

УДК: 616.345.566-344.52:616.567-957.345-02

© Лукьянцева Г.В., Сергеев И.Ю., Пастухова В.А., Гунина Л.М., 2013

## ДИНАМИКА СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗОЛИРОВАННОГО КОЛЬЦЕВОГО ПРЕПАРАТА АОРТЫ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ АМИЛИНА Лукьянцева Г.В., Сергеев И.Ю., Пастухова В.А., Гунина Л.М.

*Национальный Университет Физического Воспитания и Спорта Украины, г. Киев*

**Лукьянцева Г.В., Сергеев И.Ю., Пастухова В.А., Гунина Л.М.** Динамика сократительной активности изолированного кольцевого препарата аорты крыс под влиянием амилина // Украинский морфологический альманах. – 2013. – Том 11, № 1. – С. 77-78.

Амилин в физиологических дозах обладает выраженным сосудорасширяющим действием. Влияние амилина на кровеносные сосуды обусловлено его прямым действием на гладкомышечные элементы, т.к. проявляется на препаратах изолированных сосудов и не зависит от сохранности функций эндотелия.

**Ключевые слова:** амилин, вазодилатация, кольцевой препарат аорты крысы.

**Лук'янцева Г.В., Сергеев И.Ю., Пастухова В.А., Гунина Л.М.** Динаміка скоротливої активності ізольованого кільцевого препарату аорти щурів під впливом аміліну // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 1. – С. 77-78.

Амілін у фізіологічних дозах володіє судинорозширювальним ефектом. Вплив аміліну на кровеносні судини обумовлений його прямою дією на гладкі м'язи судин, що підтверджується дослідями на препаратах ізольованих судин та не залежить від збереження функцій ендотелію.

**Ключові слова:** амілін, вазоділяція, кільцевий препарат аорти щура

**Lukjantseva G.V., Sergeev I.U., Pastukhova V.A., Gunina L.M.** Dynamic of contractive activity of isolated rat aortic ring preparation under the influence of amylin // Украинский морфологический альманах. – 2013. – Том 11, № 1. – С. 77-78.

Amylin in physiological doses has a strong vasodilator effect. The influence of amylin on the blood vessels is due to its direct effect on the smooth muscle elements as is seen in preparations of the isolated vessels and does not depend on the preservation of endothelial function.

**Key words:** amylin, vasodilatation, isolated rat aortic ring preparation.

Важным элементом поддержания структурно-функциональной целостности организма является гомеостаз слизистой оболочки желудка. Он обеспечивается сложным комплексом нервных и гуморальных факторов как центрального, так и местного действия. Нарушение баланса этой системы может приводить к развитию язвенной болезни. Панкреатический гормон амилин обладает выраженным противоязвенным действием. Можно предполагать, что одним из механизмов реализации этого протекторного эффекта амилина может быть его воздействие на кровоснабжение слизистой оболочки желудка.

Несомненно, активация всех защитных систем слизистой оболочки желудка напрямую зависит от ее адекватного кровоснабжения. Нормальный кровоток обеспечивает защиту слизистой оболочки, снабжая ее кислородом, питательными веществами и способствуя созданию слизи-бикарбонатного барьера, а также удаляет продукты метаболизма, токсические агенты и ионы  $H^+$  [1]. Все энергетически зависимые процессы, в том числе восстановление и миграция клеток в области поврежденного поверхностного эпителия, замедляются или становятся невозможными при недостаточном кровоснабжении [2, 3].

Данные литературы, касающиеся вазомоторных эффектов амилина, неоднозначны. Так, показано, что фармакологические концентрации амилина ( $10^{-6}M$ ,  $10^{-7}M$  и  $10^{-8}M$ ) вызывают значительное уменьшение перфузионного давления в русле кишечной артерии, что указывает на его сосудорасширяющее действие [4]. Фармакологические дозы амилина также вызвали вазодилатацию в русле легочной артерии у кошек [5]. В то же время, в исследованиях Наупес J.M. показано, что амилин в близких к физиологическим дозах (до 100

pmol/kg) увеличивает артериальное давление у крыс, а более высокие концентрации амилина (выше 100 pmol/kg) вызывают гипотензивный эффект [6]. В связи с этим нами были выполнены опыты по исследованию непосредственного влияния амилина на тонус кровеносных сосудов.

