

# Экспериментальные исследования ЕГОРОВА А. А., ПЕТУНОВ С. Г., АВРАМЕНКО Е. А.

## Влияние серотонина на лимфатические сосуды белой крысы. Роль эндотелия

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН*  
*e-mail: office@iephb.ru*

### Реферат

Стимулирующее действие серотонина на изолированные лимфатические сосуды белой крысы опосредованно активацией 5HT<sub>2</sub>-рецепторов и  $\alpha_2$ -адренорецепторов. Эндотелийзависимые реакции лимфатических сосудов на серотонин связаны с угнетением синтеза NO и продуктов метаболизма арахидоновой кислоты.

**Ключевые слова:** лимфатические сосуды, серотонин, эндотелий, NO, арахидоновая кислота.

Egorova A. A., Petunov S. G., Avramenko E. A.

## Influence of endothelium on the 5-HT effect on lymphatic vessel

*Work performed at the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry*  
*e-mail: office@iephb.ru*

### Abstract

The stimulating effect of serotonin on isolated lymphatic vessels of white rats is mediated through 5-HT<sub>2</sub> receptors and  $\alpha_2$ -adrenergic receptors. Action of serotonin is associated with endothelium and realized through the blocking of NO synthesis and arachidonic acid derivatives.

**Keywords:** lymphatic vessels, serotonin, endothelium, NO, arachidonic acid.

### Введение

Лимфатическая система как один из элементов системы регионарного кровообращения играет важную роль в обеспечении оптимальной гидратации интерстициального пространства. Выполнение этой функции зависит от состояния фазной активности лимфатических сосудов (ЛС), обеспечивающей перемещение лимфы из дистального лимфангиона в проксимальный, а также тонуса миоцитов, обуславливающего емкостные свойства лимфангиона [1]. Сократительная активность миоцитов лимфатических сосудов модулируется нервными и гуморальными факторами, к числу которых относятся биогенные амины [12]. Одним из биогенных аминов является серотонин (5-НТ), который оказывает выраженное влияние на моторику лимфатических сосудов [1,2].

Литературные данные свидетельствуют о неоднозначном влиянии серотонина на сократительную активность: стимулирующее влияние показано на лимфатических сосудах крысы, собаки, быка, свиньи и овцы, угнетение фазной активности наблюдали на лимфатических сосудах овцы, быка и морской свинки [1–3, 6, 7]. Такие реакции могут быть обусловлены стимуляцией различных рецепторных зон, расположенных как непосредственно на мембране миоцитов [7], так и на эндотелиальных клетках [2]. Тормозные реакции на серотонин могут быть

связаны с изменением синтеза эндотелием ряда регулирующих факторов, в частности NO [2, 13]. Это свидетельствует о том, что к настоящему времени механизмы влияния 5НТ на лимфатические сосуды изучены недостаточно.

### Цель исследования

Изучить прямые и эндотелийзависимые механизмы действия 5НТ на брыжеечные лимфатические сосуды белой крысы.

### Материалы и методы исследования

Эксперименты проводились на изолированных перфузируемых раствором Кребса сегментах переднего брыжеечного лимфатического протока белой крысы в рабочей камере Pressure Myograph System 110P (*Danish Myo Technology*). Давление на входе и выходе канюлированного сосуда составляло 6,5 см вод. ст., что соответствует гидродинамическим условиям в данном участке сосудистого русла [5]. Регистрировали продольное напряжение гладкомышечного препарата в изометрических условиях. В качестве датчика напряжения использовали механоэлектрический преобразователь установки Pressure Myograph System 110P. Тестируемые вещества, растворенные в предварительно проаэрированном рас-

