КБР, Россия;
Ин-т фармакологии и токсикологии АМН Украины, Киев;
Ин-т физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев*