

УДК 611.42:612.018.2

DOI: 10.24884/1682-6655-2017-16-4-73-79

ЛОБОВ Г. И., УНТ Д. В.

Глюкокортикоиды стимулируют сократительную активность лимфатических сосудов и узлов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт физиологии им. И. П. Павлова» РАН
199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6
e-mail: gilobov@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 10.10.17; принята к печати 10.11.17

Реферат

Введение. Лимфатическая сеть участвует в запуске и развитии иммунного ответа. С иммунологической точки зрения, лимфоток, обеспечиваемый за счет активных сокращений лимфатических сосудов (ЛС), является процессом доставки антигенов и антигенпрезентирующих клеток в лимфатические узлы (ЛУ). Данное исследование было проведено с целью изучения негеномных эффектов и механизмов действия глюкокортикоидов (ГК), являющихся естественными иммуномодуляторами, на транспортную функцию ЛС и ЛУ.

Материал и методы. Для исследования использовали брыжеечные афферентные ЛС диаметром 1,2–1,5 мм и ЛУ быков. Исследовали параметры сократительной активности изолированных ЛС и капсулы ЛУ при действии ГК *in vitro*. Использовали агонисты и антагонисты сигнальных путей для определения механизмов действия ГК на гладкомышечные клетки (ГМК).

Результаты исследования. ГК в терапевтических концентрациях приводили к повышению тонуса ЛС и ЛУ, увеличению частоты и снижению амплитуды фазных сокращений. Показано, что ГК оказывают активирующее действие на α -адренорецепторы ГМК за счет повышения их афинности. ГК активируют в гладкомышечных клетках сигнальный путь RhoA/ROCK и ингибируют синтез эндотелиальных вазодилататоров – NO и простаглицина (PGI₂). Выявленные изменения сократительной функции ЛС и ЛУ при действии ГК лежат в основе модуляции ГК транспорта лимфы и скорости доставки в ЛУ антигенов и антигенпрезентирующих клеток, т. е. регуляции иммунных реакций.

Выводы. Изучены негеномные эффекты и механизмы действия ГК на сократительную функцию ЛС и ЛУ. ГК оказывают непосредственное активирующее действие на ГМК ЛС и ЛУ посредством стимуляции α -адренорецепторов, а также ингибируют продукцию эндотелиоцитами NO и PGI₂.

Ключевые слова: лимфатические сосуды, лимфатические узлы, гладкомышечные клетки, эндотелий, глюкокортикоиды, NO, простаглицин

Для цитирования: Лобов Г. И., Унт Д. В. Глюкокортикоиды стимулируют сократительную активность лимфатических сосудов и узлов. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2017;16(4):73–79. doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-4-73-79

UDC 611.42:612.018.2

DOI: 10.24884/1682-6655-2017-16-4-73-79

LOBOV G. I., UNT D. V.

Glucocorticoids stimulate the contractile activity of lymphatic vessels and lymph nodes

Pavlov Institute of Physiology of Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia,
199034, Russian Federation, St. Petersburg, Makarova street, 6
e-mail: gilobov@yandex.ru

Received 10.10.17; accepted 10.11.17

Summary

Objective. The lymphatic network participates in the launch and development of an immune response. From an immunological point of view, the lymph flow, provided by active contractions of the lymphatic vessels, is the process of delivering antigens and antigen-presenting cells to the lymph nodes. The purpose of this study is to study the non-genomic effects and mechanisms of action of glucocorticoids, which are natural immunomodulators, on the transport function of lymphatic vessels and lymph nodes.

Materials and methods. Bovine mesenteric afferent lymphatic vessels 1,2–1,5 mm in diameter and lymph nodes were used for the study. The contractile activity of isolated lymphatic vessels and capsules of lymph nodes under the action of glucocorticoids *in vitro* were studied. Agonists and antagonists of signaling pathways were used to determine the mechanisms of action of glucocorticoids on smooth muscle cells.

Results and their discussion. Glucocorticoids in therapeutic concentrations increase the tone of lymphatic vessels and lymph nodes, increase in frequency and a decrease the amplitude of phase contractions. It is shown that glucocorticoids stimulate α -adrenoreceptors of smooth muscle cells due to the increase in their affinity. Glucocorticoids activate in the smooth muscle cells the RhoA / ROCK signaling pathway and inhibit the synthesis of endothelial vasodilators – NO and prostacyclin. The revealed changes in the contractile function of lymphatic vessels and lymph nodes under the action of glucocorticoids underlie the modulation of glucocorticoid transport of lymph and the speed of delivery to the lymph nodes of antigens and antigen-presenting cells, i.e. regulation of immune responses.

Conclusions. Non-genomic effects and mechanisms of action of glucocorticoids on the contractile function of lymphatic vessels and nodes have been studied. Glucocorticoids activate smooth muscle cells of lymphatic vessels and nodes by stimulating α -adrenoreceptors, and also inhibit the production of NO and prostacyclin.