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

творе Кребса (рН 7,4), поступали в рабочую камеру посредством суперфузии. Температура в рабочей камере поддерживалась в ходе всего опыта на уровне  $37,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Изучали влияние 5-НТ (*Sigma-Aldrich*, США) в концентрациях  $10^{-8}$ – $10^{-4}$  М. Механизмы действия серотонина изучали с использованием блокатора 5-НТ2-рецепторов кетансерина (*Sigma-Aldrich*, США) ( $5 \times 10^{-7}$  М), блокатора  $\alpha_2$ -адренорецепторов йохимбина (*Sigma-Aldrich*, США) ( $3 \times 10^{-6}$  М), донора оксида азота нитропрусида натрия (SNP) (*Sigma-Aldrich*, США), используемого в концентрации  $1 \times 10^{-6}$  М, и блокатора синтеза продуктов метаболизма арахидоновой кислоты индометацина (*Sigma-Aldrich*, США) в концентрации  $1 \times 10^{-6}$  М. Деэндотелизация проводилась путем пропускания воздушной струи через просвет сосуда с последующим определением эффективности удаления эндотелия согласно методике, описанной J. L. Fox (2002). Статистическую обработку материалов проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни.

### Результаты исследования

Изолированные сегменты ЛС, используемые в исследовании, обладали спонтанной фазной активностью. Средняя частота спонтанных фазных сокращений интактных ЛС составила  $13,0 \pm 0,7$  мин<sup>-1</sup>, амплитуда —  $104,9 \pm 7,3$  мкН ( $n=15$ ). Эксперименты показали, что серотонин обладает выраженным дозозависимым влиянием на моторику лимфатических сосудов. Минимальная из используемых концентраций серотонина ( $10^{-8}$  М) вызывала увеличение амплитуды на 17,5 % по отношению к исходному уровню ( $p < 0,05$ ).

Увеличение концентрации серотонина (до  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  и  $10^{-4}$  М) вызывало повышение амплитуды фазных сокращений до 23,9; 44,5; 81,1 и 63,0 % от фонового значения соответственно ( $p < 0,05$ ), а также приводило к увеличению тонуса сосудов на 0,3–0,45 мН от исходного значения (рис. 1).

Для исследования возможного влияния эндотелия в реализации эффекта 5-НТ на ЛС было проведена деэндотелизация сосуда, которая приводила к статистически незначимому изменению параметров спонтанной сократительной активности. Частота сокращений в этих условиях составила  $15,0 \pm 0,7$  мин<sup>-1</sup>, что на 15 % выше, чем в интактных сосудах ( $p > 0,05$ ). Амплитуда сократительной активности

деэндотелизированных сосудов составила  $105,8 \pm 7,3$  мН, что статистически не отличалось от таковой в интактных сосудах.

Реактивность деэндотелизированных ЛС к серотонину сохранялась, однако, в отличие от интактных сосудов, происходило дозозависимое уменьшение частоты фазной активности (на 8,9–32,1 %) без достоверного изменения амплитуды и тонуса.

Использование блокатора 5-НТ2-рецепторов кетансерина (КС) ( $5 \times 10^{-7}$  М) не вызывало достоверных изменений параметров фазной активности ЛС. Стимулирующий эффект серотонина ( $10^{-6}$  М и  $10^{-5}$  М) в этих условиях был снижен. Наблюдалось незначительное увеличение частоты сокращений ЛС (до  $15,6 \pm 0,8$  мин<sup>-1</sup> (на 12 %) и уменьшение амплитуды фазных сокращений на  $3,9 \pm 1,5$  и  $11,4 \pm 2,1$  мН (на 3–11 %) по отношению к фоновому уровню соответственно ( $p > 0,05$ ) (рис. 3, 4). Тонические реакции ЛС на 5-НТ ( $10^{-5}$  М) на фоне кетансерина не проявлялись.

Действие блокатора  $\alpha_2$ -адренорецепторов йохимбина в концентрации  $10^{-6}$  М на изолированные ЛС в течение 15 минут не вызывало статистически значимых изменений моторики лимфангионов по сравнению с фоновым уровнем активности. Наблюдалось незначительное понижение тонуса ЛС — на  $0,05 \pm 0,07$  мН по отношению к фоновому уровню. Стимулирующее влияние 5-НТ ( $10^{-5}$  М) на ЛС в условиях блокады  $\alpha_2$ -адренорецепторов уменьшалось: амплитуда фазных сокращений составила  $150,5 \pm 7,3$  мН, что на 20 % меньше, чем при отдельном применении 5-НТ, частота фазной активности статистически значимо не отличалась от фоновых значений, тонус миоцитов снижался незначительно (рис. 2, 3).

