

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 612.146:616.1

Влияние синтетического аналога фактора активации тромбоцитов 1-алкил-2-алкилкарбомоилглицерина на сократительные свойства сосудистых гладкомышечных клеток

С. В. Гусакова¹, В. С. Рыдченко¹,
Л. В. Смаглий¹, М. Б. Плотников²,
Г. А. Чернышева², О. С. Тарасова³, С. Н. Орлов^{1,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия

³ Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Москва, Россия

Контактная информация:

Гусакова Светлана Валерьевна,
ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ
Минздрава России,
Московский тракт, д. 2, Томск,
Россия, 634050.
Тел.: +7(3822)90–98–27.
E-mail: gusacova@yandex.ru

*Статья поступила в редакцию
15.05.17 и принята к печати 23.06.17.*

Резюме

Цель исследования — изучить влияние синтетического аналога фактора активации тромбоцитов, полученного на основе 1-алкил-2-алкилкарбомоилглицерина, на тонус гладкомышечных клеток сосудов и показатели системной гемодинамики. **Материалы и методы.** Исследовали вазодилатационные свойства препарата из группы 1-алкил-2-алкилкарбомоилглицеринов — 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин. Системное артериальное давление, ударный объем и частоту сердечных сокращений регистрировали на аппаратном комплексе Вiorас у крыс Вистар через 3 часа после внутривенного введения препарата. Изменение механического напряжения изолированных сегментов аорты крыс Wistar и SHR, предсокращенных фенилэфрином и неизоосмотическими растворами, изучали с использованием механографической установки Myobath IV. Изменение сократительной активности мелких артерий брыжейки, артерии икроножной мышцы и междольевых артерий почки крыс линий Wistar, предсокращенных метоксамином, регистрировали с помощью системы Wire Myograph 620 M. **Результаты.** 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин снижает артериальное давление при внутривенном введении крысам за счет выраженного снижения удельного периферического сопротивления, но не оказывает выраженного расслабляющего эффекта при действии на изолированные сосуды, предсокращенные активаторами α_1 -адренорецепторов фенилэфрином и метоксамином. 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин снижает величину гипер-, гипо- и изоосмотического сокращения сегментов аорты крыс Wistar, но увеличивает (изоосмотическое сокращение) или не изменяет (гипер- и гипоосмотическое сокращение) ее в сегментах, полученных от крыс линии SHR. **Заключение.** Гипотензивное действие 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина не обусловлено прямым действием на клетки сосудов и, вероятно,

вовлекает нервные и/или гуморальные механизмы регуляции давления. Вместе с тем 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин снижает амплитуду сокращений, индуцированных инкубацией в неизоосмотической среде у нормотензивных, но не гипертензивных крыс, что свидетельствует о возможном вовлечении НКСС в механизмы действия препарата.

Ключевые слова: 1-алкил-2-алкилкарбамоилглицерин, 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин, сосудистые гладкомышечные клетки, антигипертензивный препарат

Для цитирования: Гусакова С. В., Рыдченко В. С., Смаглий Л. В., Плотников М. Б., Чернышева Г. А., Тарасова О. С., Орлов С. Н. Влияние синтетического аналога фактора активации тромбоцитов 1-алкил-2-алкилкарбамоилглицерина на сократительные свойства сосудистых гладкомышечных клеток. *Артериальная гипертензия*. 2017;23(5):373–382. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-373-382

Influence of synthetic analog of platelet activation factor 1-alkyl-2-alkylcarbomoilglycerine on vascular smooth muscle cells contractile properties

S. V. Gusakova¹, V. S. Rydchenko¹,
L. V. Smaglyi¹, M. B. Plotnikov²,
G. A. Chernysheva², O. S. Tarasova³, S. N. Orlov^{1,3}
¹ Siberian Medical State University, Tomsk, Russia
² Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk, Russia
³ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Corresponding author:
Svetlana V. Gusakova,
Siberian Medical State University,
2 Moskovskiy trakt, Tomsk,
634050 Russia.
Phone: +7(3822)90–98–27.
E-mail: gusacova@yandex.ru

Received 15 May 2017;
accepted 23 June 2017.

Abstract

Objective. To study the effect of the synthetic analog of the platelet activation factor (based on the 1-alkyl-2-alkylcarbamoil-glycerol) on the tone of vascular smooth muscle cells and hemodynamic parameters. **Design and methods.** We studied the vasodilator properties of 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoilglycerol, the substance from the group of 1-alkyl-2-alkylcarbamoilglycerols. Systemic arterial pressure, stroke volume and heart rate were recorded by the Biopac hardware complex in Wistar rats 3 hours after intragastric administration of the drug. We studied (the Myobath II Tissue bath system) mechanical tension of isolated aortic segments from Wistar and SHR rats precontracted with phenylephrine and nonisosmotic solutions. Using the Wire Myograph 620M system, we recorded changes in the contractility of the small mesenteric arteries, the artery of the gastrocnemius muscle and the renal interlobar arteries of the Wistar rats precontracted with methoxamine. **Results.** 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoilglycerol decreased arterial pressure in Wistar rats after intragastric administration due to the decrease in specific peripheral resistance, but does not exert an evident relaxation acting on isolated vessels pre-reduced by activation of α_1 -adrenoreceptors with phenylephrin and methoxamine. 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoilglycerol reduced the hyper-, hypo-, and isoosmotic contraction of the aortic segments from Wistar rats, but increased (isoosmotic contraction) or did not change (hyper- and hypoosmotic contraction) it in the vessels obtained from SHR rats. **Conclusions.** The pressure reducing effect of 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoilglycerol is not due to direct action on vascular cells. It might involve nervous/humoral

mechanisms of blood pressure regulation. However, 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoylglycerol reduces the contraction amplitude induced by incubation in the non-isoosmotic environment in normotensive rats. However, the effect is not present in hypertensive rats indicating the possible involvement of NKCC in the mechanisms of the drug substance.