Key words: lymphatic vessels, lymph nodes, smooth muscle cells, endothelium, glucocorticoids, NO, prostacyclin

For citation: Lobov G. I., Unt D. V. Glucocorticoids stimulate the contractile activity of lymphatic vessels and lymph nodes. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2017;16(4):73–79. doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-4-73-79

Введение

У млекопитающих циркуляцию жидкости осуществляют две специализированные сосудистые системы: 1) кровеносная, осуществляющая доставку кислорода, питательных веществ и удаление метаболитов; 2) лимфатическая, обеспечивающая поддержание баланса тканевой жидкости, абсорбцию липидов и иммунный надзор [1, 28]. Лимфатическая сосудистая сеть начинается с капилляров, стенка которых не имеет базальной мембраны и состоит из одного слоя эндотелиальных клеток [23]. Лимфатические капилляры сливаются в мелкие ЛС, которые, объединяясь, становятся крупнее, в состав их стенки входят несколько слоев ГМК [1]. Крупные сосуды впадают в ЛУ, а выходящие из них эфферентные сосуды формируют лимфатические коллекторы, впадающие в кровеносную систему в месте слияния яремной и подключичной вен.

Лимфатическая сеть участвует в запуске и развитии иммунного ответа. С иммунологической точки зрения, лимфоток, обеспечиваемый за счет активных сокращений ЛС, является процессом доставки антигенов и антигенпрезентирующих клеток в ЛУ. При повреждении кожи и слизистых инфекционные патогены проникают в лимфатические капилляры и далее по ЛС поступают в ЛУ. Вместе с ними транспортируются и активированные дендритные клетки, находящиеся в значительном количестве в коже и слизистых и выполняющие функции антигенпрезентирующих клеток [24]. В итоге антигены и антигенпрезентирующие клетки доставляются в ЛУ к сайтам, содержащим скопления зрелых наивных лимфоцитов (Т- и В-фолликулы), участвующим в развитии адаптивного иммунитета. Таким образом, лимфатическая система может контролировать скорость, силу и длительность иммунного ответа несколькими путями, которые включают в себя регулируемый транспорт антигенов и антигенпрезентирующих клеток по афферентным ЛС и выход лимфоцитов из ЛУ [24].

ЛС не только запускают адаптивный иммунный ответ, но и участвуют в управлении иммунным ответом посредством модуляции иммунологического микроокружения дренирующего ЛУ, обеспечивая транспортный механизм не только для антигена, но и для эндогенных иммуномодуляторов, продуцируемых в воспаленных периферических тканях [15]. Запуск и развитие адаптивных иммунных реакций в ЛУ приводит к их быстрому ремоделированию (значитель-

ному увеличению их объема с сохранением сложной внутренней структуры) [6]. Увеличение вместимости ЛУ для размещения увеличенного объема афферентной лимфы и рекрутирования наивных лимфоцитов и облегчения их встречи с антигенами и антигенпредставляющими клетками имеет решающее значение для осуществления иммунного надзора [27]. Одновременно с увеличением количества входящих в воспаленный ЛУ иммунных клеток блокируется выход из него лимфоцитов [12]. По завершении иммунного наблюдения наивные Т-клетки, а также активированные антигеном эфферентные клетки и клетки памяти выходят из ЛУ с эфферентной лимфой и по ЛС возвращаются в систему кровообращения и, в конечном итоге, поступают в места воспаления [12, 16].

Адаптивный иммунитет является сложным процессом, скорость его развития, интенсивность иммунной реакции и ее продолжительность определяются множеством химических веществ, как постоянно циркулирующих в плазме крови, так и образующихся в процессе воспаления [18]. Среди множества естественных иммуномодуляторов особое место занимают ГК, обладающие мощными противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами. Они широко используются для лечения как острых, так и хронических воспалительных заболеваний, а также применяются для лечения некоторых лейкозов и в качестве иммуносупрессоров после трансплантации органов [19, 22]. Данных о действии ГК на транспортную функцию ЛС и ЛУ, являющихся важнейшими участниками иммунного процесса, практически нет. В то же время знание эффектов и механизмов действия ГК на ЛС и ЛУ представляется важным, особенно с учетом широкого применения ГК в клинике.

Данное исследование было проведено с целью изучения негеномных эффектов и механизмов действия ГК на транспортную функцию ЛС и ЛУ. Поскольку транспорт лимфы по ЛС и ЛУ осуществляется преимущественно за счет активных сокращений ГМК стенки ЛС и капсулы ЛУ, исследование было направлено на изучение сократительной функции их ГМК.

Материал и методы исследования

Для исследования использовали брыжеечные афферентные ЛС диаметром 1,2–1,5 мм и ЛУ быков. ЛС (n=21) и ЛУ (n=18) вырезали через 12–15 мин после обескровливания животных и доставляли в лабораторию в физиологическом солевом растворе при

температуре +2–4 °С. В лаборатории сосуды и узлы очищали от жира и окружающей рыхлой соединительной ткани. В качестве объекта исследования ЛС использовали колечки шириной 1 мм, вырезанные в средней части лимфангиона (n=34). В ЛУ вырезали полоски капсулы длиной 10–12 мм и шириной 2 мм (n=27). Тщательно удаляли корковое вещество узла. В итоге объект исследования представлял собой полоску капсулы ЛУ с субкапсулярным синусом и минимальным содержанием коркового вещества (n=27). У 16 препаратов ЛС механически удаляли эндотелий (ЭК), у 12 полосок капсулы ЛУ удаляли корковое вещество и субкапсулярный синус. Удаление ЭК было подтверждено отсутствием релаксационного ответа на ацетилхолин.