**Материал и методы.** В работе был использован крысиний амилин фирмы BACHEM California, США. Эксперименты проводили по модифицированной методике [7] на белых беспородных крысах весом 200 - 250 гр. Установка для регистрации тонуса кольцевого препарата аорты крысы состоит из термостатируемой при 37°C проточной камеры объемом 6-8 мл. Перфузия раствора через камеру обеспечивалась перистальтическим насосом с плавным ходом в режиме расхода 4-5 мл/мин.

Препарат готовили из нисходящей дуги аорты крысы. Грудную клетку самца крысы весом 200-250 г вскрывали, затем отпрепаровывали и извлекали нисходящую часть аорты. После тщательной отмывки в физиологическом растворе препарат охлаждали 40 минут при температуре 6-8 °С. После этого препарат разрезали на кольцевые сегменты длиной примерно 2 мм. Внутрь сегмента вставляли две нити, каждую из которых завязывали петлей вокруг стенки сосуда. Затем сегмент сосуда помещали в рабочую камеру установки, фиксируя одну нить на дне камеры, а другую - на коромысле датчика изометрических сокращений.

Регистрация тонических сокращений кольцевого препарата производилась с помощью тензометрического датчика "Harvard Apparatus Isometric Muscle Transducer, mod. 0363" (США), соединенного с усилителем и одноканального самописца "Hitachi, mod. 056".

После закрепления препарата производили калибровку датчика. Закрепленный в рабочей ка-

мере сосуд растягивали на величину, соответствующую нагрузке в 1 г. Под воздействием нагрузки препарат медленно расслаблялся. После завершения расслабления на препарат действовали восходящими концентрациями норадреналина ( $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $5 \cdot 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $5 \cdot 10^{-7}$  М), затем строили кривую зависимости «доза-эффект» и находили по ней концентрацию норадреналина, при которой препарат сокращался на 50% от максимально возможной величины сокращения. В наших экспериментах рабочая концентрация норадреналина составляла  $5 \cdot 10^{-7}$  М. Амилин добавляли в перфузионный раствор так, чтобы рабочая концентрация его составляла  $1 \cdot 10^{-10}$  М.

Для работы использовали физиологический раствор Кребса-Хенселяита следующего состава: NaCl - 122,2 мМ/л, KCl - 6,67 мМ/л, CaCl<sub>2</sub> - 2,57 мМ/л, MgSO<sub>4</sub> - 1,25 мМ/л, NaHCO<sub>3</sub> - 25,0 мМ/л, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 1,18 мМ/л, глюкоза - 8 мМ/л. pH=7,3, раствор аэрировали карбогеном (5% CO<sub>2</sub>, 95% O<sub>2</sub>).

Общее время эксперимента – около 4-х часов. В части опытов производилось механическое разрушение эндотелия с помощью стеклянной палочки, полнота деэндотелизации препарата кон-

тролировалась по отсутствию дилататорного ответа на ацетилхолин ( $10^{-7}$  М).

**Результаты и обсуждение.** Кольцевой препарат аорты крысы в ответ на перфузию норадреналином в концентрации  $5 \cdot 10^{-7}$  М развивал констрикторное усилие и удерживал его более 2 часов. В каждом опыте величину вызванного норадреналинового тонуса принимали за 100% и по отношению к ней оценивали дилатационные ответы. Ацетилхолин в концентрации  $1 \cdot 10^{-7}$  М вызывал дилатацию, равную  $28 \pm 2,2\%$ , что свидетельствовало об интактности эндотелия и работоспособности кольцевого препарата. Воздействие на такой препарат амилином приводило к уменьшению тонуса в среднем на  $57,8 \pm 8,3\%$ , что позволяет сделать вывод о его сильных дилатационных свойствах. Эффект пептида начинал развиваться с 3-й минуты перфузии, а максимум эффекта достигался в среднем на 10-й минуте перфузии. После удаления амилина из перфузионного раствора исходный тонус сосуда восстанавливался. Величина амилинового расслабления превышала эффект ацетилхолина более чем в два раза. Различия в эффектах ацетилхолина и амилина достоверны ( $P < 0,001$ ).

