

ЛОБОВ Г. И.¹, ПАНЬКОВА М. Н.¹,
АБДРЕШОВ С. Н.²

Фазные и тонические сокращения лимфатических сосудов и узлов при действии предсердного натрийуретического пептида

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН

199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

² Институт физиологии человека и животных Комитета по науке

Министерства образования и науки Республики Казахстан

Республика Казахстан, пр. Алматы, аль Фараби, 93

e-mail: gilobov@yandex.ru

Реферат

Введение и цель исследования. Активный транспорт лимфы, осуществляемый посредством фазных сокращений лимфатических сосудов и узлов, хорошо регулируется, в том числе и гуморальными механизмами. Роль предсердного натрийуретического пептида (ПНП) в регуляции лимфотока слабо изучена. Настоящее исследование проведено с целью изучения влияния ПНП, который выделяется в кровоток при увеличении объема циркулирующей крови, на активную транспортную функцию лимфатических сосудов и узлов.

Материал и методы исследования. Объектом исследования были изолированные сегменты брыжеечных лимфатических сосудов диаметром 1,5–2,0 мм (n=47) и полоски капсулы лимфатических узлов (n=42) быков. Сократительная функция лимфатических сосудов и узлов изучалась на установке для исследования изолированных препаратов с помощью тензодатчика FORT-10, данные обрабатывались программой Labmaster.

Результаты исследования и их обсуждение. ПНП (1–100 нг/мл) вызывал дозо-зависимое уменьшение ритма и амплитуды спонтанных сокращений и тонуса лимфатических сосудов и узлов. ПНП-индуцированная релаксация лимфатических сосудов и узлов не изменялась при предварительном введении в раствор 5×10^{-5} М L-NAME, 3×10^{-6} М диклофенака натрия и 1×10^{-5} М метиленового голубого и значительно снижалась при предварительном воздействии 1×10^{-5} М глутамина. Механическое удаление эндотелия в лимфатических сосудах и узлах не приводило к изменению эффектов ПНП.

Выводы. Результаты исследования показывают, что ПНП ингибирует транспорт лимфы за счет уменьшения амплитуды и частоты фазных сокращений и расслабления гладких мышц лимфатических сосудов и узлов. Эффект ПНП является эндотелий-независимым и реализуется посредством активации АТФ-чувствительных K^{+} -каналов мембраны миоцитов.

Ключевые слова: предсердный натрийуретический пептид, лимфатические сосуды, узлы, гладкомышечные клетки, цГМФ.

Введение

Лимфатическая система играет важную роль в регуляции объема жидкости в органах и тканях. Избыток жидкости движется из интерстициального пространства в паренхиме тканей в сеть мелких лимфатических сосудов, далее через лимфатические узлы в крупные лимфатические стволы, которые сходятся в грудной проток, из которого лимфа поступает в крупные вены шеи [15]. Известно, что транспорт лимфы по лимфатическим сосудам осуществляется за счет пассивного и активного механизмов. В первом случае при периодической компрессии органов и тканей давление в лимфатических сосудах повышается и лимфа перемещается в направлении, определяемом клапанами лимфатических сосудов, т.е. центрипетально. Однако основным механизмом, обеспечивающим эффективный транспорт лимфы по лимфатическим сосудам и узлам, являются собственные ритмические сокращения лимфатических сосу-

дов и узлов, в основе которых лежит способность их гладких мышц ритмически спонтанно возбуждаться и сокращаться [1, 8]. Активный транспорт лимфы, в отличие от пассивного, хорошо регулируется. Сократительная активность гладких мышц лимфатических сосудов и узлов модулируется нервными, гуморальными и физическими факторами [3]. Регулируется как активная насосная функция, реализуемая за счет быстрых фазных сокращений гладких мышц сосудов и узлов, так и сопротивление лимфатических сосудов и узлов [8, 15].