Препараты размещали в вертикальной проточной термостатируемой камере с датчиком силы FORT-10 (WPI, США). Сигнал от датчика силы поступал в блок Labmaster (усилитель + АЦП) (Pavlov Institute of Physiology RAS), далее – в компьютер, данные обрабатывались программой «Labmaster» с использованием пакета прикладных программ «MATLAB».

Эксперименты проводили при непрерывном потоке физиологического солевого раствора следующего состава, мМ/л: NaCl – 120,4; KCl – 5,9; CaCl₂ – 2,5; MgCl₂ – 1,2; NaH₂PO₄ – 1,2; NaHCO₃ – 15,5; глюкоза – 11,5. Физиологический раствор непрерывно сатурировали газовой смесью, состоящей из 95 % O₂ и 5 % CO₂. Температуру раствора в камере поддерживали на уровне 37,0±0,1 °С с помощью непрерывной циркуляции воды из внешнего контура термостата LOIP LT-105a.

В настоящем исследовании использовали следующие препараты: гидрокортизон (SOLU-CORTEF, Pfizer MFG, Бельгия) 1 мг/л и 10 мг/л; дексаметазон (Dexamethasone, Sigma-Aldrich), 0,04 мг/л и 0,4 мг/л; ацетилхолин (Acetylcholine chloride, Sigma-Aldrich) 1×10⁻⁶ М/л; норадреналин (±)-Norepinephrine (+)-bitartrate salt, Sigma-Aldrich, 1×10⁻⁶ М/л; празозин (Prazosin hydrochloride, Sigma-Aldrich), 1×10⁻⁶ М/л; N^ω-nitro-L-arginine methyl ester – L-NAME (ICN Biomedicals), 1×10⁻⁴ М/л; индометацин (Indome-

thacin, Sigma), 1×10⁻⁵ М/л; Y-27632 (Sigma-Aldrich), 1×10⁻⁸ М/л.

Дексаметазон (DEX) и индометацин предварительно растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО, «Химреактивкомплект», РФ) с последующим разведением в физиологическом растворе до необходимой концентрации. Растворитель для гидрокортизона, поставляемый в комплекте SOLU-CORTEF, и ДМСО в разведении в физиологическом растворе 1:1000 не вызывали статистически значимых изменений параметров сократительной активности ЛС и ЛУ.

Обработку полученных результатов проводили с помощью программы «StatSoft STATISTICA 6.1.478». Полученные данные представлены в виде средних значений с их стандартным отклонением (M±SE). Для установления достоверности различий использовали критерий t-Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

ЛС и ЛУ в физиологическом растворе имели стабильный уровень тонуса и обладали спонтанной фазной сократительной активностью, параметры которой подробно описаны ранее [3, 4]. Через несколько минут после введения в раствор гидрокортизона (1 мг/л) или DEX (0,04 мг/л), что в клинике принято считать низкими терапевтическими дозами [9], повышался тонус ЛС и ЛУ, возрастала частота и снижалась амплитуда их фазных сокращений. При повышении концентрации ГК (гидрокортизон – 10 мг/л, DEX – 0,4 мг/л) изменения сократительной активности ЛС и ЛУ были более выраженными. К 7–10-й мин действия ГК параметры сократительной деятельности ЛС и ЛУ устанавливались на новом, относительно стабильном, уровне (табл. 1).

Поскольку в низких концентрациях стимулирующие эффекты гидрокортизона и DEX были слабо выраженными и с учетом того, что их эффекты в эквивалентных концентрациях (известно, что по противовоспалительной активности DEX в 30 раз эффективнее гидрокортизона) практически не отличались, дальнейшие исследования проводились

Таблица 1

Параметры сократительной активности лимфатических сосудов и лимфатических узлов при действии гидрокортизона и дексаметазона

Table 1

Parameters of contractile activity of lymphatic vessels and lymph nodes under the action of hydrocortisone and dexamethasone

	Параметр	Гидрокортизон 1 мг/л	Гидрокортизон 10 мг/л	Дексаметазон 0,04 мг/л	Дексаметазон 0,4 мг/л
ЛС	Тонус	107±7,6*	120±10,1*	109±11,7*	124±10,7*
	Амплитуда	94±6,8*	85±7,8*	93±8,8*	83±7,1*
	Частота	108±6,9*	127±10,8*	111±10,4*	131±11,6*
ЛУ	Тонус	105±7,2*	117±10,4*	106±3,8*	119±9,6*
	Амплитуда	97±4,6	91±8,9*	96±4,2	87±8,5*
	Частота	106±6,1*	121±11,0*	107±5,7*	127±11,2*

Примечание: данные представлены в % по отношению к параметрам, зарегистрированным в физиологическом растворе; * – p<0,05.