Key words: 1-alkyl-2-alkylcarbamoylglycerol, 1-O-hexadecyl-2-O-methylcarbamoylglycerol, vascular smooth muscle cells, antihypertensive drug

For citation: Gusakova SV, Rydchenko VS, Smaglii LV, Plotnikov MB, Chernysheva GA, Tarasova OS, Orlov SN. Influence of synthetic analog of platelet activation factor 1-alkyl-2-alkylcarbamoylglycerine on vascular smooth muscle cells contractile properties. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2017;23(5):373–382. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-373-382

Введение

Артериальная гипертензия (АГ) является одним из наиболее распространенных заболеваний и причиной смертности населения от сердечно-сосудистых заболеваний во всем мире. АГ в мире страдают 1,2 миллиарда людей. Несмотря на наличие большого спектра соединений, снижающих артериальное давление (АД), рынок антигипертензивных лекарств продолжает привлекать большое внимание фармакологических компаний. Это объясняется как полигенной природой гипертонической болезни, так и побочными действиями имеющихся антигипертензивных лекарств. Так, например, блокаторы потенциал-зависимых Ca^{2+} каналов наряду со снижением системного АД (САД) блокируют миогенный тонус сосудов, что может провоцировать появление побочных эффектов, обусловленных избыточной вазодилатацией (сердцебиение, головная боль, головокружение, ощущение жара, значительное снижение АД) [1]. Резкое снижение АД в свою очередь может привести к опосредованному через барорефлекс повышению симпатического тонуса [2], а отмена этих препаратов может способствовать повторному росту кровяного давления вследствие повышения чувствительности гладкомышечных клеток сосудов к Ca^{2+} и развития спазма коронарных и периферических артерий [3]. К таким же нежелательным последствиям приводит длительное использование петлевых диуретиков, которые подавляют миогенный тонус афферентных артериол почки. β -блокаторы наряду с подавлением кардиотропных симпатических влияний вызывают сокращение гладких мышц воздухопроводящих путей и потому не могут быть использованы для снижения АД у больных бронхиальной астмой.

Одним из биологических эффектов фактора активации тромбоцитов (ФАТ) (1- α -алкил-2-ацетил-Sn-глицеро-3-фосфохолин) является его сосудорелаксирующее действие. Известно несколько путей синтеза ФАТ в организме человека. ФАТ продуцируется при остром воспалительном ответе нейтрофилами [4], моноцитами [5], а также некоторыми

другими клетками [6, 7] путем ремоделирования липидов клеточных мембран, гидролизирования остатка арахидоновой кислоты и замещения его ацетатом с образованием мембраносвязанного прекурсора ФАТ — алкил-2-арахидоноилглицерофосфохолина [8, 9]. Другой путь синтеза ФАТ не связан с воспалением и заключается в его синтезе *de novo* из 1- α -алкил-Sn-глицеро-3-фосфата путем встраивания ацетата, удаления остатка фосфорной кислоты и замещения его на фосфохолин [7].

ФАТ действует через специфические рецепторы на мембранах различных клеток [10], к числу которых относятся нейтрофилы, макрофаги, эозинофилы, гладкомышечные клетки сосудов и эндотелиальные клетки [11]. По предположению S.-B. Hwang (1988) [12], возможно существование внутриклеточного рецептора к ФАТ.

Установлено, что у человека и различных видов животных ФАТ проявляет выраженное сосудорасслабляющее действие [13–15]. Так, ФАТ, введенный в почечный кровоток кролика, вызывал длительное дозозависимое расслабление почечных сосудов, тогда как антагонисты рецептора ФАТ (WEB 2086 и yangambin) потенцировали рост перфузионного давления в почечных артериях [16]. Механизмы вазодилатирующего действия ФАТ могут вовлекать различные пути сигнальной трансдукции [17] с участием циклического аденозинмонофосфата, циклического гуанозинмонофосфата, инозитол-1,4,5-трифосфата, кальция [18–20]. Рядом исследований показано, что вызываемое ФАТ расслабление сосудистых гладких мышц чувствительно к действию ингибитора NO-синтазы и сопровождается усиленным синтезом сосудорасширяющих факторов NO и EDHF (endothelium-derived hyperpolarizing factor) [21–23].