Среди гуморальных факторов, модулирующих лимфоток, необходимо отметить некоторые гормоны, оказывающие выраженное влияние на тонус и фазные сокращения лимфатических сосудов. Наиболее выраженный эффект на сократительную функцию гладких мышц лимфатических сосудов оказывают адреналин, тироксин, ВИП. Их влияние на сократи-

тельную функцию лимфатических сосудов хорошо изучено как *in vitro*, так и *in vivo* [6, 13]. В то же время влияние гормонов, регулирующих водный и электролитный баланс в организме, на транспортную функцию лимфатических сосудов и узлов, изучено слабо. В частности, всего в двух работах представлены данные о действии натрийуретического пептида на лимфатические сосуды [7, 11]. Между тем, ПНП выполняет важную функцию в регулировании сердечно-сосудистого гомеостаза. Выброс ПНП в кровоток приводит к дилатации кровеносных сосудов, стимулирует натрийурез и диурез, тем самым снижая кровяное давление и объем крови. В дополнение к этим основным эффектам, ПНП ингибирует высвобождение ренина из почек, альдостерона из надпочечников, вазопрессина из задней доли гипофиза и, таким образом, играет важнейшую роль в регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы [9]. Scallan J. P. с соавторами изучали изменения проницаемости стенки мелких и крупных лимфатических сосудов под действием натрийуретических пептидов [11]. Авторы этого исследования показали, что натрийуретические пептиды вызывают значительное увеличение проницаемости стенки лимфатических сосудов, что, по их мнению, является важным новым механизмом компенсации при перегрузке сердечно-сосудистой системы объемом.

Известно, что объем циркулирующей крови, а соответственно, и артериальное давление, в определенной степени зависят от объема лимфы, постоянно поступающей в крупные вены шеи. Этот объем лимфы может значительно возрасти при стимуляции транспортной функции лимфатических сосудов и узлов и уменьшаться при угнетении сокращений их гладкомышечных клеток. Настоящее исследование предпринято с целью изучения влияния ПНП, который выделяется в кровоток при увеличении объема циркулирующей крови, на активную транспортную функцию лимфатических сосудов и узлов.

Материал и методы исследования

Объектом исследования были сегменты брыжеечных лимфатических сосудов и полоски капсулы брыжеечных лимфатических узлов быков черно-пестрой породы в возрасте 18–20 месяцев. Лимфатические сосуды и узлы забирали через 15 минут после забоя животных в хозяйстве «Приневское». Из 22 сосудов от 11 животных было подготовлено 47 сегментов шириной 2,5–3 мм, а из 26 узлов — 42 полоски капсулы длиной 15 мм, шириной 3 мм и толщиной 300–400 мкм. В состав препаратов лимфатических узлов входила капсула и субкапсулярный синус. У 10 сегментов лимфатических сосудов механически удаляли эндотелий, а у 10 полосок капсулы лимфатических узлов — субкапсулярный синус, т. е. эти препараты были деэндотелизированными.

Эксперименты проводили при непрерывном протекании в камере установки физиологического солевого раствора следующего состава (в мМ/л): NaCl — 120,4; KCl — 5,9; CaCl₂ — 2,5; MgCl₂ — 1,2; NaH₂PO₄ — 1,2; NaHCO₃ — 15,5; глюкоза — 11,5. Раствор с целью оксигенации и поддержания стабильного pH

ЛОБОВ Г. И., ПАНЬКОВА М. Н., АБДРЕШОВ С. Н.

(7,35–7,40) сатураировали газовой смесью, состоящей из 95 % O₂ и 5 % CO₂. Исследование проводили при температуре 37±0,2 °С. Сократительную деятельность гладких мышц лимфатических узлов регистрировали с помощью изометрического тензодатчика FORT-10 (WPI). Величина исходного напряжения сегментов лимфатических сосудов и полосок капсулы узлов соответствовала трансмуральному давлению 5 см водн. ст. Регистрацию сокращений гладких мышц препаратов лимфатических сосудов и узлов начинали через 30 минут с начала эксперимента. Данные от датчика поступали через аналого-цифровой преобразователь MD-155 на компьютер и обрабатывались с помощью программы «Labmaster».

