

ПАНЬКОВА М. Н., ЛОБОВ Г. И.

Модулирующее действие гепарина на активный транспорт лимфы по лимфатическим сосудам

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: mpankova@bk.ru

Реферат

Цель — изучение влияния эффектов и механизмов действия гепарина на сократительную активность гладкомышечных клеток изолированных лимфатических сосудов, лежащую в основе активного транспорта лимфы.

Регистрацию сократительной деятельности сегментов брыжеечных лимфатических сосудов быка осуществляли с помощью тензодатчика FORT-10 и обработкой сигнала с использованием программы «Labmaster».

В низких концентрациях (≤ 15 МЕ/мл) гепарин вызывал повышение спонтанной фазной активности препаратов, в высоких — ее угнетение. Использование L-NAME приводило к усилению активирующих влияний низких концентраций гепарина и в значительной степени подавляло ингибиторные эффекты гепарина в высоких концентрациях. Предотвращению релаксации гладких мышц на действие гепарина способствовало введение метиленового голубого или глутамида. Снижение ингибиторного действия гепарина наблюдалось также на фоне применения индометацина.

Таким образом, реализация релаксационных ответов гепарина связана с изменением активности гуанилатциклазного механизма, опосредуемого через эндотелиальные клетки, и в меньшей степени циклооксигеназного механизма регуляции сократительной активности гладких мышц лимфатических сосудов.

Ключевые слова: лимфатические сосуды, сократительная активность, гладкие мышцы, гепарин.

Транспорт лимфы по лимфатическим сосудам осуществляется благодаря пассивному и активному механизмам. В последнем случае силой, обеспечивающей перемещение лимфы, являются фазные сокращения гладких мышц стенки лимфатических сосудов, способствующие ритмическому повышению трансмурального давления [10, 11, 20, 21]. Сократительная деятельность гладкомышечных клеток стенки лимфангиона модулируется различными факторами, в том числе и тканевыми гормонами. Существование тесной функциональной взаимосвязи между тучными клетками, являющимися продуцентами биологически активных веществ, в том числе гепарина, и лимфатическими сосудами, предопределено их анатомо-гистологическими взаимоотношениями. Скопления тучноклеточных популяций имеют место по ходу лимфатических сосудов [23], где их количество превышает количество тучных клеток, расположенных вблизи кровеносных сосудов. Так, по ходу лимфатических сосудов брыжейки крысы их содержание в 2 раза больше, чем по ходу кишечной артерии. Тучные клетки располагаются не только в соединительной ткани, окружающей сосуды, но и непосредственно в стенке лимфангионов. Причем их обнаруживают не только в наружной оболочке и периадвентиции, но иногда и в средней и даже во внутренней оболочках грудного протока [1]. Гепарин, продуцируемый мастоцитами в интерстициальное пространство, будучи высокомолекулярным соединением (12 000–16 000 дальтон) реасорбируется в основном в лимфатические капилляры. При введении гепарина в соединительную ткань уже через 1 мин он появляется в лимфатических капиллярах и мелких лимфатических сосудах [12]. При гетеротрансфузионном шоке лимфа является основным поставщиком

гепарина и гепариноподобных соединений из печени в кровь [5].

В обзоре, представленном М. В. Кондашевской [4], рассмотрены вопросы морфофункциональных особенностей тучных клеток и их развития, а также свойств гепарина как ключевого компонента их гранул. Помимо хорошо известных антитромботических, антикоагулянтных, фибринолитических свойств, гепарин обладает иммуномодулирующим, противовоспалительным, противоопухолевым и другими действиями. Множественные эффекты гепарина выявлены и при его действии на сосудистую стенку. В последние годы значительное количество исследований посвящено воздействию гепарина на гладкомышечные клетки, главным образом на их метаболические и пролиферативные процессы [13, 27]. Вопросы, касающиеся изменений сократительной деятельности сосудистых гладких мышц при действии гепарина, изучены в значительно меньшей степени, а исследования, рассматривающие его воздействие на сокращение гладких мышц лимфатических сосудов, вообще единичны.

Целью работы было изучение влияния эффектов и механизмов действия гепарина на сократительную активность гладкомышечных клеток изолированных лимфатических сосудов, лежащую в основе обеспечения активного транспорта лимфы по лимфатическим сосудам.