Однако гипотензивное действие ФАТ непродолжительно. У крыс, получавших инъекции ФАТ в дозах до 1 мкг/кг, показатели АД полностью нормализовались уже через 15–30 минут, а увеличение дозы до 10 мкг/кг вызывало нарушение целостности эндотелия, проникновение плазмы в прилегающие к сосудам ткани, воспалительную

реакцию и метаболический ацидоз, которые через несколько часов завершались смертью животных [24]. Поэтому нами была выбрана группа синтетических структурных аналогов ФАТ, которые одновременно являются биохимическими предшественниками ФАТ в *de novo* пути биосинтеза, 1-алкил-2-алкилкарбамоилглицерины. В частности, мы исследовали соединение из группы 1-алкил-2-алкилкарбамоилглицеринов — 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин, оценивали его действие на показатели системной гемодинамики и тонус изолированных сосудов.

Материалы и методы

Объектом исследования является лекарственное средство (ЛС) на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина, продукцию которого проводили в соответствии с лабораторным разработанным регламентом [24]. Проведение экспериментальных исследований одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России.

Измерение показателей системной гемодинамики

Эксперименты проведены на 12 половозрелых аутбредных крысах-самцах Wistar массой 230–260 г, возраст 3–4 месяца, которые были получены из клиники лабораторных животных научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е. Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра (сертификат здоровья лабораторных животных № 188–05, выданный государственным учреждением «Научный центр биомедицинских технологий» Российской академии медицинских наук). Содержание крыс осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986).

Животным из контрольной группы (6 крыс) за 3 часа до начала эксперимента однократно внутривенно вводили 1-процентную крахмальную слизь, а животным из опытной группы (6 крыс) — ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина в дозе 10 мг/кг в виде взвеси в 1-процентной крахмальной слизи.

САД регистрировали прямым методом в бедренной артерии на аппаратном комплексе Biopac (Biopac System, Inc., США) через тefлоновый катетер, имплантированный в правую бедренную артерию. Катетер заполняли физиологическим раствором натрия хлорида с гепарином (50 ед/мл). Крыс наркотизировали внутривенно уретаном (1 г/кг). Частоту сердечных сокращений (ЧСС)

определяли по электрокардиограмме. Ударный объем (УО) определяли методом импедансометрии на аппаратном комплексе Biopac (Biopac System, Inc., США). Минутный объем крови (МОК) рассчитывали по формуле: $МОК = ЧСС \times УО$. Удельное периферическое сопротивление (УПС) рассчитывали по формуле: $УПС = САД/МОК/масса$ животного (кг).

Исследования на изолированных сосудах крыс

Исследования на изолированных сосудах крыс проводились в изометрическом режиме с использованием четырехканальной механографической установки Myobath II (WPI, Германия) и системы Wire myograph 620 M (DMT A/S, Дания). Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществлялись в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Крыс умерщвляли путем декапитации.

Исследования с использованием четырехканальной механографической установки Myobath II (WPI, Германия)

Объектом исследования служили сегменты грудного отдела аорты крыс-самцов Wistar и крыс со спонтанной гипертензией линии SHR. Грудную часть аорты помещали в физиологически сбалансированный солевой раствор Кребса, удаляли жировую и соединительную ткань и выделяли кольцевые сегменты шириной 2–3 мм. Эндотелий удаляли механически, вращением деревянного шпателя в просвете сегмента в течение 1 минуты непосредственно перед выполнением эксперимента.

Кольцевые сегменты аорты крысы фиксировали в рабочей камере объемом 10 мл и растягивали нагрузкой 500 мг. Камеру заполняли физиологическим раствором Кребса и термостатировали при 37 °С в течение 50 минут при pH = 7,4. Сокращения индуцировали гиперкалиевым раствором, который готовили путем эквимольного замещения 30 мМ NaCl на KCl, а затем активатором α_1 -адренорецепторов фенилэфрином (ФЭ) (10^{-5} мкМ). Амплитуду сократительных ответов рассчитывали в процентах от амплитуды сокращения, вызванного гиперкалиевым раствором Кребса или ФЭ, которые принимали за 100%. Сокращения вызывали также помещением сегментов аорты в гиперосмотический раствор Кребса (содержащий 150 мМ сахарозы) и гипосмотический раствор Кребса (содержащий 40,4 мМ NaCl) с последующим возвращением в нормальный раствор Кребса (120 мМ NaCl), что индуцировало развитие изоосмотической стрикции.

Исследования с использованием системы Wire Myograph 620 M (DMT A/S, Дания)

Объектом исследования служили мелкие артерии брыжейки (2–3 порядка ветвления верхней брыжеечной артерии), артерия икроножной мышцы и междольевые артерии почки крыс Wistar. Из артерий вырезали сегменты длиной 2 мм. Каждый из кольцевых препаратов с помощью двух натянутых струн из нержавеющей стали (диаметр 40 мкм) закрепляли между головками миографа, одна из которых была соединена с тензометрическим датчиком, а другая — с микрометром, с помощью которого устанавливалось расстояние между струнами (растяжение препарата). Камеру миографа заполняли раствором Кребса и термостатировали при 37 °С (30–40 минут), после чего определяли оптимальное растяжение препарата [24]. Препараты активировали однократным добавлением норадреналина (10^{-5} М), а затем двукратным добавлением метоксamina (МА) (агонист α_1 -адренорецепторов, 10^{-5} М). Функциональную активность эндотелия оценивали путем добавления активатора эндотелиальной NO-синтазы ацетилхолина (10^{-5} М).