Тестовые растворы реактивов, используемых в опытах, готовили непосредственно перед экспериментами путем растворения необходимого количества указанных веществ в физиологическом растворе. Глибенкламид (Sigma-Aldrich) предварительно растворяли в диметилсульфоксиде (Химреактив-комплект, Россия). Применяли: натрийуретический пептид (Atrial Natriuretic Peptide rat – Sigma-Aldrich) в концентрациях 0,1–300 нг/мл, diclofenac sodium (ICN Biomedicals) — 3×10⁻⁶ М/л, noradrenaline hydrochloride (ICN Biomedicals) — 1×10⁻⁵ М/л, L-NAME (N^ω-nitro-L-arginine methyl ester – ICN Biomedicals) — 1×10⁻⁵ М/л, methylene blue (Sigma-Aldrich) — 1×10⁻⁵ М/л.

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 и критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

Результаты исследования

Исследуемые препараты лимфатических сосудов и узлов к началу регистрации их сократительной активности имели стабильный уровень тонического напряжения и, как правило, обладали спонтанной фазной активностью. Перфузия сегментов лимфатических сосудов и полосок капсулы лимфатических узлов на протяжении 30 мин раствором, содержащим ПНП в концентрации 0,1 нг/мл, не приводила к изменению их тонуса и параметров фазных сокращений. После увеличения концентрации ПНП в растворе до 0,3 нг/мл было выявлено урежение ритма фазных сокращений полосок капсулы лимфатических узлов, в то время как амплитуда фазных сокращений и тоническое напряжение не изменялись. Ингибиторный эффект ПНП начинал проявляться к 12–15 минутам действия. На лимфатические сосуды ПНП в этой концентрации эффекта не оказывал.

Повышение концентрации ПНП до 1 нг/мл приводило к снижению частоты и амплитуды фазных сокращений полосок капсулы лимфатических узлов при стабильном уровне тонического напряжения, но не оказывало влияния на лимфатические сосуды. Увеличение концентрации ПНП до 3 нг/л вызывало урежение частоты фазных сокращений и снижение их амплитуды как в полосках капсулы лимфати-

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ческих узлов, так и в сегментах лимфатических сосудов. Тонус препаратов лимфатических узлов снижался, а лимфатических сосудов — оставался без изменения. ПНП в концентрации 10 нг/мл вызывал как снижение частоты и амплитуды фазных сокращений лимфатических сосудов и узлов, так и снижение уровня их тонического напряжения. При дальнейшем повышении концентрации ПНП его ингибиторный эффект на лимфатические сосуды и узлы усиливался, а при концентрации 300 нг/мл спонтанная фазная активность в лимфатических сосудах и капсуле лимфатических узлов прекращалась. При этом наблюдалось выраженное снижение тонического напряжения лимфатических сосудов и узлов. Усредненные данные о частоте и амплитуде фазных сокращений и уровне тонуса лимфатических сосудов и узлов при действии ПНП в концентрациях 0,1–300 нг/мл представлены на рис. 1.

Удаление ПНП из раствора приводило через 15–20 минут к восстановлению спонтанных фазных сокращений препаратов лимфатических сосудов и узлов и восстановлению тонуса. Тахифилаксии со стороны лимфатических сосудов и узлов при применении ПНП не было выявлено. Повторное (через 20 мин) действие ПНП в той же концентрации приводило к развитию релаксационных ответов гладких мышц препаратов лимфатических сосудов и узлов такой же величины, как и при первичном воздействии. Релаксационный эффект ПНП был значительно более выраженным на предварительно сокращенных норадреналином (1×10^{-5} М/л) препаратах лимфатических сосудов и капсулы лимфатических узлов.

С учетом важной роль эндотелия в реализации ингибиторных эффектов различных физиологически активных веществ на гладкие мышцы лимфатических сосудов и капсулы лимфатических узлов [2], мы провели серию экспериментов с использованием ингибитора синтазы NO — L-NAME (1×10^{-5} М/л). После 20-мин. инкубации лимфатических сосудов и узлов в растворе с L-NAME воздействие ПНП (10 нг/мл) приводило к снижению параметров фазной активности и тонуса.