**Параметры сократительной активности деэндотелизированных лимфатических сосудов
и лимфатических узлов при действии дексаметазона 0,4 мг/л**

Table 2

**Parameters of the contractile activity of lymphatic vessels and lymph nodes with a remote endothelium
under the action of dexamethasone (DEX) 0.4 mg/l**

	Параметр	Дексаметазон (интактные препараты)	Деэндотелизированные препараты	Дексаметазон (деэндотелизированные препараты)
ЛС	Тонус	124±10,7*	110±11,2*	127±11,7*#
	Амплитуда	83±7,1*	91±8,4*	81±8,2*#
	Частота	131±11,6*	113±10,3*	134±10,4*#
ЛУ	Тонус	119±9,6*	109±9,5*	122±10,1*#
	Амплитуда	87±8,5*	93±6,4*	90±7,2*#
	Частота	127±11,2*	111±9,3*	130±12,3*#

Примечание: данные представлены в % по отношению к параметрам, зарегистрированным в физиологическом растворе: * – $p < 0,05$ – достоверно по отношению к исходным параметрам интактных препаратов; # – $p < 0,05$ – достоверно по отношению к исходным параметрам деэндотелизированных препаратов.

с применением только одного ГК – DEX в концентрации 0,4 мг/л. Такую концентрацию принято считать терапевтически высокой [9].

С целью изучения прямых стимулирующих влияний ГК на ГМК ЛС и ЛУ на первом этапе мы исключили возможные влияния ЭК посредством деэндотелизации препаратов.

Деэндотелизированные сегменты ЛС и полоски ЛУ в тех же экспериментальных условиях имели повышенный уровень тонуса и более высокую частоту фазных сокращений по сравнению с интактными. На деэндотелизированные препараты DEX оказывал меньший стимулирующий эффект по сравнению с интактными (табл. 2).

С целью изучения механизма действия DEX на ГМК ЛС и ЛУ α -адренорецепторы на их мембране блокировали празозином. На фоне празозина стимулирующий эффект DEX на сократительную активность ЛС и ЛУ был меньше по сравнению с его эффектом в физиологическом растворе (рис. 1). Норадреналин оказывал стимулирующее действие на деэндотелизированные ЛС и ЛУ, приводя к повышению их тонуса, увеличению частоты и снижению амплитуды фазных сокращений. На фоне норадреналина DEX оказывал меньший стимулирующий эффект по сравнению с его эффектом в физиологическом растворе. В этих экспериментах изменения параметров сократительной активности были более выраженными в ЛС по сравнению с ЛУ (рис. 1).

Учитывая возможное влияние ГК на внутриклеточные сигнальные системы [30], мы провели исследование активности Rho-киназы в ГМК ЛС и ЛУ на фоне действия DEX. Предварительное введение в раствор Y-27632 (ингибитор Rho-киназы) уменьшало стимулирующий эффект DEX на тонус деэндотелизированных сегментов ЛС на 34,6±4,52 %, а на тонус деэндотелизированных полосок капсулы ЛУ – на 29,4±3,37 % по сравнению с величинами реакций в физиологическом растворе.

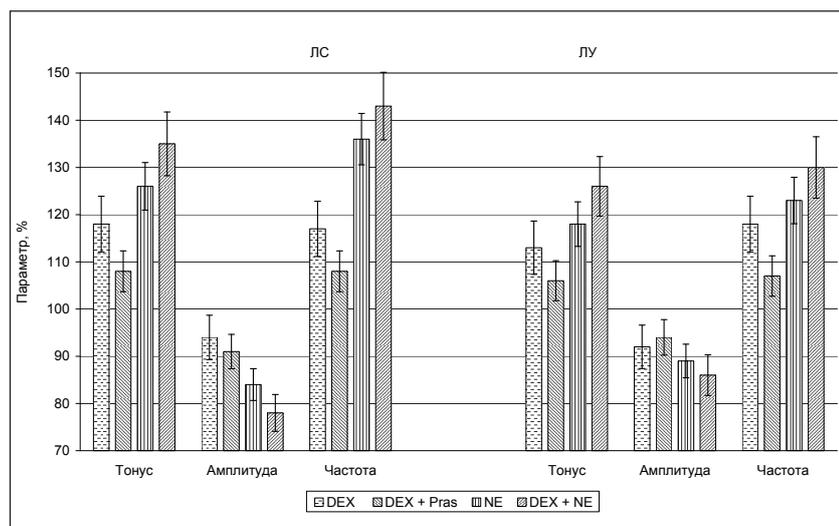


Рис. 1. Действие дексаметазона (DEX) на сократительную активность деэндотелизированных лимфатических сосудов (ЛС) и лимфатических узлов (ЛУ) на фоне празозина (Pras) и норадреналина (NE). Тонус, амплитуда и частота фазных сокращений представлены в % по отношению к их величинам, зарегистрированным на интактных препаратах в физиологическом растворе. Все изменения параметров сократительной активности лимфатических сосудов и узлов при действии дексаметазона на фоне празозина и норадреналина достоверны, $p < 0,05$

