

Н. В. ПАНЬКОВА¹, М. М. АРТЕМЬЕВА², Н. А. МЕДВЕДЕВА²

Пол-зависимое изменение реактивности изолированных легочных артерий гонадоэктомированных крыс при действии прерывистой гипоксии разной степени тяжести

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр Российской Федерации «Институт медико-биологических проблем» Российской академии наук», Москва, Россия
123007, Россия, Москва, Хорошевское шоссе, д. 76 А

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Москва, Россия
119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1
E-mail: namedved@gmail.com

Статья поступила в редакцию 19.02.21 г.; принята к печати 28.05.21 г.

Резюме

Введение. Сужение легочных сосудов является одним из факторов патогенеза гипоксической формы легочной гипертонии (ГЛГ). Степень развития заболевания зависит от степени гипоксического воздействия и пола. **Цель** – изучение влияния степени гипоксии и пола животного на реакции изолированных легочных артерий на вазоактивные факторы. **Материалы и методы.** Эксперименты проводили на гонадоэктомированных самцах (СЦ) и самках (СК) крыс стока Wistar. В эксперимент вступало по 4 группы животных. Одна группа СЦ и СК содержалась в условиях вивария (21 %O₂). Для моделирования ГЛГ остальных крыс в течение по 10 ч в сутки подвергали действию гипобарической гипоксии (ХПГГ) при содержании кислорода во вдыхаемом воздухе 13 % (пД. O₂ 103,7 мм рт. ст.), или 10 % (пД. O₂ 78,2 мм рт. ст.), или 8 % (пД. O₂ 63,5 мм рт. ст.) в сравнении с его содержанием при 21 % (пД. O₂ 159 мм рт. ст.). Затем выделяли легочный сосуд 3-го порядка, который перфузировали с постоянным расходом сосудосуживающими и сосудорасширяющими агентами. О реакции судили по изменению перфузионного давления. **Результаты.** Изучение реакций изолированных сосудов показало, что у СК с ГЛГ 10 % O₂ суживающая реакция на серотонин была больше, чем у СЦ. У нормотензивных СЦ расширительный ответ на эндотелий-независимый расширительный фактор нитропруссид натрия (НП) была меньше, чем у СК. Воздействие гипоксии у СЦ приводило к увеличению реактивности к НП. **Заключение.** Увеличенная реактивность легочных сосудов СК к серотонину может быть фактором патогенеза ГЛГ, в отличие от СЦ. Увеличение реакции к NO-дону у СЦ при действии гипоксии может быть использовано для фармакологической коррекции ГЛГ.

Ключевые слова: хроническая прерывистая гипоксия, легочная гипертония, легочные сосуды, серотонин, NO-донор, самки, самцы

Для цитирования: Панькова Н. В., Артемьева М. М., Медведева Н. А. Пол-зависимое изменение реактивности изолированных легочных артерий гонадоэктомированных крыс при действии прерывистой гипоксии разной степени тяжести. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2021;20(3):77–83. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-77-83.

N. V. PANKOVA¹, M. M. ARTEMIEVA², N. A. MEDVEDEVA²

Sex-dependent change in the reactivity of isolated pulmonary arteries of gonadectomized rats under the intermittent hypoxia of different degree

¹ Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
76A, Khoroshevskoye schosse, Moscow, Russia, 123007

² M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
1, Leninskie Gory, Moscow, Russia, 119991
E-mail: namedved@gmail.com

Received 19.02.21; accepted 28.05.21

Summary

Introduction. Pulmonary vasoconstriction is one of factors of hypoxic pulmonary hypertension (HPH). The progression of this disease depends on the degree of hypoxia and sex. **The aim of this study** was to investigate the reactivity of isolated pulmonary vessels of male and female rats with HPH to vasoactive factors. **Materials and methods.** The experiments were on male and female of Wistar rats 190–200 g, which were gonadectomized. All animals were divided into 4 groups. One group of males and female rats was kept in a vivarium (21 % O₂). To simulate HPH, other rats were exposed to hypobaric hypoxia for 10 hours a day at an oxygen content in the inhaled air equal to 13 % (pP O₂ 103.7 mmHg) or 10 % (pP O₂ 78.2 mmHg), or