Ингибиторные эффекты ПНП на фоне L-NAME статистически не отличались от полученных ранее в физиологическом растворе. С целью определения возможной роли простагличина в дилатации лимфатических сосудов и узлов в физиологический раствор добавляли ингибитор циклооксигеназы — диклофенак (1×10^{-6} М/л). Диклофенак приводил к редукции или подавлению спонтанных фазных сокращений, в связи с чем оценка эффекта ПНП на фоне диклофенака проводилась только по одному параметру — уровню тонического напряжения. ПНП после 20-минутной перфузии препаратов лимфатических сосудов и узлов раствором с диклофенаком, вызывал снижение тонуса на величину, статистически не отличающуюся от таковой в физиологическом растворе. В этой же серии были проведены эксперименты по изучению эффектов ПНП на деэндотелизированных лимфатических сосудах и полосках капсулы лимфатических узлов. В процессе этих опытов были получены результаты, статистически не отличающиеся от данных, полученных на препаратах с сохраненным эндотелием и представленных на рис. 1.

Известно, что при реализации тормозных эффектов многих физиологически активных веществ и лекарственных средств на гладкие мышцы в качестве вторичного мессенджера вовлекается цГМФ. Мишенью для цГМФ являются АТФ-чувствительные K^+ -каналы, которые открываются и приводят к гиперполяризации мембраны миоцитов, что сопровождается их расслаблением. С целью исследования роли гуанилатциклазного сигнального механизма в реализации ингибиторного эффекта ПНП на лимфатические сосуды и узлы в раствор за 20 мин до введения ПНП добавляли метиленовый голубой (1×10^{-5} М/л). ПНП в растворе метиленового голубого вызывал ингибиторные эффекты на лимфатические сосуды и узлы, статистически не отличающиеся от таковых в физиологическом растворе. Это дало нам основание сделать заключение о том, что растворимая гуанилатциклаза не участвует в реализации релаксирующего эффекта ПНП.

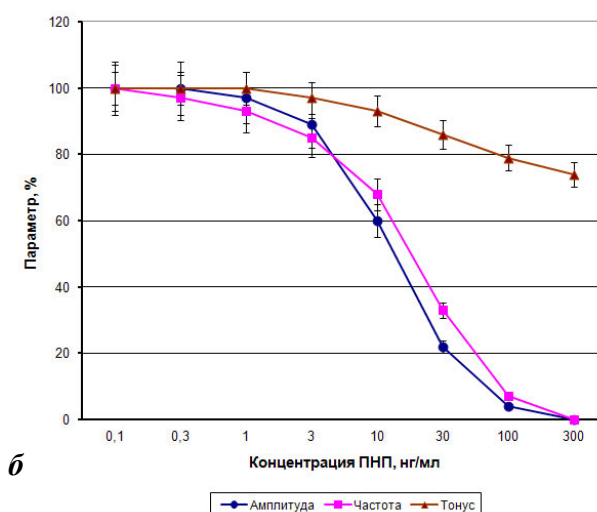
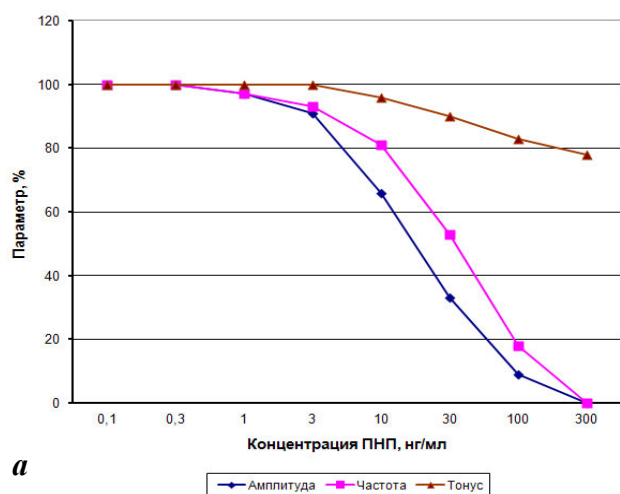


Рис. 1. Зависимость параметров сократительной активности (амплитуда и частота фазных сокращений, тонус) гладкомышечных клеток лимфатических сосудов (А) и капсулы лимфатических узлов (Б) от концентрации предсердного натрийуретического пептида