Fig. 1. Effects of dexamethasone (DEX) on the contractile activity of lymphatic vessels with the removed endothelium (LV, diagram on the left) and lymph nodes with the removed endothelium (LN, diagram on the right) in solution with prazosin (Pras) and noradrenaline (NE). The tone, amplitude and frequency of phase contractions are presented in % in relation to their values recorded on intact LV and LN in in physiological solution. All changes in parameters of contractile activity of lymphatic vessels and nodes with dexamethasone are significant, $p < 0.05$

В соответствии с данными литературы, вторым, не менее значимым механизмом, посредством которого ГК приводят к повышению артериального давления, является ингибирование продукции ЭК-вазодилаторов [7]. С целью определения роли различных эндотелиальных вазодилаторов в реализации стимулирующего эффекта DEX на ЛС и ЛУ были проведены две серии опытов с ингибированием синтеза NO и циклооксигеназы. При исследовании роли NO в раствор предварительно добавляли L-NAME, что приводило к некоторому повышению тонуса и возрастанию частоты фазных сокращений. Через 15 мин на фоне действия L-NAME в раствор вводили DEX, который в этом случае оказывал меньший стимулирующий эффект на ЛС и ЛУ по сравнению с эффектом DEX в физиологическом растворе (рис. 2). Исследование роли PGI_2 в действии DEX на ЛС и ЛУ проводилось по такой же схеме. Циклооксигеназу ингибировали индометацином. Действие индометацина сопровождалось небольшим повышением тонуса и возрастанием частоты фазных сокращений. Результаты данной серии экспериментов показаны на рис. 2.

ГК являются мощными иммуносупрессивными и противовоспалительными гормонами, которые оказывают влияние на функции различных клеток [10,

11]. Иммунорегулирующий эффект ГК проявляется в угнетении активности клеток лимфоидного ряда, торможении созревания и дифференцировки Т- и В-субпопуляций лимфоцитов, что приводит к снижению количества лимфоцитов в крови. ГК также тормозят продукцию антител В-лимфоцитами и плазматическими клетками, уменьшают продукцию лимфокинов и цитокинов разными иммунокомпетентными клетками, угнетают фагоцитарную активность лейкоцитов. На фоне большого количества публикаций об иммуномодулирующих и противовоспалительных эффектах ГК данных об их действии на транспортную функцию ЛС и ЛУ, без которой невозможна реализация иммунных реакций, в литературе нет.

ГК действуют на клетки через различные геномные и негеномные механизмы. Геномный механизм осуществляется посредством связывания ГК со специфическим цитоплазматическим глюкокортикоидным рецептором, который после связывания транслируется в ядро и изменяет экспрессию генов [20]. Эффекты этого механизма проявляются не ранее, чем через 30 мин после образования гормон-рецепторного комплекса [29]. Негеномные механизмы действия ГК являются более сложными и менее изученными. Полагают, что негеномные эффекты реализуются по-