Материал и методы исследования

Исследования были проведены на кольцевых сегментах изолированных лимфатических сосудов брыжейки быка ($n=68$). Препараты (шириной 2–2,5 мм) иссекали из центральной части мышечной манжетки лимфангиона (участка сосуда между двумя

клапанами). Исследования проводили при непрерывном протоке в рабочей камере со скоростью 1,5 мл/мин физиологического 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. Физиологический раствор с целью оксигенации и поддержания стабильного pH (7,35–7,40) непрерывно сатурировали карбогеном (95 % O₂ и 5 % CO₂). Исходное напряжение в стенке лимфатического сосуда соответствовало трансмуральному давлению 4 см вод. ст. [6]. Температуру омывающего раствора поддерживали на уровне 37±0,2 °С. Регистрацию сократительной деятельности ГМК лимфатических сосудов начинали через 30 минут от начала эксперимента и осуществляли с помощью тензодатчика FORT-10 (WPI). Регистрацию сигнала от датчика (после усиления и преобразования с помощью АЦП) проводили с использованием программы «Labmaster». Растворы тестовых веществ в необходимых концентрациях готовили непосредственно перед экспериментом путем растворения необходимого количества вещества в физиологическом растворе.

Использовали следующие вещества: гепарин натрий («Гедон Рухтер», Венгрия) 0,01–50 МЕ/мл; N^ω-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) (ICN Biomedicals) 100 мМ/л; метиленовый голубой (Sigma) 10 мМ/л; глибенкламид (ICN Biomedicals) 1 мМ/л; индометацин (ICN Biomedicals) 10 мМ/л.

Обработку полученных результатов проводили с помощью программы «EXCEL 2003». При статистическом анализе материала использовали пакет программ «StatSoftSTATISTICA 6.1.478». Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием общепотребительных методов параметрической и непараметрической статистики. Методы включали в себя оценку среднего арифметического (M), стандартное отклонение (±SD). Для оценки различий данных, полученных в разные сроки после формирования АВФ, применяли t-критерий Стьюдента и критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при p≤0,05.

Результаты исследования

Сократительная деятельность лимфатических сосудов характеризуется наличием спонтанных фазных сокращений. Используемые нами в экспериментах кольцевые сегменты лимфатических сосудов обладали спонтанной фазной активностью с частотой сокращений 5,8±0,83 в минуту и амплитудой одиночного сокращения 4,6±0,32 мН (n=60). В некоторых препаратах (n=8) в созданных стандартных условиях спонтанная фазная активность не проявлялась. Гепарин изменял параметры сократительной активности препаратов в достаточно широком диапазоне концентраций. Минимальная концентрация гепарина, способная вызвать достоверные изменения измеряемых параметров, составила 0,1 МЕ/мл. Гепарин в концентрации 0,1 МЕ/мл в первые минуты воздействия вызывал увеличение амплитуды фазных сокращений (в среднем на 11,3±1,12 %) и некоторое урежение ритма. Эти эффекты сопровождалась незначитель-

ным снижением уровня тонического напряжения сосудистых гладких мышц. Дальнейшее действие гепарина в данной концентрации приводило к повышению тонуса препаратов до исходного уровня и вызывало повышение частоты фазных сокращений.

Действие гепарина в диапазоне концентраций от 0,5 до 15 МЕ/мл на кольцевые сегменты лимфатических сосудов со спонтанной фазной активностью проявлялось в увеличении амплитуды и частоты фазных сокращений на фоне незначительного повышения базального тонуса. В сосудах, не обладающих фазной активностью, действие гепарина в данных концентрациях приводило к появлению фазных ритмических сокращений. На рис. 1, а показана оригинальная кривая, отражающая активирующее влияние гепарина в концентрации 5 МЕ/мл.

Дальнейшее повышение концентрации гепарина приводило к тому, что его активирующее действие сменялось тормозным, которое проявлялось снижением амплитуды сокращений и урежением ритма. Так, при действии гепарина в концентрации 50 МЕ/мл в течение первых 5 мин от начала воздействия происходило уменьшение частоты и амплитуды фазных сокращений на 36,0±8,54 и 48,1±2,26 %, соответственно. Уровень тонического напряжения препаратов практически не изменялся (рис. 1, б). При длительном действии гепарина (в течение 15–20 мин) наблюдалось более выраженное ингибиторное действие, вплоть до полного угнетения фазных ритмических сокращений. Исследование тонического компонента релаксационных ответов сосудов на применение гепарина было проведено на фоне предварительного сокращения препаратов гиперкалиевым раствором (40 мМ). Гепарин в концентрации 25 и 50 МЕ/мл вызывал снижение тонуса предварительно сокращенных препаратов на 16,4±3,42 и 28,3±5,03 %, соответственно. На рис. 1, в показаны ингибиторные эффекты гепарина в высоких концентрациях на величину тонуса, зарегистрированные в условиях деполяризации ГМК гиперкалиевым раствором.