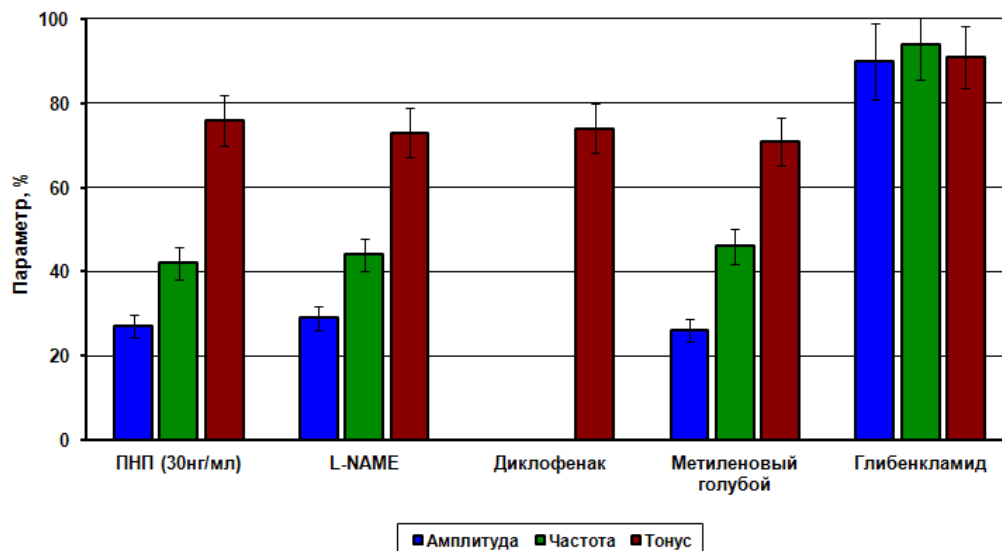


Рис. 2. Эффекты предсердного натрийуретического пептида (30 нг/мл) на амплитуду и частоту фазных сокращений и уровень тонуса гладких мышц брыжеечных лимфатических сосудов быка в физиологическом растворе, на фоне L-NAME, диклофенака, метиленового голубого и глибенкламида (на фоне диклофенака оценивался только уровень тонуса)

В последующем в качестве блокатора АТФ-чувствительных К-каналов гладких миоцитов мы использовали глибенкламид (1×10^{-6} М/л). Предварительное введение в раствор глибенкламида предотвращало релаксирующий эффект ПНП на гладкие мышцы лимфатических сосудов и капсулы лимфатических узлов. Результаты исследования механизмов реализации ингибиторного эффекта ПНП на лимфатические сосуды представлены на рис. 2. Реакция лимфатических узлов на ПНП на фоне действия L-NAME, диклофенака, метиленового голубого и глибенкламида была примерно такой же, как и лимфатических сосудов.

Обсуждение результатов

Как уже было указано во введении, работ по исследованию действия ПНП на лимфатические сосуды крайне мало, а на лимфатические узлы – нет. С учетом общего происхождения лимфатических сосудов и вен [12], было естественно предположить, что ПНП должен приводить к расслаблению гладких мышц лимфатических сосудов и узлов. Ранее дилатация лимфатических сосудов под действием ПНП была показана Ohhashi T. с соавторами [7]. Однако они провели исследование влияния ПНП только на лимфатические сосуды и в узком диапазоне концентраций (5–30 нг/мл). Между тем известно, что концентрация ПНП в плазме крови в ряде случаев (митральный стеноз, дилатационная кардиомиопатия) может повышаться более, чем на порядок [14].

В процессе исследования установлено, что гладкие мышцы лимфатических узлов более чувствительны по отношению к ПНП по сравнению с рядом расположенными лимфатическими сосудами. Так, при концентрации ПНП 0,3 нг/мл наблюдалось снижение частоты фазных сокращений капсулы лимфатических узлов, в то время как параметры сократительной деятельности лимфатических сосудов не изменялись.

Это же касается и тонуса гладких мышц: в лимфатических узлах тонус снижался при концентрации ПНП 3 нг/мл, а в лимфатических сосудах незначительное уменьшение тонуса выявлялось только при повышении концентрации ПНП более 10 нг/мл.