8 % (pP O₂ 63,5 mmHg) as compared to its content at 21 % (pP O₂ 159 mmHg). After that, a third-order pulmonary vessel was perfused at a constant flow rate with vasoconstrictors and vasodilators. The reaction was recorded by the change in perfusion pressure. **Results.** In females with HPH 10 %O₂, constricting response to serotonin were greater than in males. In normotensive males, the dilatatory response to sodium nitroprusside (NP) was less than in female. Exposure to hypoxia induced an increase in NP responses. **Conclusion.** Increased reactivity of pulmonary vessels to serotonin is a factor of pathogenesis of HPH in females, in contrast to males. Increased reactivity to NO donor in males exposed to hypoxia can be used for a pharmacological target for HPH.

Keywords: chronic intermittent hypoxia, pulmonary hypertension, pulmonary vessels, serotonin, NO donor, females, males

For citation: Pankova N. V., Artemieva M. M., Medvedeva N. A. Sex-dependent change in the reactivity of isolated pulmonary arteries of gonadectomized rats under the intermittent hypoxia of different degree. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2021;20(3):77–83. Doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-77-83.

Введение

Реакция легочных сосудов на острое гипоксическое воздействие отличается от реакции сосудов большого круга кровообращения. В первом случае возникает адаптивное сужение сосудов, направленное на сохранение оптимального соотношения вентиляции и перфузии. В сосудах большого круга кровообращения наблюдается их расширение, обеспечивающее доставку достаточного количества кислорода к тканям, что необходимо для поддержания их метаболизма. При хроническом действии гипоксии, при низком уровне содержания кислорода во вдыхаемом воздухе, возникают сужение легочных сосудов, структурная перестройка стенки сосудов и правого желудочка сердца. Все это приводит к увеличению давления в сосудистой системе легких и возникновению гипоксической формы легочной гипертензии (ГЛГ), которая часто является осложнением ряда заболеваний легочной системы [1, 2]. Одной из причин развития ГЛГ является изменение реактивности сосудистой стенки, как гладкой мышцы, так и эндотелия, к вазоактивным факторам [3]. Вклад изменения сосудистой реактивности в развитии ГЛГ при разных уровнях содержания кислорода во вдыхаемом воздухе и разной степени развития легочной гипертензии остается малоисследованным. Понимание этих процессов осложняется еще и тем, что легочная гипертензия является пол-зависимым заболеванием. Показано, что женщины в репродуктивном возрасте страдают легочной гипертензией чаще, чем мужчины, в среднем в соотношении 4:1 [4]. И это несмотря на то, что женский половой гормон эстрадиол обладает протективным действием в отношении функции эндотелия сосудистой стенки. Он способен вызывать увеличение синтеза одного из главных сосудорасширяющих факторов – оксида азота (NO), активируя специфические рецепторы, расположенные на мембране эндотелиальных клеток. В литературе это явление получило название «эстрадиолового парадокса» [5]. Однако после наступления постменопаузы у женщин, когда содержание половых гормонов в организме уменьшается, половых различий в проявлении ЛГ не наблюдается [6]. Изучая это явление на гонадоэктомированных самцах (СЦ) и самках (СК) крыс с ГЛГ, мы показали, что максимальное развитие ГЛГ у СК происходит при более высоком содержании кислорода во вдыхаемом воздухе (при 10 % O₂) по сравнению с СЦ (при 8 % O₂) [7]. Для анализа пол-зависимой чувствительности к степени гипоксии и связанного с этим развития ГЛГ в насто-

ящей работе изучали возможный вклад изменения реактивности изолированных сосудов легких гонадоэктомированных СЦ и СК крыс с ГЛГ, вызываемой разными уровнями гипоксии, в ответ на перфузию сосудосуживающим (серотонин) и сосудорасширяющими (нитропруссид натрия и эстрадиол) факторами.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на СЦ и СК крыс стока Wistar весом 190–200 г (виварий ФГБНУ НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва). Животных содержали в условиях 12-часового светового дня (включение света в 09:00) со свободным доступом к воде и пище. В гипоксической части эксперимента свободный доступ к еде и воде у животных был только в ночное время суток (12 ч), что связано с ограниченными возможностями используемой гипоксической камеры. Работу с животными проводили согласно требованиям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в других научных целях (1986) (Биоэтический комитет МГУ № 11 ФЧЖ 2019 от 14.05.2019 г.). Исследование начинали через 3 недели после транспортировки, в течение которых проводили приучение животных к рукам.