С учетом высокого сродства гепарина к эндотелию и с целью исследования возможной роли эндотелиального NO в развитии дилаторных реакций гладкомышечных клеток лимфатических сосудов при действии гепарина была проведена серия экспериментов с использованием блокатора синтазы NO-L-NAME. Стимулирующие эффекты гепарина в низких концентрациях на фоне предварительного введения L-NAME были увеличены по сравнению с таковыми в физиологическом растворе. При действии гепарина в концентрации 5 МЕ/мл прирост хронотропного эффекта составил 8,3±1,65 %, а тонического компонента — 14,4±3,21 %. Напротив, ингибиторные эффекты гепарина в концентрациях выше 15 МЕ/мл были снижены. При исследовании тонического компонента ответов сосудов на высокие концентрации гепарина, проведенном с использованием гиперкалиевого раствора, предварительное введение L-NAME приводило к выраженному уменьшению релаксационных реакций (рис. 3).

Следующие две серии экспериментов были выполнены в условиях предварительного введения в

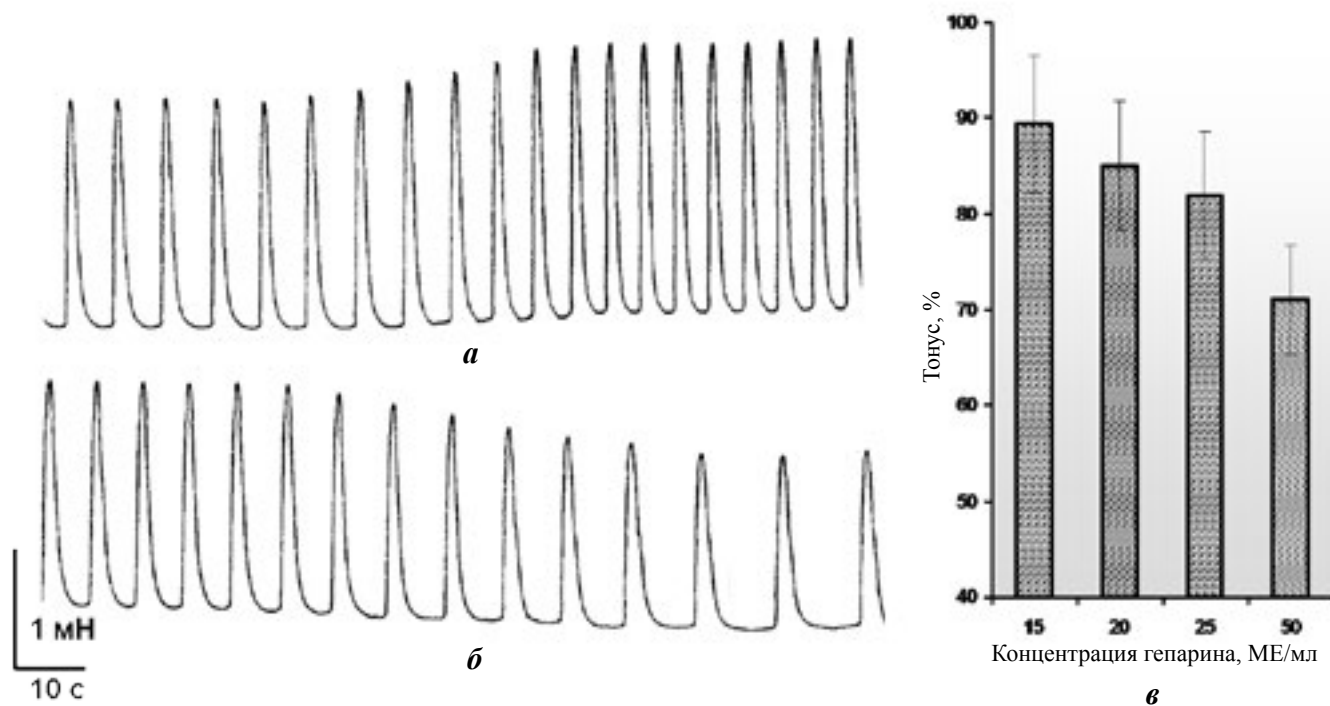


Рис. 1. Реакция гладких мышц лимфангиона на гепарин: *а* — фазные сокращения при действии гепарина в концентрации 5 МЕ/мл; *б* — то же при концентрации 25 МЕ/мл; *в* — тоническая реакция на гепарин в растворе, содержащем 40 мМ/л K^+

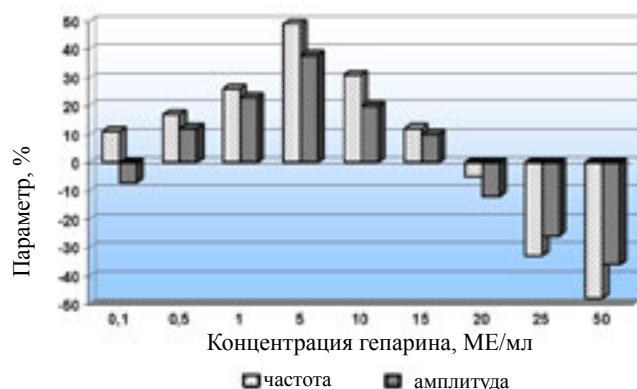


Рис. 2. Изменения частоты и амплитуды фазных сокращений лимфангиона при действии гепарина в концентрациях 0,1–50 МЕ/мл. Данные отражают увеличение (столбики вверх) или уменьшение (столбики вниз) параметра в % от его величины в физиологическом растворе