Отсутствие изменений в реакциях лимфатических сосудов и узлов на ПНП при добавлении в раствор блокатора синтазы NO (L-NAME) или ингибитора циклооксигеназы (диклофенак) свидетельствует о том, что эти два широко распространенных эндотелий-зависимых механизма расслабления гладких мышц не вовлекаются в реализацию эффекта ПНП. Более того, удаление эндотелия в лимфатических сосудах и узлах не приводило к изменению параметров релаксационных ответов лимфатических сосудов и узлов на ПНП, т. е. ингибиторный эффект ПНП оказался эндотелий-независимым.

Растворимую гуанилатциклазу гладких миоцитов, как возможный посредник в реализации релаксирующего эффекта ПНП, также можно исключить, поскольку ее блокада метиленовым голубым не приводила к уменьшению ингибиторного эффекта ПНП. В то же время глибенкламид при действии ПНП в низких концентрациях практически полностью подавлял релаксирующий эффект ПНП на лимфатические сосуды и узлы, а в случае действия ПНП в концентрациях 100 и 300 нг/мл – значительно снижал его эффект. Предотвращение глибенкламидом ингибиторного эффекта ПНП позволяет сделать заключение о том, что конечным звеном в механизме релаксирующего эффекта ПНП является активация АТФ-чувствительных K^+ -каналов мембраны миоцитов лимфатических сосудов и узлов.

Большинство специалистов рассматривают натрийуретические пептиды (предсердный, мозговой и С-тип) как прямые вазодилататоры, участвующие в регуляции тонуса кровеносных сосудов посредством активации гуанилатциклазы [5].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Все они способны как специфически связываться со своими рецепторами (GC-A/NPRA, GC-B/NPRB и NPRC), так и менее специфически — с другими рецепторами этого семейства. Отличительными признаками этого семейства рецепторов является способность после связывания гормона с поверхностным доменом рецептора осуществлять трансдукцию сигнала на внутриклеточный домен, что приводит к активации внутриклеточного каталитического модуля и запускает продукцию циклического ГМФ, который в дальнейшем выполняет функцию основной сигнальной молекулы в цитоплазме миоцитов [4].

Мы приходим к заключению, что ингибиторный эффект ПНП на лимфатические сосуды и узлы является эндотелий-независимым и реализуется, по-видимому, через рецепторы натрийуретических гормонов, расположенные на мембране гладкомышечных клеток.

Активация этих сложных рецепторов-трансдукторов повышает продукцию цГМФ в миоплазме, что приводит к активации АТФ-чувствительных K^+ -каналов мембраны миоцитов лимфатических сосудов и узлов, ее гиперполяризации и расслаблению гладких мышц.

Что касается релаксирующего эффекта высоких концентраций ПНП на лимфатические сосуды и узлы на фоне блокады АТФ-чувствительных K^+ -каналов гlibенкламидом, то следует полагать, что открывание АТФ-чувствительных K^+ -каналов является не единственным механизмом действия ПНП на гладкие миоциты лимфатических сосудов и узлов. Высокие концентрации ПНП, по-видимому, так же, как и в гладкомышечных клетках кровеносных сосудов [10], приводят к снижению концентрации цитоплазматического Ca^{2+} , инозитол трифосфата (IP3) и цАМФ в миоцитах лимфатических сосудов и узлов.