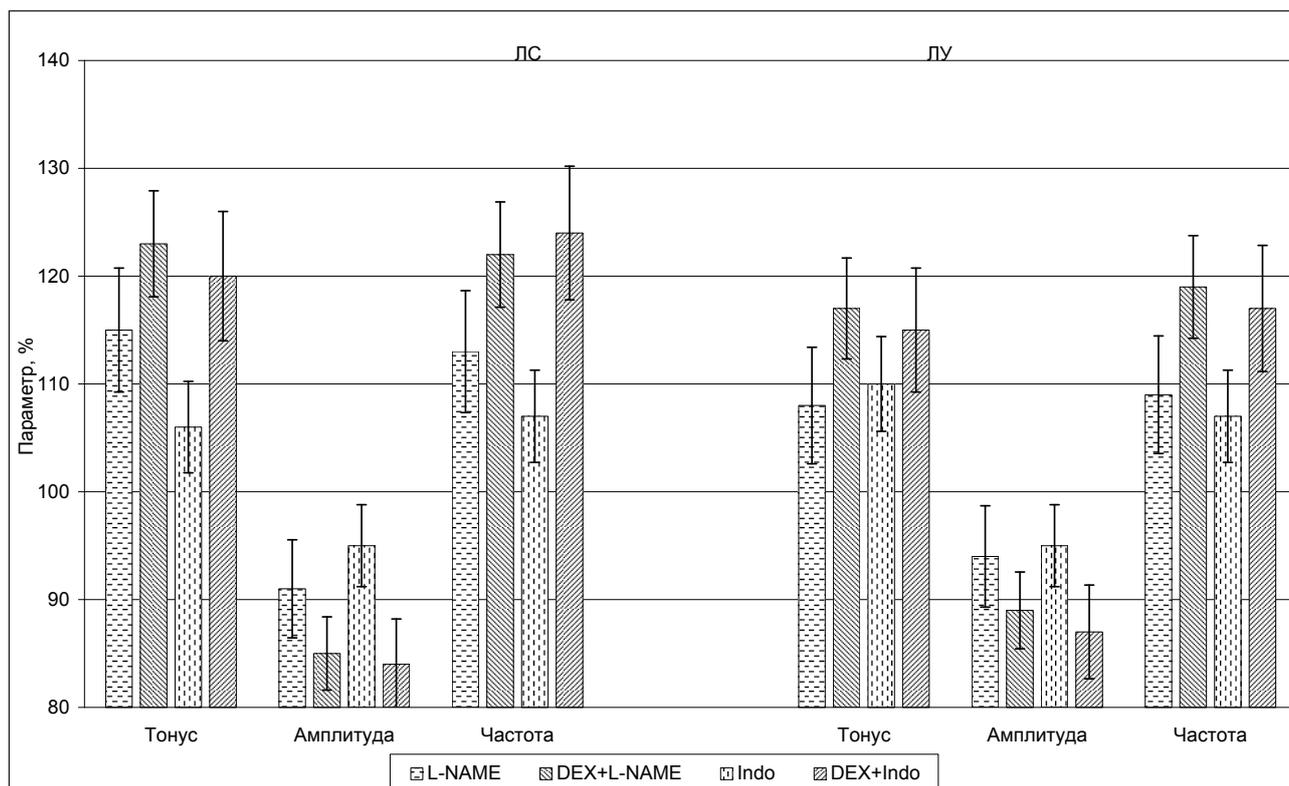


Рис. 2. Действие дексаметазона (DEX) на сократительную активность лимфатических сосудов (ЛС, диаграмма слева) и лимфатических узлов (ЛУ, диаграмма справа) на фоне L-MAME и индометацина (Indo). Тонус, амплитуда и частота фазных сокращений представлены в % по отношению к их величинам, зарегистрированным на интактных препаратах в физиологическом растворе. Все изменения параметров сократительной активности лимфатических сосудов и узлов при действии дексаметазона на фоне L-MAME и индометацина достоверны, $p < 0,05$

Fig. 2. The effect of dexamethasone (DEX) on the contractile activity of lymphatic vessels (LV, diagram on the left) and lymph nodes (LN, the diagram on the right) in solutions with L-MAME and indomethacin (Indo). The tone, amplitude and frequency of phase contractions are presented in % in relation to their values recorded on intact LV and LN in in physiological solution. All changes in the parameters of the contractile activity of lymphatic vessels and nodes under the action of dexamethasone are significant, $p < 0.05$

средством связывания ГК с рецепторами клеточных мембран или путем непосредственного взаимодействия с ферментами и другими клеточными белками [29]. В нашем исследовании были изучены только негеномные эффекты ГК на сократительную функцию ЛС и ЛУ.

Установлено, что гидрокортизон и DEX в изученных концентрациях стимулируют сократительную активность ЛС и ЛУ. При их действии повышался тонус ЛС и ЛУ, возрастала частота фазных сокращений. При этом обычно наблюдалось снижение их амплитуды, что, по нашему мнению, связано со сложной хроно-инотропной зависимостью в ЛС и ЛУ [3, 4]. Стимулирующий эффект ГК начинал проявляться на 4–5-й мин воздействия и достигал максимума к 7–10-й мин. Столь быстрое развитие эффекта позволяет полагать, что он реализуется посредством негеномного механизма.

В литературе имеются сведения о том, что ГК предотвращают вазодилатацию посредством повышения чувствительности α -адренорецепторов сосудистых ГМК к норадреналину [17, 30]. Учитывая эти данные, полученные при исследовании кровеносных сосудов, мы провели исследования эффектов DEX на ЛС и ЛУ на фоне норадреналина, являющегося естественным агонистом α -адренорецепторов, и празозина, являющегося селективным блокатором α -адренорецепторов.

Было установлено, что стимулирующий эффект норадреналина на ЛС и ЛУ возрастает в случае введения в омывающий раствор DEX. Эти данные дали основание предположить, что, как и в кровеносных сосудах [20], в ЛС и ЛУ активирующий эффект DEX (или его часть) реализуется посредством влияния на α -адренорецепторы ГМК стенки ЛС и капсулы ЛУ. Это предположение было подтверждено в следующей серии экспериментов, в которых было показано, что на фоне празозина стимулирующий эффект DEX на сократительную активность ЛС и ЛУ уменьшается. Ранее на препаратах аорты крысы было показано увеличение числа α -адренорецепторов с высокой афинностью при обработке препаратов DEX [17], что значительно повышало их связь с G-белками и усиливало эффекты агонистов. В наших опытах DEX, по-видимому, приводил к увеличению афинности α -адренорецепторов на мембране ГМК, что значительно усиливало стимулирующий эффект норадреналина, выделяющегося из окончаний симпатических нервов, имеющих в стенке ЛС и капсуле ЛУ [8].

Вторым, не менее значимым, механизмом, посредством которого DEX стимулирует сократительную активность ГМК ЛС и ЛУ, является активация в ГМК сигнального пути RhoA/ROCK, что приводит к увеличению скорости фосфорилирования легкой цепи миозина. Мы приходим к подобному заключению на основании результатов, показавших значительное снижение стимулирующего эффекта DEX на деэндоотелизированные сегменты ЛС и деэндоотелизированные полоски ЛУ на фоне Y-27632 (ингибитора Rho-киназы). Ранее активация этого сигнального пути под действием DEX была показана в ГМК брыжеечных артерий крысы [21].