омывающий раствор метиленового голубого ($n=8$) либо глибенкламида ($n=6$). В обоих случаях это не приводило к полному подавлению эффектов гепарина сократительной активности препаратов, однако величины реакций были значительно меньшими по сравнению с эффектом гепарина в физиологическом растворе. Статистически обработанные данные этих исследований показаны на рис. 3.

Ряд экспериментов был выполнен при экспозиции сегментов лимфангиона в растворе с блокатором циклооксигеназы — индометацина. Введение индометацина (10 μ М/л) осуществляли за 20 мин до начала воздействия гепарином и продолжали в течение всего эксперимента. На фоне индометацина уменьшение параметров сократительной активности гладких мышц сосудов при действии гепарина в высоких концентрациях было снижено, но в меньшей

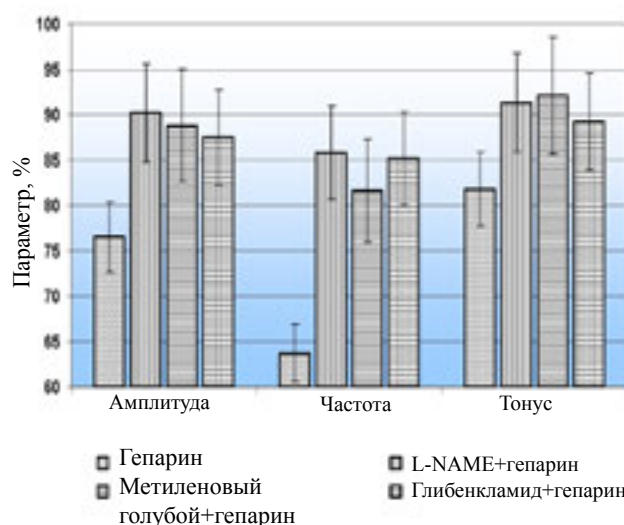


Рис. 3. Параметры сократительной активности гладких мышц лимфангиона при действии гепарина (25 МЕ/мл) в физиологическом растворе и на фоне действия L-NAME, метиленового голубого и глибенкламида. За 100 % приняты амплитуда, частота и тонус в физиологическом растворе

степени по сравнению с эффектами L-NAME.

Обсуждение результатов

Вазомоторные эффекты гепарина были продемонстрированы ранее в некоторых экспериментальных и клинических исследованиях. В экспериментах, проведенных на лимфатических сосудах, было отмечено усиление лимфооттока при введении гепарина [2, 8], снижение сократительной деятельности лимфатических сосудов при использовании высоких концентраций гепарина [7], а также наличие двуфазных эффектов [9]. В литературе нет единого мнения о концентрации гепарина в жидких средах организма, тем не менее, учитывая его высокое сред-

ство ко многим веществам, следует полагать, что в естественных условиях его содержание в свободном виде незначительно (по данным разных авторов от 0 до 1–1,5 МЕ/мл). Однако при некоторых патологических состояниях вследствие дегрануляции тучных клеток количество гепарина может существенно возрастать. Значительное повышение концентрации гепарина в жидких средах организма наблюдается при его экзогенном введении.

Полученные нами данные дают основание полагать, что в физиологических условиях гепарин не оказывает выраженного действия на сократительную деятельность лимфатических сосудов. Умеренное повышение концентрации гепарина усиливает их сократительную активность, в то время как более значительное увеличение (≥ 20 МЕ/мл), напротив, приводит к ее угнетению. На изолированных кровеносных сосудах усиление сократительной деятельности сосудистой стенки при действии гепарина связывают с увеличением трансмуральной разности потенциалов и перераспределением транспортных потоков ионов Na^+ и Ca^{2+} [3]. В более многочисленных источниках указывается на способность гепарина расширять кровеносные сосуды. Имеются литературные данные о том, что причиной гипотензии при внутривенной инфузии гепарина является массивное поступление в кровотоки гистамина [14].