Литература

1. Лобов Г. И. Реологические свойства крупных лимфатических сосудов // Физиолог. журн. СССР им. И. М. Сеченова. 1990. Т. 76. № 3. С. 371–377.
2. Лобов Г. И., Панькова М. Н. NO-зависимая модуляция сократительной функции гладких мышц капсулы лимфатических узлов // Росс. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова. 2010. Т. 96. № 5. С. 489–497.
3. Лобов Г. И., Панькова М. Н. Транспорт лимфы: роль лимфатических узлов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2012. № 2 (42). С. 52–56.
4. Duda T., Pertzev A., Sharma R. K. Atrial natriuretic factor receptor guanylate cyclase, ANF-RGC, transduces two independent signals, ANF and Ca^{2+} // Front. Mol. Neurosci. 2014. Vol. 17. № 7. P. 17. doi: 10.3389/fnmol.2014.00017.
5. Hama N., Itoh H., Shirakami G. et al. Detection of C-type natriuretic peptide in human circulation and marked increase of plasma CNP level in septic shock patients // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1994. Vol. 198. № 3. P. 1177–1182.
6. McHale N. G., Roddie I. C. The effects of catecholamines on pumping activity in isolated bovine mesenteric lymphatics // J. Physiol. 1983. Vol. 338. P. 527–536.
7. Ohhashi T., Watanabe N., Kawai Y. Effects of atrial natriuretic peptide on isolated bovine mesenteric lymph vessels // Am. J. Physiol. 1990. Vol. 259. № 1. Pt. 2. P. H42–H47.
8. Ohhashi T. Mechanisms for regulating tone in lymphatic vessels // Biochem. Pharmacol. 1993. Vol. 45. № 10. P. 1941–1946.
9. Pandey K. N. Biology of natriuretic peptides and their receptors // Peptides. 2005. Vol. 26. № 6. P. 901–932.
10. Pandey K. N. Guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A signaling antagonizes phosphoinositide hydrolysis, Ca^{2+} release, and activation of protein kinase C // Front. Mol. Neurosci. 2014. Vol. 7. № 75. doi: 10.3389/fnmol.2014.00075.
11. Scallan J. P., Davis M. J., Huxley V. H. Permeability and contractile responses of collecting lymphatic vessels elicited by atrial and brain natriuretic peptides // J. Physiol. 2013. Vol. 591. P. 5071–5081.
12. Srinivasan R. S., Dillard M. E., Lagutin O. V. et al. Lineage tracing demonstrates the venous origin of the mammalian lymphatic vasculature // Genes Dev. 2007. Vol. 21. P. 2422–2432.
13. von der Weid P. Y., Rehal S., Dyrda P. et al. Mechanisms of VIP-induced inhibition of the lymphatic vessel pump // J. Physiol. 2012. Vol. 590 (Pt. 11). P. 2677–2691.
14. Yoshimura M., Yasue H., Okumura K. et al. Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure // Circulation. 1993. Vol. 87. № 2. P. 464–469.
15. Zawieja D. C. Contractile physiology of lymphatics // Lymphat. Res. Biol. 2009. Vol. 7. № 2. P. 87–96.

UDK 612.423:612.018

Lobov G. I.¹, Pan'kova M. N.¹, Abdreshov S. N.²

Phase and tonic contractions of lymphatic vessels and nodes under the action of atrial natriuretic peptide

¹ Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences
199034, Makarova emb. 6, Saint-Petersburg, Russia

² Institute of Human and Animal Physiology SC MES of Kazakhstan Republic
Al-Farabi str. 93, Almaty, Kazakhstan
e-mail: gilobov@yandex.ru

Abstract

Introduction and purpose. Active lymph flow ensured by the phase contraction of lymphatic vessels and nodes is regulated by humoral mechanisms. The role of atrial natriuretic peptide (ANP) in the modulation of lymph flow has been poorly studied. The goal of the study was to examine the effect of the ANP, which is released into the blood by increasing the volume of circulating blood, on the active transport function of lymphatic vessels and nodes.

Materials and methods. The study was performed on isolated segments of bovine mesenteric lymphatic vessels with a diameter of 1,5–2,0 mm ($n = 47$) and the capsule strip lymph nodes ($n = 42$). The contractive function of lymphatic vessels and nodes was examined using the equipment for the study of isolated preparations with FORT-10 transducer. The data were processed in program Labmaster.

Results and discussion. ANP (1–100 ng/ml) caused a dose-dependent decrease in frequency and amplitude of spontaneous contractions and tone of lymphatic vessels and nodes. The ANP-induced relaxation of lymphatic vessels and nodes was not modified by pretreatment with 5×10^{-5} M L-NAME, 3×10^{-6} M diclofenac sodium and 1×10^{-5} M methylene blue. The relaxation, however, was significantly reduced by pretreatment with 1×10^{-5} M glibenclamide. The mechanical removal of endothelial cells in the lymph vessels and nodes caused no significant effect on the ANP-induced relaxation.