Имеются данные о том, что ГК вызывают вазоконстрикторный эффект не только через активацию сосудистых ГМК, но и посредством изменения функций эндотелия [14]. Ранее проведенные эксперименты *in vitro* с моделями культуры ЭК позволили показать, что ГК регулируют сосудистую реактивность путем подавления производства вазодилаторов, таких как NO и PGI₂, но в этом вопросе нет единого мнения [25]. T. Wallerath et al. полагают, что ГК способны дестабилизировать эндотелиальную синтазу NO (eNOS), что способствует развитию артериальной гипертензии, которая наблюдается у крыс, получавших DEX [26].

В наших опытах на деэндоотелизированных препаратах ранее было показано, что они имеют повышенный тонус по сравнению с интактными [2, 4]. Такие же результаты были получены в данном исследовании. Причиной повышения тонуса было отсутствие в препаратах эндотелия, который постоянно продуцирует определенные количества NO и PGI₂. В данном исследовании было установлено, что стимулирующий эффект DEX на деэндоотелизированные сегменты ЛС и полоски капсулы ЛУ был выражен слабее по сравнению с интактными препаратами. Эти данные дали нам основание предположить, что часть стимулирующего эффекта DEX в интактных ЛС и ЛУ реализуется посредством ингибирования продукции эндотелиальных вазодилаторов. Для подтверждения этого предположения были проведены эксперименты с ингибированием синтазы NO и циклооксигеназы в интактных препаратах. Предварительное введение в раствор L-NAME приводило к повышению тонуса и увеличению частоты фазных сокращений сегментов ЛС и полосок капсулы ЛУ. Применение DEX вызывало дополнительное повышение тонуса и увеличение частоты фазных сокращений, однако увеличение показателей было значительно меньшим по сравнению с таковым в физиологическом растворе.

Таким образом, результаты, полученные в ходе выполнения данного исследования, впервые позволили выявить негеномные эффекты ГК на сократительную функцию ЛС и ЛУ. ГК в терапевтических концентрациях приводят к повышению тонуса ЛС и ЛУ, увеличению частоты и снижению амплитуды фазных сокращений. Раскрыты механизмы действия ГК на ЛС и ЛУ: 1) ГК оказывают активирующее действие на α -адренорецепторы ГМК, по-видимому, за счет повышения их афинности; 2) активируют в ГМК сигнальный путь RhoA/ROCK; 3) ингибируют синтез эндотелиоцитыми NO и PGI₂. Выявленные изменения сократительной функции ЛС и ЛУ при действии ГК лежат в основе модуляции ГК транспорта лимфы и скорости доставки в ЛУ антигенов и антигенпрезентирующих клеток, а также скорости выхода лимфоцитов из ЛУ, т. е. регуляции иммунных реакций.

Конфликт интересов / Conflict of interests

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

Литература / References

1. Борисов А. В. Функциональная анатомия лимфангиона // *Морфология*. – 2005. – Т. 128. – № 6. – С. 18–27.

[Borisov AV. Functional anatomy of lymphangion. *Morfologiya*. 2005;128(6):18-27. (In Russ).]

2. Лобов Г. И., Орлов Р. С. Клеточные механизмы регуляции транспорта лимфы // *Российский физиологический журнал. им. И. М. Сеченова*. – 1995. – Т. 81. – № 6. – С. 19–27. [Lobov GI, Orlov RS. The cellular mechanisms in the regulation of lymph transport. *Fiziol Zh Im I M Sechenova*. 1995;81(6):19-28. (In Russ).]

3. Лобов Г. И., Орлов Р. С. Саморегуляция насосной функции лимфангиона // *Российский физиологический журнал. им. И. М. Сеченова*. – 1988. – Т. 74. – № 7. – С. 977–986. [Lobov GI, Orlov RS. Self-regulation of the pump function of the lymphangion. *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova*. 1988;74(7):977-986. (In Russ).]

4. Лобов Г. И., Панькова М. Н. NO-зависимая модуляция сократительной функции гладких мышц капсулы лимфатических узлов // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. – 2010. – Т. 96. – № 5. – С. 489–497. [Lobov GI, Pan'kova MN. NO-dependent. Modulation of contractile function in capsule of lymph nodes. *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova*. 2010;96(5):489-497. (In Russ).]

5. Лобов Г. И., Панькова М. Н. Транспорт лимфы по лимфатическим узлам: механизмы регуляции // *Российский физиологический журнал. им. И. М. Сеченова*. – 2012. – Т. 98. – № 11. – С. 1350–1361. [Lobov GI, Pan'kova MN. Lymph transport in lymphatic nodes: mechanisms of regulation. *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova*. 2012;98(11):1350-1361. (In Russ).]

6. Acton S.E., Reis e Sousa C. Dendritic cells in remodeling of lymph nodes during immune responses. *Immunol Rev*. 2016;271(1):221-229. doi: 10.1111/imr.12414.

7. Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood*. 2003;101(10):3765-3777.

8. Allen JM, McCarron JG, McHale NG, Thornbury KD. Release of [³H]-noradrenaline from the sympathetic nerves to bovine mesenteric lymphatic vessels and its modification by alpha-agonists and antagonists. *Br J Pharmacol*. 1988;94(3):823-833.