В работах, проведенных с использованием внутриклеточного введения гепарина в миоциты кровеносных сосудов, показано, что гепарин блокирует связывание инозитолтрифосфата с его рецепторами и таким образом подавляет высвобождение аккумулированного кальция из саркоплазматического ретикулаума [17, 19, 26]. Значительный размер молекулы гепарина и отрицательный заряд препятствуют ее прохождению через мембрану клетки, поэтому изменение сократительной активности гладкомышечных клеток при увеличении внеклеточной концентрации гепарина должны быть объяснены иными механизмами. В то же время в ряде исследований в культуре тканей показано, что связывание гепарина с белковыми молекулами наружной поверхности мембраны может способствовать проникновению гепарина внутрь клетки путем эндоцитоза [22, 24].

Хорошо известна тесная взаимосвязь (высокое сродство) между гепарином и эндотелиальными клетками. В экспериментах на крысах с использованием различных путей введения показано, что содержание гепарина в эндотелии превышает его количество в плазме в 100–1000 раз в зависимости от способа введения, и, в частности, продемонстрировано, что при внутривенной инъекции гепарина до 88 % введенного вещества через 2 мин оказывается связанным с эндотелием [15]. По своим антикоагулянтным свойствам и способности сорбировать на своей поверхности гепарин эндотелий лимфатических сосудов схож с эндотелием кровеносных сосудов [18]. В свою очередь, эндотелий как кровеносных, так и лимфатических сосудов способен продуцировать значительное количество веществ, обладающих высокой вазоактивной способностью,

среди которых одним из наиболее значимых является оксид азота (NO). Результаты, полученные в данном исследовании при блокаде конститутивной синтазы NO эндотелиальных клеток с помощью L-NAME, свидетельствуют о том, что в лимфатических сосудах вазомоторные эффекты гепарина реализуются с участием NO.

Предварительное введение в омывающий раствор метиленового голубого или глибенкламида сопровождалось снижением ингибирующего эффекта гепарина на сократительную функцию лимфатических сосудов, что дает основание полагать, что подавление сократительной активности происходит в следующей последовательности: гепарин → стимуляция выделения эндотелиоцитами NO → диффузия NO в цитоплазму миоцитов → активация растворимой гуанилатциклазы → усиление продукции цГМФ → открывание АТФ-чувствительных K^+ -каналов, расположенных на мембране гладкомышечных клеток → гиперполяризация мембраны миоцитов → расслабление гладких мышц сосудов.

Мы полагаем, что дилататорный эффект гепарина на лимфатические сосуды реализуется в определенной степени также посредством стимуляции циклооксигеназы. Подтверждением этого положения является уменьшение ингибиторного эффекта гепарина в экспериментах с предварительной экспозицией препаратов в растворе с индометацином, являющимся ингибитором циклооксигеназы [16]. Возможность модуляции сократительной деятельности лимфатических сосудов продуктами метаболизма арахидоновой кислоты ранее была показана в ряде исследований [16, 25].

Таким образом, выявленные в данном исследовании вазомоторные эффекты гепарина свидетельствуют о том, что при низком содержании в среде (менее 0,5 МЕ/мл) гепарин не оказывает существенного влияния на сократительную активность брыжеечных лимфатических сосудов быка. Умеренное повышение концентрации (до 15 МЕ/мл) вызывает усиление сократительной деятельности, что может приводить к улучшению оттока лимфы в данном регионе.

В то же время значительное возрастание концентрации гепарина, напротив, угнетает транспортную функцию сосудов вследствие снижения амплитуды и частоты спонтанных фазных сокращений, обеспечивающих активный механизм перемещения лимфы (вплоть до полного их прекращения) и при массовой дегрануляции тучных клеток при аллергических реакциях может быть одной из причин развития отека тканей.

Изучение возможных путей реализации ингибиторных эффектов гепарина позволило прийти к заключению, что в этом процессе важную роль играют эндотелиальные клетки, которые опосредуют действие гепарина, усиливая продукцию оксида азота и в меньшей степени простагландинов, оказывающих модулирующее влияние на гуанилатциклазный и циклооксигеназный механизмы регуляции сократительной активности гладких мышц лимфатических сосудов.