Статистический анализ

Статистический анализ данных проводили при помощи программы Statistica 7.0 for Windows фирмы Statsoft. Фактические данные представлены в виде «среднее \pm стандартная ошибка среднего» ($X \pm m$). Для определения характера распределения полученных данных использовали критерий нормальности Колмогорова–Смирнова. Сформированные выборки не подчинялись закону нормального распределения, поэтому для проверки статистических гипотез были использованы непараметриче-

ские критерии. Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовался U-критерий Манна–Уитни (Mann–Whitney U test). Для проверки однородности парных или зависимых выборок был использован T-критерий Уилкоксона (Wilcoxon matched pairs test). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Влияние 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоил-глицерина на показатели гемодинамики

У наркотизированных крыс Wistar контрольной группы были зарегистрированы показатели гемодинамики, соответствующие видовым физиологическим значениям (табл. 1) [26].

У животных опытной группы введение ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоил-глицерина в дозе 10 мг/кг приводило к увеличению УО сердца на 53 %, увеличению ЧСС на 8 %, росту МОК на 69 %, снижению УПС на 51 % и уменьшению САД на 16 % по сравнению с контрольной группой животных. При этом диастолическое давление снижалось в большей степени, чем систолическое (на 22 % и 10 % соответственно), что способствовало возрастанию пульсового давления на 45 % (табл. 1).

Влияние 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоил-глицерина на механическое напряжение изолированных сегментов кровеносных сосудов

Исследование влияния 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на тонус изолированных кровеносных сосудов в системе Wire Myograph

Исследование влияния ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на сократи-

Таблица 1

ВЛИЯНИЕ ОДНОКРАТНОГО ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ 1-О-ГЕКСАДЕЦИЛ-2-О-МЕТИЛКАРБАМОИЛГЛИЦЕРИНА В ДОЗЕ 10 МГ/КГ НА ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ

Показатель	Группа животных	
	Контроль (n = 6)	Опыт (n = 6)
Масса, г	370 \pm 20	373 \pm 13
ЧСС, мин ⁻¹	403 \pm 11	434 \pm 7*
САД, мм рт. ст.	101 \pm 3	85 \pm 3*
СД, мм рт. ст.	106 \pm 3	95 \pm 4*
ДД, мм рт. ст.	95 \pm 3	77 \pm 2*
ПД, мм рт. ст.	11 \pm 2	16 \pm 5*
УО, мл	0,15 \pm 0,02	0,23 \pm 0,03*
МОК, мл \times мин ⁻¹	60,9 \pm 8,9	99,7 \pm 9,8*
УПС, дин \times с \times см ⁻⁵ \times кг	396795 \pm 54621	194359 \pm 20496*

Примечание: ЧСС — частота сердечных сокращений; САД — системное артериальное давление; СД — систолическое давление; ДД — диастолическое давление; ПД — пульсовое давление; УО — ударный объем; МОК — минутный объем кровообращения; УПС — удельное периферическое сопротивление; * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

**ВЛИЯНИЕ 1-О-ГЕКСАДЕЦИЛ-2-О-МЕТИЛКАРБАМОИЛГЛИЦЕРИНА
НА МЕХАНИЧЕСКОЕ НАПРЯЖЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ СОСУДОВ КРЫСЫ (%)**

Объект исследования	Концентрация, М					
	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
Аорта (Wistar), n = 6	99,4 ± 0,2	97,3 ± 0,3	96,6 ± 0,6	93,9 ± 0,7*	92,7 ± 0,7*	91,3 ± 0,6*
Аорта (SHR), n = 6	94,3 ± 0,6*	92,8 ± 1,0*	88,9 ± 1,1*	88,1 ± 0,4*	81,1 ± 1,7*	80,8 ± 2,3*
Малые артерии брыжейки (Wistar), n = 4	99,2 ± 2,3	89,8 ± 4,7*	99,2 ± 1,1	100,2 ± 1,6	90,8 ± 12,7	101,1 ± 2,8
Артерия икроножной мышцы (Wistar), n = 4	92,9 ± 4,8	88,4 ± 6,5*	89,2 ± 5,5*	89,4 ± 5,0*	88,6 ± 4,7*	77,2 ± 6,1*
Междолевые артерии почки (Wistar), n = 4	100,1 ± 0,7	98,2 ± 1,8	98,6 ± 0,4	97,8 ± 0,4	94,4 ± 0,3*	92,6 ± 1,2*

Примечание: SHR (spontaneously hypertensive rats) — линия спонтанно гипертензивных крыс; * — $p < 0,05$ (в сравнении с контрольным сокращением, амплитуда которого принималась за 100%).

тельную активность гладкомышечных клеток артерий методом Wire Myograph показало, что препарат не оказывал существенного влияния на величину механического напряжения (МН) сосудов (брыжеечных артерий, артерии икроножной мышцы и междолевых артерий почки крыс Wistar), предсокращенных 2×10^{-5} М МА, однако наблюдалась тенденция к их расслаблению, более выраженная в артерии икроножной мышцы крысы (табл. 2).

Исследование влияния 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на тонус сегментов аорты крысы, предсокращенных фенилэфрином

В исследованиях, проведенных на сегментах грудного отдела аорты крыс с использованием установки Myobath II, получено, что в условиях предсокращения сегментов грудного отдела аорты крыс ФЭ ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина наблюдается тенденция к дозозависимому снижению МН в препаратах, полученных как от крыс линии Wistar, так и от гипертензивных крыс линии SHR. При этом более выраженное расслабление наблюдалось в сегментах аорты, полученной от крыс линии SHR (табл. 2).