Использование нитропрусида натрия уменьшало стимулирующее влияние серотонина ( $10^{-5}$  М) на ЛС (рис. 2, 3). Амплитуда фазных сокращений ЛС в этих условиях составила  $142,0 \pm 7,5$  мН, что на 25 % меньше, чем при отдельном применении 5-НТ. Статистически достоверных отклонений частоты фазной активности от фоновых не наблюдалось, тонус ЛС снижался на  $0,25 \pm 0,05$  мН.

Действие индометацина ( $10^{-6}$  М) также вызывало уменьшение стимулирующего влияния 5-НТ ( $10^{-5}$  М) на ЛС: наблюдалось снижение амплитуды стимулированных сокращений на 15 % и частоты на 33,3 % (рис. 2, 3). Тонические реакции при этом не изменялись.

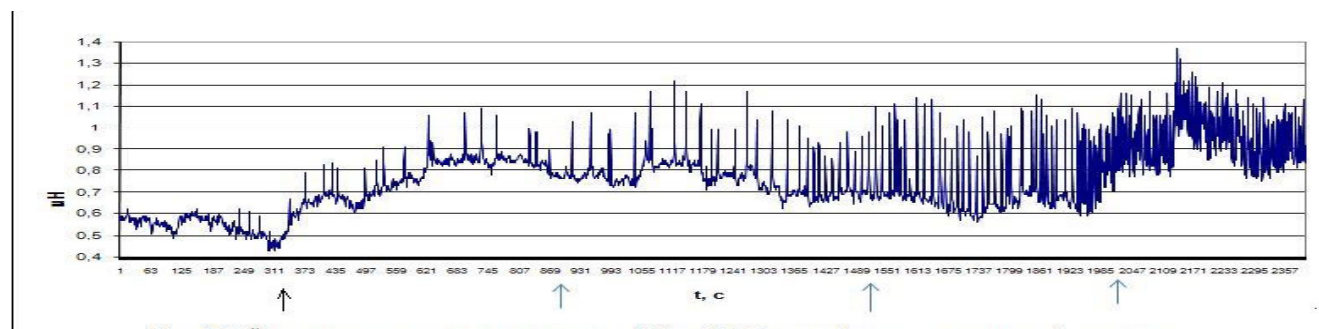
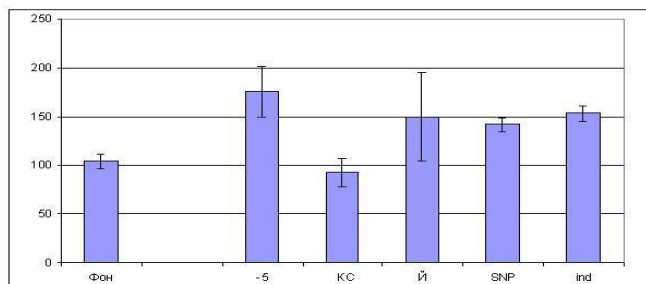


Рис. 1. Действие серотонина в концентрациях  $10^{-8}$ – $10^{-5}$  М на лимфатические сосуды. Стрелками показано применение раствора серотонина в концентрациях  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  М



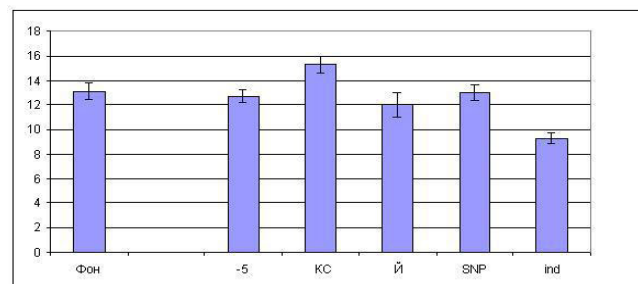
**Рис. 2.** Действие серотонина на амплитуду фазных сокращений лимфатического сосуда в условиях применения кетансерина, йохимбина, SNP и индометацина. Концентрация 5НТ — (-5); кетансерина — (КС), йохимбина — (Й), индометацина — (ind)