Литература

1. Борисов А.В. О путях перехода тучных клеток в кровоток // Восстановительные процессы в клетках, тканях и органах. Алма-Ата, 1979. С.30
2. Бородин Ю.И., Зыков А.А. Фармакологические средства, стимулирующие дренажную функцию лимфатической системы // Фармакол. и токсикол. 1989. Т.52. № 2. С.106–110.
3. Диденко А.В., Языков В.В., Ярцев В.Н. Влияние поляризации сосудистой стенки на транспорт ионов и сократительную активность хвостовой артерии крыс // Физиолог. журн. СССР. 1996. Т. 82. № 8–9. С.54–58.
4. Кондашевская М.В. Тучные клетки и гепарин — ключевые звенья в адаптивных и патологических процессах // Вестник РАМН. 2010. № 6. С. 49–54
5. Кузник Б.И., Мищенко В.П., Будажабон Г.Б., Цыбилов Н.Н. Действие внутривенных вливаний тромбина и гетерогенной крови на свертываемость лимфы // Физиолог. журн. СССР. 1976. Т. 62. № 10. С. 1460–1462.
6. Лобов Г.И. Реологические свойства крупных лимфатических сосудов // Физиолог. журн. СССР им. И.М.Сеченова. 1990. Т. 76. № 3. С. 371–377.
7. Лобов Г.И., Панькова М.Н. Гепарин ингибирует сокращения гладкомышечных клеток лимфатических сосудов // Бюлл. эксперимент. биол. мед. 2010. Т. 149. № 1. С. 7–10.
8. Мамедов Я.Д., Исмаилова З.Д., Гараев Г.Ш., Мирзабекова Ф.И. Стимуляция лимфатического дренажа сердца обзиданом, гепарином и реоглюманом при острой ишемии миокарда // Бюлл. эксперимент. биол. мед. 1990. Т.110. № 11. С.460–462.
9. Орлов Р.С., Борисова Р.П. Тканевые факторы регуляции спонтанных сокращений лимфатических сосудов // Физиолог. журн. СССР им. И.М.Сеченова. 1981. Т. 67. № 1. С. 137–141.
10. Петренко В.М. Структурные основы в структурной организации активного лимфооттока // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2005. № 2(14). С. 5–12.
11. Петров С.В., Бубнова Н.А., Борисова Р.П. и др. Механизмы активного транспорта лимфы // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2002. №4(4). С. 62–67.
12. Ярошенко И.Ф., Курочкин В.И., Подзолков В.П. Роль лимфатической системы в резорбции гепарина S-35 из соединительной ткани лапы собаки // Физиолог. журн. СССР. 1985. Т. 71. №1. С. 131–134.
13. Beamish J. A., Geyer L. C., Haq-Siddiqi N. A. et al. The effects of heparin releasing hydrogels on vascular smooth muscle cell phenotype // Biomaterials. 2009. Vol. 30. № 31. P. 6286–6294.
14. Casthely P.A., Yoganathan D., Karyanis B. et al. Histamine blockade and cardiovascular changes following heparin administration during cardiac surgery // J. Cardiothorac. Anesth. 1990. Vol. 4. № 6. P. 711–714.
15. Hiebert L.M., Wice S.M., McDuffie N.M., Jaques L.B. The heparin target organ—the endothelium. Studies in a rat model // Q. J. Med. 1993. Vol. 86. № 5. P. 341–348.
16. Johnston M. G., Feuer C. Suppression of lymphatic vessel contractility with inhibitors of arachidonic acid metabolism // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1983. Vol. 226. № 2. P. 603–607.
17. Kobayashi S., Somlyo A.V., Somlyo A.P. Heparin inhibit the inositol 1,4,5-trisphosphate-dependent, but not the independent, calcium release induced by guanine nucleotide in vascular smooth muscle // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1988. Vol. 153. № 2. P. 625–631.
18. Laschinger C.A., Johnston M.G., Hay J.B., Wasi S. Production of plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor by bovine lymphatic endothelial cells: modulation by TNF-alpha // Thromb. Res. 1990. Vol. 59. № 3. P. 567–579.
19. McCarron J. G., Craig J. W., Bradley K. N., Muir T. C. Agonist-induced phasic and tonic responses in smooth muscle are mediated by InsP(3) // J. Cell Sci. 2002. Vol. 3 (Pt 10). P. 2207–2218.
20. McHale N.G., Meharg M.K. Co-ordination of pumping in isolated bovine lymphatic vessels // J. Physiol. 1992. Vol. 450. P. 503–512.
21. McHale N.G., Roddie I.C. The effect of transmural pressure on pumping activity in isolated bovine lymphatic vessels // J. Physiol. 1976. Vol. 261. № 2. P. 255–269.
22. Muñoz E. M., Linhardt R. J. Heparin-binding domains in vascular biology // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2004. Vol. 24. № 9. P. 1549–1557.
23. Plonsky L. D., Boyles J. Vascular associations of mast cells in the diaphragm // Microvasc. Res. 1981. Vol. 22. № 2. P. 127–142.
24. Ryser H. J., Morad N., Shen W. C. Heparin interaction with cultured cells: possible role of fibronectin in uncoupling surface binding and endocytosis // Cell. Biol. Int. Rep. 1983. Vol. 7. №11. P.923–930.
25. Wu T. F., Carati C. J., Macnaughton W. K., von der Weid P. Y. Contractile activity of lymphatic vessels is altered in the TNBS model of guinea pig ileitis // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2006. Vol. 291. № 4. P. G566–G574.
26. Yamamoto H., Kanaide H., Nakamura M. Heparin specifically inhibits the 1,4,5-trisphosphate-induced Ca²⁺ release from skinned rat aortic smooth muscle cells in primary culture // Naunun-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 1990. Vol. 341. № 4. P. 273–278.
27. Yu L., Quinn D. A., Garg H. G., Hales C. A. Heparin inhibits pulmonary artery smooth muscle cell proliferation through guanine nucleotide exchange factor-H1/RhoA/Rho kinase/p27 // Am. J. Respir Cell. Mol. Biol. 2011. Vol. 44. № 4. P. 524–530.