Исследование влияния 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на сократительные ответы сегментов аорты крысы в неизоосмотической среде

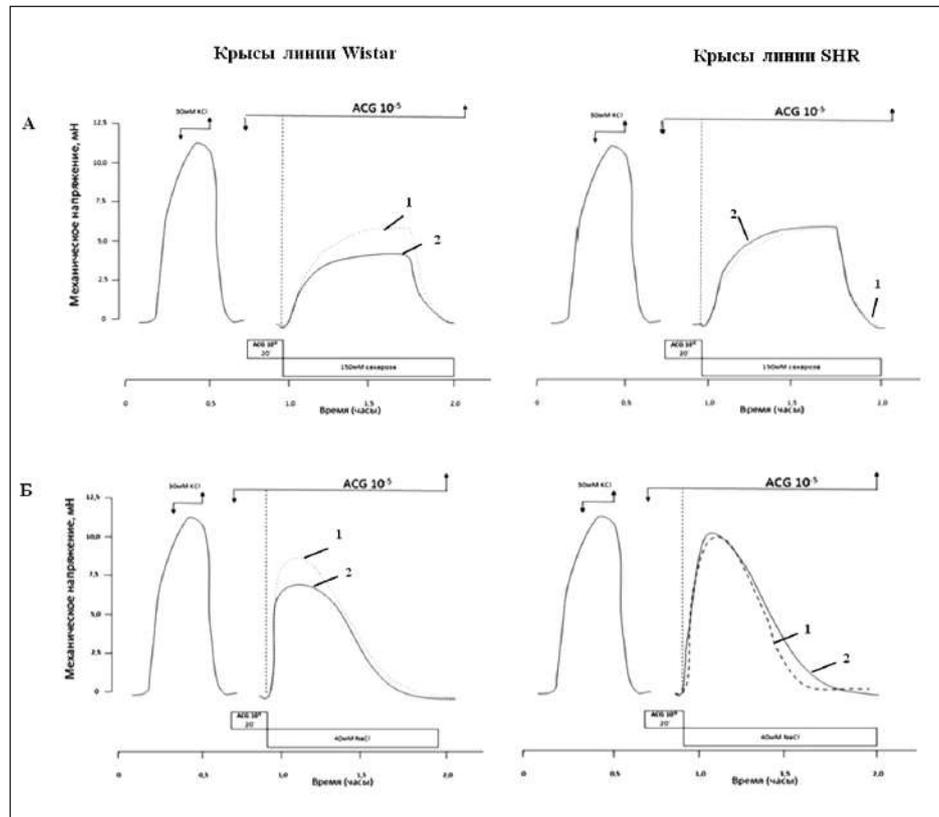
Изменение осмолярности среды вызывает развитие сокращений сосудистых гладкомышечных клеток (СГМК). Одним из способов изменения объема клеток является их помещение в гиперосмолярную среду, которая вызывает сжатие/стрикцию. Бы-

ло исследовано влияние ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на сокращения, вызванные модифицированным раствором Кребса, содержащим 150 мМ сахарозы в качестве непроницающего осмолита. Предобработка сегментов аорты крыс Wistar 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерином (10^{-5} М) в течение 20 минут уменьшала амплитуду сокращений, вызванных гиперосмотическим раствором, на $15,7 \pm 0,2\%$ ($n = 4$, $p < 0,05$) в сравнении с величиной гиперосмотического сокращения в отсутствие 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина, но несущественно повышала величину гиперосмотического сокращения аорты крыс SHR на $5,6 \pm 0,2\%$ ($n = 4$) (рис. 1 А).

Снижение осмотического давления физиологического раствора путем уменьшения содержания в нем NaCl до 40,4 мМ ведет к быстрому развитию транзиторного сокращения гладкомышечных сегментов аорты крысы. 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин (10^{-5} , предобработка 20 минут) снижал амплитуду сокращений сегментов аорты крыс Wistar, индуцированных гипоосмотическим набуханием, на $26,5 \pm 0,1\%$ ($n = 4$, $p < 0,05$) в сравнении с данными, полученными в отсутствие 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина, но не влиял на амплитуду гипоосмотического сокращения гладкомышечных сегментов аорты крыс линии SHR (рис. 1 Б).

Для получения изоосмотической стрикции сегменты аорты выдерживали в гипоосмотической среде в течение 60 минут, затем производили восстановление осмолярности раствора до 120 мМ NaCl с добавлением 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина (10^{-5} М). Амплитуда изоосмотиче-

Рисунок 1. Влияние лекарственного средства на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина (10^{-5} М) на сокращение гладкомышечных клеток аорты крыс Wistar и крыс линии SHR, индуцированное гиперосмотическим (А) и гипоосмотическим раствором (Б)



Примечание: SHR (spontaneously hypertensive rats) — линия спонтанно гипертензивных крыс; по оси ординат — механическое напряжение (мН); по оси абсцисс — время (часы). Стрелками показаны добавление и удаление соответствующих растворов: 1 — контроль, 2 — опыт.

