

Влияние нитрозоглутатиона и нитропруссид натрия на механическое напряжение гладких мышц воздухоносных путей морских свинок

Дьякова Е.Ю., Давлетьярова К.В.

Nitrosogluthione and sodium nitroprusside influence on mechanical tension of smooth muscles of guinea pigs airways

Diyakova Ye.Yu., Davletiyarova K.V.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Дьякова Е.Ю., Давлетьярова К.В.

В условиях, близких к изометрическим, методом механографии изучалось влияние на механическое напряжение гладких мышц изолированных сегментов бронхов нитрозоглутатиона и нитропруссид натрия на здоровых и сенсibilизированных овальбумином морских свинок. При воздействии нитрозоглутатиона, донора NO, гладкие мышцы воздухоносных путей отвечали дилатацией, при этом сенсibilизация приводила к снижению релаксирующего влияния нитрозоглутатиона на гладкомышечные клетки воздухоносных путей.

Ключевые слова: гладкомышечные клетки, бронхи, нитропруссид натрия, нитрозоглутатион, эпителий гладкомышечных клеток бронхов.

Influence on mechanical tension of smooth muscles of isolated segments of bronchi of nitrosogluthione and sodium nitroprusside on healthy and sensibilized guinea pigs by an ovalbumin was studied in conditions close to isometric, by a method of mechanography. Smooth muscles of airways responded by dilatation under influence of nitrosogluthione; sensibilization led to depression of relaxing influence of nitrosogluthione on smooth muscles cells of airways.

Key words: smooth muscle cells, bronchi, sodium nitroprusside, nitrosogluthione, epithelium of bronchial smooth muscle cells.

УДК 612.2:612.73:546.33

Введение

Важная роль в регуляции тонуса гладкомышечных клеток (ГМК) респираторного тракта принадлежит сигнальной системе, связанной с метаболизмом оксида азота [6]. Оксид азота, связываясь в организме с различными органическими веществами, приобретает высокую реакционную способность и большую продолжительность жизни, что может существенно модулировать сократительные реакции гладкомышечных клеток [2, 3].

В дыхательной системе выделяют ферментные и неферментные источники NO. В физиологических условиях низкомолекулярные нитрозотиолы, в частности нитрозоглутатион, в концентрациях 6—8 мкмоль оказывают цитопротекторный эффект. Накопление нитрозоглутатиона в настоящее время рассматривается в качестве основного пути депонирования NO в клетке, так как нитрозоглутатион более стабилен по сравнению с другими возможными эндогенными нитрозотиолами. Несмотря на то, что многими исследователями показана протекторная роль окиси азота, имеются

данные о способности NO вызывать клеточные повреждения, характерные для бронхиальной астмы [1, 4, 9].

Нитропруссид натрия, который рассматривается как донатор оксида азота [7—9], однако не синтезируется в клетках и является экзогенным источником NO, традиционно используется при исследовании данной сигнальной системы.

Таким образом, цель работы — исследовать влияние нитрозоглутатиона и нитропруссид натрия на сократительные реакции гладких мышц воздухоносных путей в норме и в условиях формирования гиперреактивности.

Материал и методы

Объектом исследования служили сегменты воздухоносных путей 15 половозрелых морских свинок-самцов массой 200—400 г. Животные были разделены на две группы. В экспериментальную группу вошли 9 особей (от которых был выделен 31 гладкомышечный сегмент), подвергшихся сенсibilизации овальбумином. Взвесь овальбумина в физиологическом растворе вводили подкожно, затем живот-

ных подвергали ингаляционному воздействию аэрозоля той же взвеси. Животные контрольной группы (6 свинок, от которых было приготовлено 14 сегментов) по той же схеме подвергались воздействию физиологического раствора.

Для изучения сократительной активности приготавливались кольцевые сегменты воздухоносных путей шириной 3—4 мм. Эпителий воздухоносных путей удаляли механически, вращением деревянного шпателя в просвете сегмента в течение 1 мин.

Влияние на механическое напряжение (МН) гладких мышц изолированных сегментов бронхов нитрозоглутатиона и нитропруссид натрия изучалось при помощи метода механографии в условиях, близких к изометрическим. Установка представляет собой станину с теплообменником, в крышке которого размещена кювета объемом 5 мл. В дне кюветы закреплены металлические крючки. Препараты закрепляли на крючках в кювете, после растяжения нагрузкой 500 мг их фиксировали на штоке механоэлектрического преобразователя. Сегменты в кювете находились в аэрируемом растворе Кребса с постоянной температурой 37 °С. Каждые 15 мин во время отмывания в течение 1—2 с производилась смена раствора. В качестве механоэлектрического преобразователя использовали изометрический датчик силы FT10G (Россия). Датчик присоединяли к 16-битному аналого-цифровому преобразователю, и далее сигнал отображался, записывался и обрабатывался с помощью компьютера.

Перед началом исследования сегменты тестировали воздействием гиперкалиевого раствора Кребса (40 ммоль), амплитуда ответа которых принималась за 100%. Величины сократительных ответов на тестирующие растворы оценивались в процентах от амплитуды тестового сокращения. По результатам тестирования строили кривые «доза — эффект».

Нитрозоглутатион синтезировали *ex tempore*. Для получения раствора нитрозоглутатиона с концентрацией 1 моль использовали эквимольные водные растворы нитрита натрия и глутатиона, которые смешивали при комнатной температуре в темноте в слабокислой среде (рН = 7,3).

Анализ данных проводили при помощи программы Statistica 6.0 for Windows («StatSoft Inc.», США). Фактические данные представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее значение, m — ошибка среднего. Достоверность различий между группами оценивали с использованием непараметрического U -критерия Манна—Уитни.