UDK 611.42 : 612.115.35

Pan'kova M. N., Lobov G. I.

Heparin-induced modulation of the active transport of lymph by lymphatic vessels

Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia
e-mail: mpankova@bk.ru

Abstract

Purpose: to study the influence and mechanisms of action of heparin on the contractile activity of smooth muscle of lymph vessels.

Experiments were performed on segments of lymphatic vessels from bovine mesentery. Contractile activity of smooth muscles was recorded by using tension sensor FORT-10 and Labmaster software.

Low concentrations of heparin (≤ 15 U/ml) caused an increase of the spontaneous contractile activity, whereas higher concentrations decreased it. L-NAME increased an activating effects of heparin and decreased its inhibitory effects. Inhibitory effect of heparin was prevented by methylene blue or glibenclamide, and partially, by indomethacin.

Thus, the relaxation response to the action of heparin has been associated with changes in the activity of guanylate cyclase, and lesser, with the cyclooxygenase regulation mechanisms of smooth muscle contractile activity of lymphatic's.

Keywords: lymphatic vessels, smooth muscle, contractile activity, heparin.

References

1. Borisov A.V. O putjah perehoda tuchnyh kletok v krovotok. Vosstanovitel'nye processy v kletkah, tkanjah i organah. Alma-Ata. 1979. P.30. [About ways of transition of must cells to blood flow. Recovery processes in cells, tissues and organs]. [In Russian].
2. Borodin Ju.I., Zykov A.A. Farmakologicheskie sredstva, stimulirujushhie drenazhnuju funkciju limfaticheskoy sistemy // Farmakologija i toksikologija [Pharmacology and toxicology]. 1989. V. 52. No 2. P.106-110. [The pharmacological tools stimulating drainage function of lymphatic system]. [In Russian].
3. Didenko A.V., Jazykov V.V., Jarcev V.N. Vlijanie poljarizacii sosudistoj stenki na transport ionov i sokratitel'nuju aktivnost' hvostovoj arterii krysa // Fiziologicheskij zhurnal SSSR [USSR Journal of Physiology]. 1996. V. 82, No. 8-9. P. 54-58. [Influence of polarization of a vascular wall on transport of ions and contractility of rat's tail artery]. [In Russian].
4. Kondashevskaja M.V. Tuchnye kletki i geparin – ključevye zven'ja v adaptivnyh i patologicheskijh processah // Bjulleten' Rossijskoj Akademii Medicinskih Nauk [the Bulletin of the Russian Academy of Medical Science]. 2010. No. 6. P. 49-54. [Must cells and heparin – key links in adaptive and pathological processes]. [In Russian].
5. Kuznik B.I., Mishhenko V.P., Budazhabon G.B., Cybikov N.N. Dejstvie vnutrivennyh vlivanij trombina i geterogennoj krovi na svertyvaemost' limfy // Fiziologicheskij zhurnal SSSR [USSR Journal of Physiology]. 1976. V. 62. No10. P. 1460-1462. [Action of intravenous injections of thrombin and heterogeneous blood on lymph coagulability]. [In Russian].
6. Lobov G.I. Reologicheskie svojstva krupnyh limfaticheskijh sosudov // Fiziologicheskij zhurnal SSSR [USSR Journal of physiology]. 1990. V. 76, No 3. P. 371-377. [Rheological properties of large lymphatic vessels]. [In Russian].
7. Lobov G.I., Pan'kova M.N. Geparin ingibiruet sokrashhenija gladkomyshechnykh kletok limfaticheskijh sosudov // Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny [Bull Exp Biol Med.]. 2010. V. 149. No 1. P.7-10. [Heparin inhibits reductions the smooth muscle cells of lymphatic vessels]. [In Russian].
8. Mamedov Ja.D., Ismailova Z.D., Garaev G.Sh., Mirzabekova F.I. Stimuljacija limfaticheskogo drenazha serdca obzidanom, geparinom i reogl'jumanom pri ostroj ishemii miokarda // Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny [Bull Exp Biol Med.]. 1990. V. 110. No 11. P.460-62. [Stimulation of a lymphatic drainage of heart by obzidan, heparin and reogluman at acute myocardial ischemia]. [In Russian].
9. Orlov R.S., Borisova R.P. Tkanevye faktory reguljarii spontannyh sokrashhenij limfaticheskijh sosudov // Fiziologicheskij zhurnal SSSR [USSR Journal of physiology]. 1981. V. 67. No 1. P. 137-141. [Tissue factors of lymphatic vessels spontaneous contraction regulation]. [In Russian].
10. Petrenko V.M. Strukturnye osnovy v strukturnoj organizacii aktivnogo limfotoka // Regionarnoe krovoobrashhenie i mikroциркуляция [Regional haemodynamics and microcirculation]. 2005. No 2 (14). P. 5-12. [Structural bases in the structural organization of active lymph outflow]. [In Russian].
11. Petrov S.V., Bubnova N.A., Borisova R.P. et al. Mechanizmy aktivnogo transporta limfy. // Regionarnoe krovoobrashhenie i mikroциркуляция [Regional haemodynamics and microcirculation]. 2002. No 4(4). P. 62-67. [Mechanisms of active lymph transport]. [In Russian].
12. Jaroshenko I.F., Kurochkin V.I., Podzolkov V.P. Rol' limfaticheskoy sistemy v rezorbcii geparina S-35 iz soedinitel'noj tkani lapy sobaki // Fiziologicheskij zhurnal SSSR [USSR Journal of physiology]. 1985. V. 71. No1. P. 131-134. [The role of lymphatic system in resorption of heparin S-35 from connective tissue of dog's paw]. [In Russian].
13. Beamish JA, Geyer LC, Haq-Siddiqi NA et al. The effects of heparin releasing hydrogels on vascular smooth muscle cell phenotype // Biomaterials. 2009. V. 30.No 31. P. 6286-94
14. Casthely P.A., Yoganathan D., Karyanis B. et al. Histamine blockade and cardiovascular changes following heparin administration during cardiac surgery // J. Cardiothorac. Anesth. 1990. V. 4. N 6. P. 711-714.
15. Hiebert L.M., Wice S.M., McDuffie N.M., Jaques L.B. The heparin target organ--the endothelium. Studies in a rat model // Q. J. Med. 1993. V. 86. N 5. P. 341-348.