**Таблица.** Влияние амилина и ацетилхолина на норадреналиновый тонус изолированного кольцевого препарата аорты крысы.

Действующее вещество	величина дилатации, % от исходного тонуса		
	норма	L-NAME	механическая деэндотелизация
Ацетилхолин $1 \cdot 10^{-7}$ М, n=8	$24,8 \pm 2,2$	0	0
Амилин $10^{-10}$ М, n=8	$57,8 \pm 8,3$	$68,3 \pm 6,5$	$48,0 \pm 8,1$

Многие эндогенные вазодилататоры, в том числе и ацетилхолин, реализуют свои эффекты через механизмы, связанные с выделением окиси азота эндотелиальными клетками. В связи с этим в следующих сериях опытов мы выясняли участие эндотелия в вазодилататорных эффектах амилина. Нами было исследовано влияние блокатора синтеза NO - N-нитро-L-аргинина (L-NAME) на дилататорный эффект амилина.

После 10-минутной перфузии препарата с L-NAME в концентрации  $0,5 \cdot 10^{-7}$  М наблюдалась полная блокада ответа на ацетилхолин, эффект амилина при этом не изменялся (n=6,  $P < 0,01$ ).

Эти данные позволяют сделать вывод о том, что сосудорасширяющий эффект амилина не зависит от синтеза оксида азота. Для того, чтобы полностью исключить возможное участие эндотелия в эффектах амилина, следующая серия опытов была проведена на препаратах с удаленным эндотелием. Деэндотелизация полностью снимала эффект ацетилхолина и очень незначительно уменьшала дилататорный ответ на амилин. Эффект амилина до удаления эндотелия составлял 57,8%, а после его удаления - 48%. Этот факт дает основание предполагать, что сосудорасширяющий эффект амилина является эндотелийнезависимым, и, по-видимому, обусловлен прямым влиянием пептида на гладкую мышцу сосуда.

Возможно, улучшение кровоснабжения тканей слизистой оболочки желудка под влиянием амилина способствует сохранению ее структурно-функциональной целостности и поддержанию способности к эффективной регенерации, что является одним из глубинных механизмов противоязвенного действия данного гормона.

**Перспективы дальнейших исследований.** В дальнейших работах планируется изучение вазомоторных свойств амилина на препаратах сосудов, имеющих непосредственное отношение к функционированию желудочно-кишечного тракта.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Gastroduodenal mucosal protection. / [Allen A., Flemstrom G., Garner A., Kivilaakso E.] // *Physiol. Rev.* – 1993. - №73, Vol. 4. - P. 823-857.
2. Szabo S. Experimental pathogenesis: drugs and chemical lesions in the gastric mucosa. / S.Szabo, I. Goldberg // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1990. - №174. - P.1-8.
3. Sorbye H. The role of blood flow in gastric mucosal defence, damage and healing. / Sorbye H., Svanes K. // *Dig. Dis.* – 1994. - №12, Vol.5. - P.305-317.
4. Westfall T.C. Amylin-induced relaxation of the perfused mesenteric arterial bed: mediation by calcitonin gene-related peptide receptors. / Westfall T.C., Curfman-Falvey M. // *Cardiovasc. Pharmacol.* – 1995. - №26, Vol.6, p.932-6.
5. Comparison of responses to adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide in the pulmonary vascular bed of the cat. / [DeWitt B.], Cheng D.Y., Caminiti G.N. et al] // *Eur. J. Pharmacol.* – 1994. - №257, Vol.3. - P.303-306.
6. Hayness J.M. Rat amylin mediates a pressor response in the anaesthetised rat: implication for the association between hypertension and diabetes mellitus / J.M. Hayness, W.C. Hodgson, M.E. Cooper // *Diabetologia.* – 1997. - №40, Vol.3. - P.256-261.
7. Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц. / [Блаттнер Р., Классен Х., Денерт Х. и др.] // М.: Мир. – 1983. - 206 с.

Надійшла 17.11.2012 р.  
Рецензент: проф. В.І.Лузін