### Обсуждение результатов

Одна из важнейших функций лимфатической системы в регионарном кровообращении состоит в обеспечении возврата в системную циркуляцию интерстициальной жидкости и белка, профильтрованного в капиллярном участке сосудистого русла. Значимость этой функции возрастает при развитии воспалительных реакций, которые сопровождаются увеличением количества интерстициальной жидкости в очаге воспаления, в частности, при увеличении концентрации в интерстициальном пространстве 5НТ, выделяющегося при дегрануляции тромбоцитов [10].

Действие серотонина в системе микроциркуляции способствует повышению проницаемости капилляров, что вызывает увеличение лимфообразования и, таким образом, может стимулировать лимфоток [1, 3, 6, 7]. Кроме этого, как показали проведенные исследования, серотонин обладает выраженным дозозависимым влиянием на сократительную активность лимфатических сосудов. Подобные результаты были получены на грудном протоке и кишечном стволе крысы [1]. Из широкого спектра выявленных специфических серотониновых рецепторов некоторые из них, в частности, 5НТ 2-го, 4-го и 7-го типов, описаны в лимфатических сосудах, активация 5НТ-2-рецепторов вызывает стимуляцию сократительной активности, тогда как активация 5НТ-4 и -7-рецепторов приводит к расслаблению гладких мышц ЛС [2, 3, 6]. В проведенном исследовании стимулирующее влияние серотонина уменьшалось на фоне блокатора 5НТ-2-рецепторов кетансерина. Подобные данные получены на других объектах исследования: 5НТ оказывал дозозависимый констрикторный эффект на спонтанные сокращения изолированных брыжечных лимфатических сосудов быка, действуя на 5НТ-2-рецепторы [7].

Стимулирующее влияние серотонина на ЛС может реализовываться посредством активации  $\alpha$ -адренорецепторов. Такие результаты были получены в экспериментах на пренодальных лимфатических сосудах передней лапы собаки [3]. В наших экспериментах в условиях блокады  $\alpha_2$ -адренорецепторов йохимбином наблюдалось уменьшение стимулирующего эффекта серотонина только при его дей-



**Рис. 3.** Действие серотонина на частоту фазных сокращений лимфатического сосуда в условиях применения кетансерина, йохимбина, SNP и индометацина. Концентрация 5НТ — (-5); кетансерина — (КС), йохимбина — (Й), индометацина — (ind)

ствии в высоких концентрациях ( $10^{-5}$  М и выше), на основании чего можно заключить, что стимуляция  $\alpha_2$ -адренорецепторов может наблюдаться только в этих условиях.

Эндотелий лимфатических сосудов участвует в регуляции тонуса и сократительной фазной активности миоцитов ЛС, обеспечивая тем самым адекватный лимфоток [11]. Присутствие 5-НТ-2-рецепторов показано на эндотелии артерий [8], а также изолированных ЛС морской свинки [2], что дает основание предположить участие выделяемых эндотелием факторов в реализации эффекта серотонина. В наших экспериментах показано, что реактивность ЛС к действию серотонина изменялась при их деэндотелизации: наблюдалось торможение фазной сократительной активности, причиной которого может быть активация 5НТ-4 или 7-рецепторов [2, 7]. Полученные данные свидетельствуют о наличии рецепторов к серотонину как на эндотелии ЛС, так и на гладкомышечных клетках.

Стимулирующее действие серотонина может быть связано с уменьшением выделения эндотелием факторов, тормозящих сократительную активность гладкомышечных клеток, в частности оксида азота и простагландинов. Подобные экспериментальные исследования были проведены на изолированных полосках аорты крысы [13], церебральной основной артерии крысы [4] и лимфатических сосудах морской свинки [2]. В наших экспериментах для определения роли факторов эндотелия в реализации реакций ЛС на 5НТ были использованы донор оксида азота SNP и ингибитор биосинтеза простагландинов индометацин. Применение SNP на фоне действия 5НТ в концентрации  $10^{-5}$  М уменьшало стимулирующее влияние серотонина на ЛС, но не исключало его полностью.