Группы животных. Крыс обоих полов гонадоэктомировали в 2-месячном возрасте для уменьшения содержания половых гормонов. Спустя 4 недели всех животных, вне зависимости от пола, делили на 4 равные группы по 10 крыс в каждой, кроме групп СК8 и СЦ8, где было по 13 животных, учитывая высокую смертность при низком содержании кислорода. Одну группу самцов и самок на протяжении 14 последующих дней содержали в условиях вивария (21 % содержание кислорода при давлении 1 атм. – нормотензивный контроль). Остальных крыс в течение 2 недель ежедневно по 10 ч в сутки подвергали действию гипобарической гипоксии (ХПГГ) при содержании кислорода во вдыхаемом воздухе, равном 13 % (парциальное давление O₂ 103,7 мм рт. ст.), или 10 % (парциальное давление O₂ 78,2 мм рт. ст.), или 8 % (парциальное давление O₂ 63,5 мм рт. ст.) по сравнению с его содержанием при 21 % (пД O₂ 159 мм рт. ст. при атмосферном давлении 760 мм рт. ст., уровень моря). Содержание кислорода в гипобарической камере измерялось датчиком кислорода Клевер-В (НПП «Дельта», Россия). Таким образом, в эксперимент вступало 8 экспериментальных групп животных: самки – СК21, СК13, СК10, СК8 – и соответствующие группы самцов (СЦ). После

Систолическое давление в правом желудочке сердца у гонадэктомированных животных с ГЛГ разной степени тяжести, мм рт. ст. [7]

Systolic pressure in the right ventricle in gonadectomized rats under the intermittent hypoxia of different degree, mm Hg [7]

СЦ21 (n=8)	СЦ13 (n=9)	СЦ10 (n=6)	СЦ8 (n=5)	СК21 (n=9)	СК13 (n=9)	СК10 (n=6)	СК8 (n=4)
44,0±1,1	56,9±4,0*	56,1±1,5*. [@]	72,3±5,9*. ^{#, &}	43,9±2,8	56,4±3,0*	69,2±4,7*. [#]	68,8±6,6*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группами крыс, не подвергавшихся гипоксии (СК21 или СЦ21); [#] – $p < 0,05$ по сравнению с такой же группой 13 %; [@] – $p < 0,05$ по сравнению с группой СК10 %; [&] – $p < 0,05$ по сравнению с группой СЦ10 %. Тест Крускал – Уоллиса.

2-недельного прерывистого гипоксического воздействия животных брали в физиологический эксперимент, который проводили под уретановым наркозом (1,2 г/кг, 0,6 г/мл). В ходе гипоксического воздействия была зарегистрирована смертность животных, которая возрастала с уменьшением содержания кислорода во вдыхаемом воздухе. Гибель животных обычно происходит на 1-е или 2-е сутки после начала гипоксической экспозиции. В нашем случае гипоксия привела к незначительной гибели животных в группах СК13, СК10, СЦ13, СЦ10 (по 1 животному в каждой группе) и к существенной гибели в группах СК8 (9 животных) и СЦ8 (8 животных). Данные по числу животных, у которых было измерено систолическое давление в правом желудочке сердца (СПЖД), указаны в таблице, а по числу сосудов – на рис. 1; 2. Легочные сосуды – достаточно хрупкий объект для исследования, образцы легочных артерий брали у всех животных, доживших до конца эксперимента. Итоговые кривые на графиках отображают значения для тех сосудов, для которых сократительный ответ на серотонин и расширительный ответ на НП изменялись дозависимо.