Результаты исследования

При исследовании эффектов нитрозоглутатиона (концентрация 0,01—100 мкмоль) на МН сегментов воздухоносных путей на фоне предсокращения KCl (концентрация 40 ммоль) наблюдалось дозозависимое расслабление во всем диапазоне концентраций. Максимальная амплитуда расслабления гладкомышечных сегментов воздухоносных путей контрольной группы составила $(58,2 \pm 3,5)\%$ ($n = 6$) от амплитуды тестового сокращения. В экспериментальной группе также наблюдался релаксирующий ответ, но с максимальной амплитудой достоверно меньше ($p < 0,05$) амплитуды расслабления контрольных сегментов и составила $(83,5 \pm 4,2)\%$ ($n = 10$) от амплитуды тестового сокращения.

Нитрозоглутатион является физиологически активным веществом, легко проникает через мембрану в клетку, выполняя роль донатора оксида азота. На воздействие нитрозоглутатиона гладкие мышцы воздухоносных путей отвечают дилатацией. При этом сенсibilизация приводит к снижению релаксирующего влияния нитрозоглутатиона на ГМК воздухоносных путей. Полученные данные, возможно, связаны с тем, что при развитии бронхоспастических состояний происходит увеличение скорости разрушения нитрозоглутатиона ферментами атиоксидантной защиты (глутатион-S-трансферазой), активность которых при воспалительных процессах возрастает.

Таким образом, на воздействие нитрозоглутатиона гладкие мышцы воздухоносных путей отвечают дилатацией. При этом сенсibilизация приводит к снижению релаксирующего влияния нитрозоглутатиона на ГМК воздухоносных путей.

В следующей серии экспериментов исследовали влияние нитропруссид натрия на МН сегментов воздухоносных путей на фоне предсокращения KCl (40 ммоль) в концентрациях от 1 нмоль до 10 мкмоль. Все сегменты контрольной группы отвечали расслаблением с максимальной амплитудой $(85,3 \pm 5,1)\%$ ($n = 8$). Гладкомышечные клетки сегментов бронхов сенсibilизированных морских свинок на воздействие нитропруссидом натрия также отвечали релаксацией с максимальной амплитудой расслабления $(74,6 \pm 4,5)\%$ ($n = 21$). Выявленные различия между двумя группами были достоверны ($p < 0,05$).

Нитропруссид натрия рассматривается как экзогенный «донатор» оксида азота, механизм действия которого связывают с релаксирующим действием нитрозогруппы (NO), соединенной через группы CN с атомом железа. Результаты настоящего исследования показали, что релаксирующее

действие нитропрусида натрия на механическое напряжение воздухоносных путей усиливается после сенсibilизации.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о разнице в эффекте сенсibilизации на чувствительность воздухоносных путей к действию нитрозоглутатиона и нитропрусида натрия. Выявленные различия могут быть связаны с тем, что нитрозоглутатион является донатором NO эндогенного происхождения, а нитропруssid натрия — экзогенный источник. Для нитрозоглутатиона в организме существует система его метаболизма [4, 5], функциональное состояние которой, видимо, изменяется при формировании гиперреактивности. Увеличение максимальной амплитуды расслабления на нитропруssid натрия может объясняться повышенным тонусом воздухоносных путей при сенсibilизации.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального агентства по науке и инновациям, контракт № 02.438.11.7018, совместного гранта РФФИ и администрации Томской области 05-04-98011-р_объ_а и гранта Президента РФ № МД-2079.2005.7.

Литература

1. Капилевич Л.В., Ковалев И.В., Баскаков М.Б., Медведев М.А. Внутриклеточные сигнальные системы в эпителий- и эндоте-

Результаты исследований молодых ученых и студентов

- лейзависимых процессах расслабления гладких мышц // Успехи физиол. наук. 2001. Т. 32. № 2. С. 88—98.
2. Капилевич Л.В., Носарев А.В., Ковалев И.В., Баскаков М.Б. и др. Физиологические особенности гладких мышц сосудов малого круга кровообращения // Успехи физиол. наук. 2006. Т. 37. № 1. С. 37—49.
3. Носарев А.В., Капилевич Л.В., Дьякова Е.Ю. Особенности фармакологической регуляции тонуса легочных артерий // Актуальные вопросы фармакотерапии и хирургического лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы. 2003. С. 74—78.
4. Реутов В.П., Орлов С.Н. Физиологическое значение гуанилатциклазы и роль окиси азота и нитросоединений в регуляции активности этого фермента // Физиология человека. 1993. Т. 19. № 1. С. 124—137.
5. Ющик Л.В. Активность некоторых ферментов ткани легких морских свинок при модельном процессе бронхиальной астмы // Проблемы патологии в эксперименте и клинике. 1986. С. 26—27.
6. Algara-Suarez P., Espinosa-Tanguma R. 8Br-cGMP mediates relaxation of tracheal smooth muscle through PKA // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004. V. 6. № 2. P. 597—601.
7. Centonze D., Pisani A., Bonsi P., Giacomini P. et al. Stimulation of nitric oxide-cGMP pathway excites striatal cholinergic interneurons via protein kinase G activation // J. Neurosci. 2001. Feb. 15. V. 21 (4). P. 1393—1400.
8. Gosal D., Gosal E., Gosal Y.M. et al. Nitric oxide synthase isoforms and peripheral chemoreceptor stimulation in conscious rats // NeuroReport. 1996. V. 7. № 6. P. 1145—1148.
9. Nevala R., Vaali K., Peitola A. et al. Comparison of the effects of nitric oxide donors and the β_2 -agonist salbutamol on the rat bronchial muscle *in vitro* // Hum. and Exp. Toxicol. 1995. V. 14. № 10. P. 832—833.

Поступила в редакцию 23.11.2006 г.