Полученные данные дают основание заключить, что стимулирующее влияние 5НТ связано частично с блокадой синтеза NO. Применение индометацина на фоне действия 5НТ в концентрации  $10^{-5}$  М также вызывало уменьшение стимулирующего влияния 5НТ на ЛС, что свидетельствует об участии продуктов метаболизма арахидоновой кислоты в реализации влияния 5НТ.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Выводы

1. Серотонин дозозависимо стимулирует сократительную активность лимфангионов кишечного ствола белой крысы.
2. Влияние серотонина на миоциты ЛС может реализовываться как непосредственно, так и путем стимуляции рецепторов эндотелиоцитов.

3. Стимулирующие реакции 5-НТ на брыжеечные ЛС крысы реализуется посредством активации 5-НТ<sub>2</sub>-рецепторов. Высокие концентрации серотонина вызывают стимуляцию  $\alpha_2$ -адренорецепторов.
4. Стимулирующее моторику ЛС крысы влияние серотонина связано с угнетением синтеза оксида азота и простагландинов эндотелиальными клетками.

## Литература

1. Орлов, Р. С. Лимфатические сосуды / Р. С. Орлов. — Л.: Наука, 1983. — 252 с.
2. Chan, A. K. 5-HT decreases contractile and electrical activities in lymphatic vessels of the guinea-pig mesentery: role of 5-HT<sub>7</sub>-receptors / A. K. Chan // *Br. J. Pharmacol.* — 2003. — № 139 (2). — P. 243–254.
3. Dobbins, D. E. Receptor mechanisms of serotonin-induced prenodal lymphatic constriction in the canine forelimb / D. E. Dobbins // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 1998. — № 274 (2. Pt 2). — P. H650–H654.
4. Enkhjargal, B. Characterization of vasoconstrictor-induced relaxation in the cerebral basilar artery / B. Enkhjargal // *Eur. J. Pharmacol.* — 2010. — № 637 (1–3). — P. 118–123.
5. Gashev, A. A. Inhibition of the active lymph pump by flow in rat mesenteric lymphatics and thoracic duct / A. A. Gashev // *J. Physiol.* — 2002. — № 540. — P. 1023–1037.
6. Hashimoto, S. Effects of vasoactive substances on the pig isolated hepatic lymph vessels / S. Hashimoto // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1994. — № 269 (2). — P. 482–488.
7. Miyahara, H. 5-Hydroxytryptamine-2 and -4 receptors located on bovine isolated mesenteric lymphatics / H. Miyahara // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1994. — № 271 (1). — P. 379–385.
8. Rashid, M. Insurmountable antagonism of AT-1015, a 5-HT<sub>2</sub> antagonist, on serotonin-induced endothelium-dependent relaxation in porcine coronary artery / M. Rashid // *J. Pharm. Pharmacol.* — 2003. — № 55 (6). — P. 827–832.
9. Reddy, N. P. Lymph circulation: physiology, pharmacology, and biomechanics / N. P. Reddy // *Crit. Rev. Biomed. Eng.* — 1986. — № 14 (1). — P. 45–91.
10. Vanhoutte, P. M. Platelet-derived serotonin, the endothelium, and cardiovascular disease / P. M. Vanhoutte // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* — 1991. — № 17. — Suppl. 5 — P. 6–12.
11. Von der Weid, P. Y. Endothelium-dependent modulation of pacemaking in lymphatic vessels of the guinea-pig mesentery / P. Y. Von der Weid [et al] // *J. Physiol.* — 1996. — № 493 (Pt. 2). — P. 563–575.
12. Von der Weid, P. Y. Lymphatic smooth muscle: the motor unit of lymph drainage / P. Y. Von der Weid // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* — 2004. — № 36. — P. 1147–1153.
13. Wakabayashi, I. Involvement of nitric oxide in fading of 5-hydroxytryptamine-induced vasocontraction / I. Wakabayashi // *Pharmacol. Toxicol.* — 1993. — № 72 (3). — P. 175–181.