ской стрикции в присутствии препарата снизилась на $25,9 \pm 0,4\%$ ($n = 4$, $p < 0,05$) в сегментах аорты крыс Wistar, но увеличилась на $39,8 \pm 2,1\%$ ($n = 4$, $p < 0,05$) в сегментах аорты крыс линии SHR, в сравнении с величиной изоосмотического сокращения в отсутствие 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина (рис. 2).

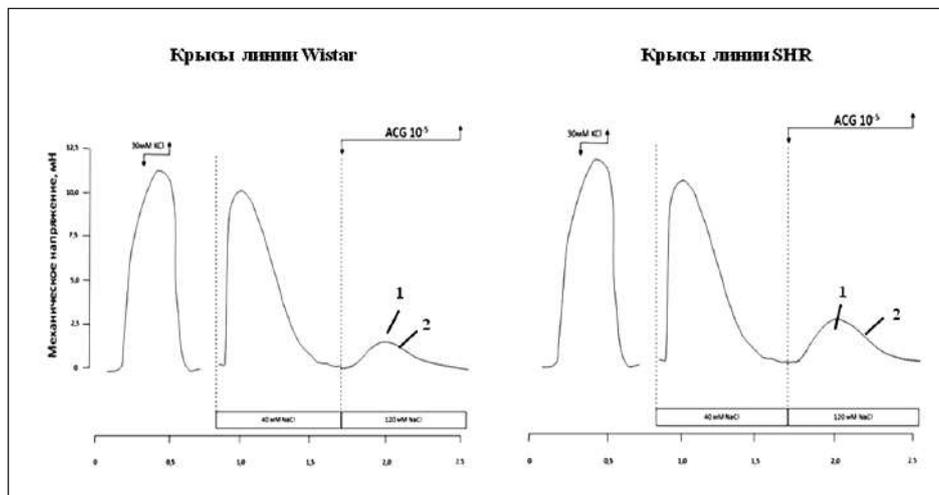
Обсуждение

1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин является аналогом ФАТ. Ранее было показано, что рецепторы к ФАТ представлены в мембранах гладкомышечных и эндотелиальных клеток сосудов [11]. Взаимодействие ФАТ с рецепторами стимулирует расслабление сосудов [13–15], в частности в почечных артериях, а антагонисты ФАТ — их констрикцию [16]. Использование ФАТ затруднено в связи с кратковременностью его гипотензивного действия, поэтому синтетические структурные аналоги ФАТ, обладающие более продолжительным действием, представляют интерес как кандидаты на роль нового антигипертензивного препарата. Рассмотренный в статье 1-О-гексадецил-2-О-метил-

карбамоилглицерин является представителем группы 1-алкил-2-алкилкарбамоилглицеринов — структурных аналогов ФАТ [24].

При внутрижелудочном введении ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина (10 мг/кг) крысам Wistar наблюдалось умеренное снижение АД (в большей степени диастолического) за счет выраженного снижения общего периферического сопротивления сосудов. Учитывая сведения об экспрессии рецепторов ФАТ СГМК, мы исследовали влияние 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на МН кольцевых сосудистых сегментов, полученных от артерий различного уровня (аорта, брыжеечные и почечные артерии, артерии икроножной мышцы). Полученные результаты не выявили выраженного сосудорасслабляющего эффекта ЛС на изолированные сосудистые сегменты, предсокращенные ФЭ и МА — активаторами α_1 -адренергических рецепторов. Однако в ряде сегментов наблюдалась тенденция к снижению их МН при действии препарата. Полученные результаты позволяют предположить, что антигипертензивное действие препарата, вероятно, реализуется

Рисунок 2. Влияние лекарственного средства на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина (10^{-5} М) на изоосмотическую стрикцию гладкомышечных клеток аорты крыс Wistar и крыс линии SHR



Примечание: SHR (spontaneously hypertensive rats) — линия спонтанно гипертензивных крыс; по оси ординат — механическое напряжение (мН), по оси абсцисс — время (часы). Стрелками показаны добавление и удаление соответствующих растворов: 1 — контроль, 2 — опыт.

посредством неких системных механизмов, которые предстоит изучить.

В экспериментах с изменением осмолярности среды выявлено, что 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин оказывает разнонаправленное действие на сегменты аорты крыс Wistar и SHR: препарат снижал амплитуду гипер-, гипо-, изоосмотических сокращений в сегментах аорты крыс Wistar, но увеличивал (изоосмотическая стрикция) или не изменял (гипер- и гипоосмотические сокращения) амплитуду сокращений в сегментах аорты крыс линии SHR.

Ключевую роль в обеспечении сокращений сосудистых гладких мышц в неизоосмотической среде играют неравновесное распределение ионов хлора и деполяризующие хлорные токи. Среди ранних механизмов регуляторного увеличения объема, запускаемого гипертонической стрикцией, важную роль играют Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорт (NKCC) и Na^+/H^+ обмен. Сокращение в гипоосмотической среде обусловлено оперированием классических кальций-зависимых механизмов и индуцируется Cl^- -зависимой деполяризацией мембраны и открытием Ca^{2+} -каналов L-типа. Транзиторный характер сокращения при изоосмотической стрикции обусловлен восстановлением объема клеток, опосредованным активацией NKCC [27].