Conclusions. The results of the study show that ANP inhibits the transport of lymph by reducing the amplitude and frequency of the phase contractions and relaxation of smooth muscle of lymphatic vessels and nodes. The effect of ANP is endothelium-independent and is mediated by activation of plasmalemmal ATP-sensitive K^+ channels of smooth muscle cells.

Keywords: atrial natriuretic peptide, lymphatic vessels, lymph nodes, smooth muscle cells, cGMP.

References

1. Lobov G.I. Reologicheskie svoystva krupnykh limfaticheskikh sosudov [Rheological properties of large lymphatic vessels] // Fiziologicheskij zhurnal SSSR imeni I.M. Sechenova [USSR journal of physiology (formerly I.M. Sechenov Physiological Journal)]. 1990. V. 76. N.3. P. 371-377. [In Russian].
2. Lobov G.I., Pan'kova M.N. No-zavisimaya moduljacija sokratitel'noj funkcii gladkih myshc kapsuly limfaticheskikh uzlov [NO-dependent modulation of contractive function of lymph nodes' capsule smooth muscles] // Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova [Russian journal of physiology (formerly I.M. Sechenov Physiological Journal)]. 2010. V. 96. N. 5. P. 489-497. [In Russian].
3. Lobov G.I., Pan'kova M.N. Transport limfy: rol' limfaticheskikh uzlov [Lymph transport: role of lymph nodes] // Regionarnoe krovoobrashhenie i mikrotsirkuljacija [Regional hemodynamics and microcirculation]. 2012. N. 2(42). P. 52-56. [In Russian].
4. Duda T., Pertzev A., Sharma R.K. Atrial natriuretic factor receptor guanylate cyclase, ANF-RGC, transduces two independent signals, ANF and Ca^{2+} // Front. Mol. Neurosci. 2014. V. 17. N. 7. 17. doi: 10.3389/fnmol.2014.00017.
5. Hama N., Itoh H., Shirakami G. et al. Detection of C-type natriuretic peptide in human circulation and marked increase of plasma CNP level in septic shock patients // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1994. V. 198. N. 3. P. 1177-1182.
6. McHale N.G., Roddie I.C. The effects of catecholamines on pumping activity in isolated bovine mesenteric lymphatics // J. Physiol. 1983. V. 338. P. 527-536.
7. Ohhashi T., Watanabe N., Kawai Y. Effects of atrial natriuretic peptide on isolated bovine mesenteric lymph vessels // Am. J. Physiol. 1990. V. 259. N1, Pt 2. P. H42-47.
8. Ohhashi T. Mechanisms for regulating tone in lymphatic vessels // Biochem. Pharmacol. 1993. Vol. 45 / N 10. P. 1941-1946.
9. Pandey K.N. Biology of natriuretic peptides and their receptors // Peptides. 2005. V. 26. N. 6. P. 901-932.
10. Pandey K.N. Guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A signaling antagonizes phosphoinositide hydrolysis, Ca^{2+} release, and activation of protein kinase C // Front. Mol. Neurosci. 2014. V. 7. 75. doi: 10.3389/fnmol.2014.00075.
11. Scallan J.P., Davis M.J., Huxley V.H. Permeability and contractile responses of collecting lymphatic vessels elicited by atrial and brain natriuretic peptides // J. Physiol. 2013. V. 591. P. 5071-5081.
12. Srinivasan R.S., Dillard M.E., Lagutin O.V. et al. Lineage tracing demonstrates the venous origin of the mammalian lymphatic vasculature // Genes Dev. 2007. V. 21. P. 2422-2432.
13. von der Weid P.Y., Rehal S., Dyrda P. et al. Mechanisms of VIP-induced inhibition of the lymphatic vessel pump // J. Physiol. 2012. V. 590 (Pt 11). P. 2677-2691.
14. Yoshimura M., Yasue H., Okumura K. et al. Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure // Circulation. 1993. V. 87. N. 2. P. 464-469.
15. Zawieja D.C. Contractile physiology of lymphatics // Lymphat. Res. Biol. 2009. V. 7. N. 2. P. 87-96.