16. Johnston MG, Feuer C. Suppression of lymphatic vessel contractility with inhibitors of arachidonic acid metabolism // *J Pharmacol Exp Ther*. 1983. V. 226. No 2. P. 603-7.
17. Kobayashi S., Somlyo A.V., Somlyo A.P. Heparin inhibit the inositol 1,4,5-trisphosphate-depended, but not the independed, calcium release induced by guanine nucleotide in vascular smooth muscle. // *Biochem.Biophys.Res.Communic.* 1988. 153. No2. P.625-631
18. Laschinger C.A., Johnston M.G., Hay J.B., Wasi S. Production of plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor by bovine lymphatic endothelial cells: modulation by TNF-alpha. // *Thromb. Res*. 1990. V. 59. No 3. P. 567-579.
19. McCarron JG, Craig JW, Bradley KN, Muir TC. Agonist-induced phasic and tonic responses in smooth muscle are mediated by InsP(3)// *J Cell Sci*. 2002. V. (Pt 10). P. 2207-18.
20. McHale N.G., Meharg M.K. Co-ordination of pumping in isolated bovine lymphatic vessels// *J. Physiol*. 1992. V. 450. P. 503-512
21. McHale N.G., Roddie I.C. The effect of transmural pressure on pumping activity in isolated bovine lymphatic vessels // *J. Physiol*. 1976. V. 261. No 2. P. 255-269.
22. Muñoz EM, Linhardt RJ. Heparin-binding domains in vascular biology// *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004. V. 24. No9. P. 1549-57
23. Plonsky LD, Boyles J. Vascular associations of mast cells in the diaphragm // *Microvasc Res*. 1981. V. 22. No 2. P. 127-42.
24. Ryser HJ, Morad N, Shen WC. Heparin interaction with cultured cells: possible role of fibronectin in uncoupling surface binding and endocytosis// *Cell Biol Int Rep*. 1983. V.7. No11. P.923-30.
25. Wu TF, Carati CJ, Macnaughton WK, von der Weid PY. Contractile activity of lymphatic vessels is altered in the TNBS model of guinea pig ileitis// *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006. V.291. No4. P. G566-74.
26. Yamamoto H., Kanaide H., Nakamura M. Heparin specifically inhibits the 1,4,5-trisphosphate-induced Ca²⁺ release from skinned rat aortic smooth muscle cells in primary culture// *Naunun. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol*. 1990. 341. No4. P.273-278
27. Yu L, Quinn DA, Garg HG, Hales CA. Heparin inhibits pulmonary artery smooth muscle cell proliferation through guanine nucleotide exchange factor-H1/RhoA/Rho kinase/p27// *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2011. V. 44. No 4. P. 524-30.