Разнонаправленное действие 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина на артерии крыс Wistar и SHR может быть связано с различием механизмов регуляции СГМК в норме и при развитии артериальной гипертензии. Так, у нормотензивных

крыс ЛС на основе 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерина блокирует NKCC. Bianchi G. и соавторы (1985) показали, что в эритроцитах F_2 гибридов SHR и нормотензивных крыс активность NKCC положительно коррелирует с величиной кровяного давления, а Flagella M. и соавторы (1999) установили, что генетически модифицированные мыши, имеющие нокаутированный ген NKCC1, (NKCC1^{-/-} knockout mice) характеризуются пониженной величиной кровяного давления и снижением тонуса и величины сократительных реакций сегментов СГМК при действии α_1 -адреноагониста ФЭ [28, 29]. Эти наблюдения еще раз подтверждают вовлечение NKCC в развитие артериальной гипертензии.

Заключение

Синтетический аналог ФАТ 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин оказывает гипотензивное действие при внутрижелудочном введении крысам за счет выраженного снижения УПС сосудов, однако при действии препарата на изолированные сосуды, предсокращенные активаторами α_1 -адренорецепторов, выраженного сосудорасслабляющего эффекта не выявлено, что позволяет предположить системные (нервные и/или гуморальные) механизмы гипотензивного действия 1-О-гексадецил 2-О-метилкарбамоилглицерина. Вместе с тем 1-О-гексадецил-2-О-метилкарбамоилглицерин снижает амплитуду сокращений, индуцированных инкубацией в неизоосмотической среде у нормотензивных, но не гипертензивных крыс, что

свидетельствует о возможном вовлечении НКСС в механизмы действия препарата.

Финансирование исследования / Financial support

Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы (Государственный контракт № 14.N08.12.0029). / The work was supported by the Federal Goal-Oriented Program (Governmental contract № 14.N08.12.0029).