9. Boumpas DT, Chrousos GP, Wilder RL et al. Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: basic and clinical correlates. *Ann Intern Med*. 1993;119(12):1198-1208.

10. Coutinho AE, Chapman KE. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol Cell Endocrinol*. 2011;335(1):2-13. doi: 10.1016/j.mce.2010.04.005.

11. Cruz-Topete D, Cidlowski JA. One Hormone Two Actions: Anti- and Pro-inflammatory Effects of Glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation*. 2015;22(1-2):20-32. doi: 10.1159/000362724.

12. Cyster J. G., Schwab S. R. Sphingosine-1-phosphate and lymphocyte egress from lymphoid organs. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:69-94. doi: 10.1146/annurev-immunol-020711-075011.

13. De Bosscher K, Beck IM, Haegeman G. Classic glucocorticoids versus non-steroidal glucocorticoid receptor modulators: survival of the fittest regulator of the immune system? *Brain Behav Immun*. 2010;24(7):1035-42. doi: 10.1016/j.bbi.2010.06.010.

14. Duckles SP, Miller VM. Hormonal modulation of endothelial NO production. *Pflugers Arch*. 2010;459(6):841-851. doi: 10.1007/s00424-010-0797-1.

15. Flister M.J., Wilber A., Hall K.L. et al. Inflammation induces lymphangiogenesis through up-regulation of VEGFR-3 mediated by NF- κ B and Prox1. *Blood*. 2010;115(2):418-429. doi: 10.1182/blood-2008-12-196840.

16. Grigorova I.L., Pantelev M., Cyster J.G. Lymph node cortical sinus organization and relationship to lymphocyte egress dynamics and antigen exposure. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(47):20447-20452. doi: 10.1073/pnas.1009968107.

17. Haigh RM, Jones CT. Effect of glucocorticoids on alpha 1-adrenergic receptor binding in rat vascular smooth muscle. *J Mol Endocrinol*. 1990(1):41-48.

18. Holdsworth S.R., Gan P.Y. Cytokines: Names and Numbers You Should Care About. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10(12):2243-2254. doi: 10.2215/CJN.07590714.

19. Holstein SA, Richardson PG, Laubach JP, McCarthy PL. Management of relapsed multiple myeloma after autologous stem cell transplant. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(5):793-798. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.12.026.

20. Lee S.R., Kim H.K., Youm J.B. et al. Non-genomic effect of glucocorticoids on cardiovascular system. *Pflugers Arch*. 2012;464(6):549-559. doi: 10.1007/s00424-012-1155-2.

21. Li T, Fang Y, Yang G et al. The mechanism by which RhoA regulates vascular reactivity after hemorrhagic shock in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010 ;299(2):H292-H299. doi: 10.1152/ajpheart.01031.2009.

22. Puzserova A., Bernatova I. Blood pressure regulation in stress: focus on nitric oxide-dependent mechanisms. *Physiol Res*. 2016;65(Suppl. 3):S309-S342.

23. Randolph GJ, Angeli V, Swartz MA. Dendritic-cell trafficking to lymph nodes through lymphatic vessels. *Nat Rev Immunol*. 2005;5(8):617-628.

24. Roozendaal R, Mempel TR, Pitcher LA et al. Conduits mediate transport of low-molecular-weight antigen to lymph node follicles. *Immunity*. 2009;30(2):264-276. doi: 10.1016/j.immuni.2008.12.014.

25. Spies CM, Strehl C, van der Goes MC et al. Glucocorticoids. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2011(6):891-900. doi: 10.1016/j.berh.2011.11.002.

26. Wallerath T, Godecke A, Molojavji A et al. Dexamethasone lacks effect on blood pressure in mice with a disrupted endothelial NO synthase gene. *Nitric Oxide*. 2004 10(1):36-41.

27. Webster B., Eklund E.H., Agle L.M. et al. Regulation of lymph node vascular growth by dendritic cells. *J Exp Med*. 2006;203(8):1903-1913.

28. Zawieja DC. Contractile physiology of lymphatics. *Lymphat. Res. Biol*. 2009;7(2):87-96. doi: 10.1089/lrb.2009.0007.

29. Zen M., Canova M., Campana C. et al. The kaleidoscope of glucocorticoid effects on immune system. *Autoimmun Rev*. 2011;10(6):305-310. doi: 10.1016/j.autrev.2010.11.009.

30. Zhang T, Shi WL, Tasker JG et al. Dexamethasone induces rapid promotion of norepinephrine-mediated vascular smooth muscle cell contraction. *Mol Med Rep*. 2013;7(2):549-554. doi: 10.3892/mmr.2012.1196.

Информация об авторах

Лобов Геннадий Иванович – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, e-mail: gilobov@yandex.ru.

Унт Дарья Валерьевна – аспирант Института физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Author information

Lobov Gennady Ivanovich – PhD, MD, Head of the Laboratory of Physiology of the Cardiovascular and Lymphatic Systems; Pavlov Institute of Physiology of Russian Academy of Sciences, e-mail: gilobov@yandex.ru.

Unt Darya Valeryevna – doctoral student, Pavlov Institute of Physiology of Russian Academy of Sciences.