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

- Martsevich SY, Koutishenko N, Metelitsa VI. Withdrawal effects of antianginal therapy: comparison of isosorbide dinitrate and nifedipine. *Int J Cardiol.* 1998;64(2):137–44.
- Ruzicka M, Leenen FH. Relevance of 24 hour blood pressure profile and sympathetic activity for outcome on short- vs long-acting 1,4-dihydropyridines. *Am J Hypertens.* 1996;9(1):86–94.
- Окорокров А. Н. Лечение болезней внутренних органов: Практик. руководство: в 3 т. Т. 3. Витебск: Белмедкнига; 1997. 464 с. [Okorokov AN. Treatment of diseases of internal organs: Practical guide: In 3 vol. T 3. Vitebsk: Belmedkniga; 1997. 464 p. In Russian].
- Vfriano F, Bussolati B, Migliori M, Russo S, Triolo G, Camussi G. Platelet-activating factor synthesis by neutrophils, monocytes, and endothelial cells is modulated by nitric oxide production. *Shock.* 2003;19(4):339–344.
- Elstadt MR, Prescott SM, McIntyre TM, Zimmerman GA. Synthesis and release of platelet-activating factor by stimulated human mononuclear phagocytes. *J Immunol.* 1988;140(5):1618–1624.
- Ishii S, Nagase T, Shimizu T. Platelet-activating factor receptor. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2002;68–69:599–609.
- Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, McIntyre TM. Platelet activating factor and related lipid mediators. *Annu Rev Biochem.* 2000;69:419–445.
- Farooqui AA, Horrocks LA. Plasmalogens, platelet-activating factor, and other ether glycerolipids. In: *Bioactive Lipids*; 2004. P. 107–134.
- McIntyre TM, Prescott SM, Stafforini DM. The emerging roles of PAF acetylhydrolase. *J Lipid Res.* 2009;50: S255–S259.
- Shukla SD. Platelet activating factor receptor and signal transduction mechanisms. *FASEB J.* 1992;6(6):2296–2301.
- Каде А. Х., Занин С. А., Губарева Е. А., Турова А. Ю., Богданова Ю. А., Апсальямова С. О. и др. Физиологические функции сосудистого эндотелия. Фундаментальные исследования. 2011;11(3):611–617. [Kade AK, Zanin SA, Gubareva EA, Turovaja A. Y., Bogdanova Y. A., Apsalyamova S. O et al. Physiological functions of vascular endothelium. *Fundamental'nye Issledovaniya = Fundamental Investigations.* 2011;11(3): 611–617. In Russian].
- Hwang S-B. Identification of a second putative receptor of platelet-activating factor from human polymorphonuclear leukocytes. *J Biol Chem.* 1988;263(7):3225–3233.
- Argiolas L, Fabi F, del Basso P. Mechanisms of pulmonary vasoconstriction and bronchoconstriction produced by PAF in guinea-pig: role of platelets and cyclooxygenase metabolites. *J Pharmacol.* 1995;114(1):203–209.
- Ibe BO, Portugal AM, Raj JU. Metabolism of platelet activating factor by intrapulmonary vascular smooth cells: effect of oxygen on phospholipase A2 protein expression and activities of acetyl-CoA acetyltransferase and choline-phosphotransferase. *Mol Genet Metab.* 2002;77(3):237–248.
- Toga H, Hibler S, Ibe BO, Raj JU. Vascular effects of platelet-activating factor in lambs: role of cyclo- and lipoxygenase. *J Appl Physiol.* 1992;73(6):2559–2566.
- Cailleaux S, Lopes-Martins RA, Aimbire F, Cordeiro RS, Tibiriçá E. Involvement of platelet-activating factor in the modulation of vascular tone in the isolated perfused rabbit kidney. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1999;359(6):505–511.
- Ferguson SSG, Barak LS, Zhang J, Caron MG. G protein-coupled receptor regulation: role of G protein-coupled receptor kinases and arrestins. *Can J Physiol Pharmacol.* 1996;74(10): 1095–1110.
- Lee J-H, Johnson PRA, Roth M, Hunt NH, Black JL. ERK activation and mitogenesis in human airway smooth muscle cells. *Am J Physiol.* 2001;280(5): L1019–L1029.
- Lin A-Y, Rui Y-C. Platelet activating factor induced calcium mobilization and phosphoinositide metabolism in cultured cerebral microvascular endothelial cells. *Biochim Biophys Acta.* 1994;1224(2):323–328.
- Rehring TF, Brew EC, Friese RS, Banerjee A, Harken AH. Clinically accessible cell signaling: second messengers in sepsis and trauma. *J Surg Res.* 1996;60 (1):270–277.
- Hirayama T, Ogawa Y, Tobise K, Kikuchi K. Mechanism of endothelium-dependent vasorelaxation evoked by lysophosphatidylcholine. *Hypertens Res.* 1998;21(3):137–145.
- Noguchi K, Matsuzaki T, Shiroma N, Ojiri Y, Sakanashi M. Involvement of nitric oxide and eicosanoids in platelet-activating factor-induced haemodynamic and haematological effects in dogs. *Br J Pharmacol.* 1996;118(4):941–950.
- Tanaka Y, Hayakawa S, Imai T, Akutsu A, Hirano H, Tanaka H. et al. Possible involvement of endothelium-derived hyperpolarizing factor in the depressor responses to platelet activating factor in rats. *Br J Pharmacol.* 2000;131(6):1113–1120.
- Malekin SI, Kotelevtsev SV, Gavrilova SA, Fadyukova OE, Golubeva AV, Grinchenko MI et al. Long-term normalization of blood pressure in SHR and 1-kidney 1-clip rats by synthetic precursor of stable PAF analogue without systemic effects in normotensive rats. *Pathophysiology.* 2011;18(2):151–157.
- Mulvany MJ, Halpern W. Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ Res.* 1977;41(1):19–26.
- Трахтенберг И. М., Сова П. Е., Шефтель В. О., Оникиенко Ф. А. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы): под ред. И. М. Трахтенберга. М.: Медицина, 1991. 203 с. [Trakhtenberg IM, Sova RE, Sheftel VO, Onikienko FA. The problem of the norm in toxicology (modern concepts and methodological approaches, basic parameters and constants): ed. by I. M. Trakhtenberg. M.: Medicine; 1991. 203 p. In Russian].
- Lang F, Ritter M, Gamper N, Huber S, Fillon S, Tanneur V et al. Cell volume in the regulation of cell proliferation and apoptotic cell death. *Cell Physiol Biochem.* 2000;10(5–6):417–428.
- Bianchi G, Ferrari P, Trizio P, Ferrandi M, Torielli L et al. Red blood cell abnormalities and spontaneous hypertension in rats. A genetically determined link. *Hypertension.* 1985;7:319–325.
- Flagella M, Clarke LL, Miller ML, Erway LC, Giannella RA et al. Mice lacking the basolateral Na-K-2Cl⁻-cotransporter have impaired epithelial chloride secretion and are profoundly deaf. *J Biol Chem.* 1999;274:26946–26955.

Информация об авторах

Гусакова Светлана Валерьевна — доктор медицинских наук, заведующая кафедрой биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России;

Рыдченко Виктория Сергеевна — аспирантка кафедры биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России;

Смаглий Людмила Вячеславовна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России;

Плотников Марк Борисович — доктор биологических наук, заведующий лабораторией фармакологии кровообращения ФГБНУ Томский НИИМЦ РАН;

Чернышева Галина Анатольевна — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения ФГБНУ Томский НИИМЦ РАН;

Тарасова Ольга Сергеевна — доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета ФГОУ ВПО МГУ им. М. В. Ломоносова;

Орлов Сергей Николаевич — доктор биологических наук, заведующий лабораторией физико-химии биологических мембран ФГОУ ВПО МГУ им. М. В. Ломоносова.

Author information

Svetlana V. Gusakova, MD, PhD, DSc, Head, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University;

Viktoria S. Rydchenko, Postgraduate Student, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University;

Liudmila V. Smaglii, MD, PhD, Associate Professor, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University;

Mark B. Plotnikov, PhD in Biology Science, Head, Laboratory for Pharmacology Circulation, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine;

Galina A. Chernysheva, MD, PhD, DSc, Senior Scientist, Laboratory for Pharmacology Circulation, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine;

Olga S. Tarasova, PhD in Biology Science, DSc, Professor, Department of Human and Animals Physiology, Lomonosov Moscow State University;

Sergei N. Orlov, PhD in Biology, DSc, Professor, Head, Laboratory of Physico-Chemistry of Biological Membranes, Lomonosov Moscow State University.