Регистрация основных гемодинамических показателей подробно описана ранее [7]. В ходе физиологического эксперимента у наркотизированных животных проводили измерение СПЖД, системное артериальное давление (АД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) с использованием тензорных датчиков STATHAM (США) и модифицированной компьютерной программы «DAQ_2013». По величине СПЖД судили о степени развития ЛГ. После этого животных декапитировали и из левого легкого выделяли сегмент легочной артерии 3-го порядка.

Изучение реактивности изолированных сегментов легочных сосудов. Изолированный сегмент длиной 2–3 мм помещали в термостатируемую камеру и перфузировали с постоянным расходом 2 мл/мин при температуре 37–37,5 °С модифицированным раствором Кребса – Хенселя (состав в мМ: NaCl – 118, KCl – 4,7, CaCl₂ – 3,3, MgSO₄ – 2,4, KH₂PO₄ – 1,18, NaHCO₃ – 24,9, глюкоза – 5,05, pH = 7,4) в течение 30–40 мин для стабилизации. В перфузионной камере осуществлялся также проток раствора, омывающего сосуд снаружи. Наружный проток составлял 4 мл/мин. Изменение перфузионного давления при перфузии сосудов с постоянным расходом позволяет говорить о направленности изменения сосудистого сопротивления на вазоактивное вещество, т. е. о сужении или расширении сосудов. Таким образом,

о реакции сосуда на сосудосуживающий (серотонин) и сосудорасширяющие (нитропруссид натрия и эстрадиол) факторы судили по изменению перфузионного давления, которое регистрировали с помощью датчиков Statham (США) и программы «PowerGraph 3.0» для записи и анализа данных. В эксперименте использовали растворы серотонина ($3 \cdot 10^{-8}$ М – 10^{-5} М), нитропруссида натрия (НП) (10^{-9} М – 10^{-5} М) и эстрадиола (Е2) (10^{-7} М – 10^{-5} М) в возрастающих концентрациях. Нитропруссид натрия является донором NO и использовался в качестве фактора, вызывающего эндотелий-независимое расслабление сосуда, а эстрадиол – как агент, вызывающий эндотелийзависимое расширения артерий [5]. Результаты по расслаблению изолированных сосудов на НП и Е2 представлены как уменьшение сосудосуживающей реакции на серотонин в концентрации $3 \cdot 10^{-6}$ М в % (реакция на серотонин принималась за 100 %).

Материалы. В работе использовали следующие реактивы: серотонина гидрохлорид, 17β-эстрадиол (Sigma, США), уретан (MP Biomedicals, Франция), полиэтиленовые трубочки для изготовления катетеров PE10 и PE50 (ЗАО «Медсил», г. Мытищи), NaCl, KCl, MgSO₄ · 7H₂O, KH₂PO₄, NaHCO₃, D-глюкоза безводная, нитропруссид натрия 2-водный («Диа-М», Россия), CaCl₂ (раствор 10 %, ООО «Славянская аптека», Россия).

Статистический анализ данных проводили с использованием двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA и критерия Крускала – Уоллиса для независимых переменных из пакет программы «Statistica 8.0» (Statistica Inc., США) и «Prism6.0». Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Ранее мы показали, что у гонадэктомированных самцов и самок крыс происходит развитие легочной гипертонии при всех степенях используемой гипоксии (13 % O₂, 10 % O₂, 8 % O₂). Увеличивается как СПЖД, так и гипертрофия ПЖ. Оказалось интересным, что у СК оба показателя, свидетельствующие о развитии ГЛГ, достигают максимальных величин при 10 % O₂ во вдыхаемом воздухе, а у СЦ – при 8 % O₂, т. е. имеется пол-зависимая чувствительность к степени гипоксического воздействия при развитии ГЛГ (таблица) [7].

Учитывая тот факт, что одним из факторов патогенеза ГЛГ является изменение реактивности легочных сосудов к вазоактивным агентам, в настоящем исследовании мы изучали реакции изолированных сегментов легочных сосудов гонадэктомированных самок и

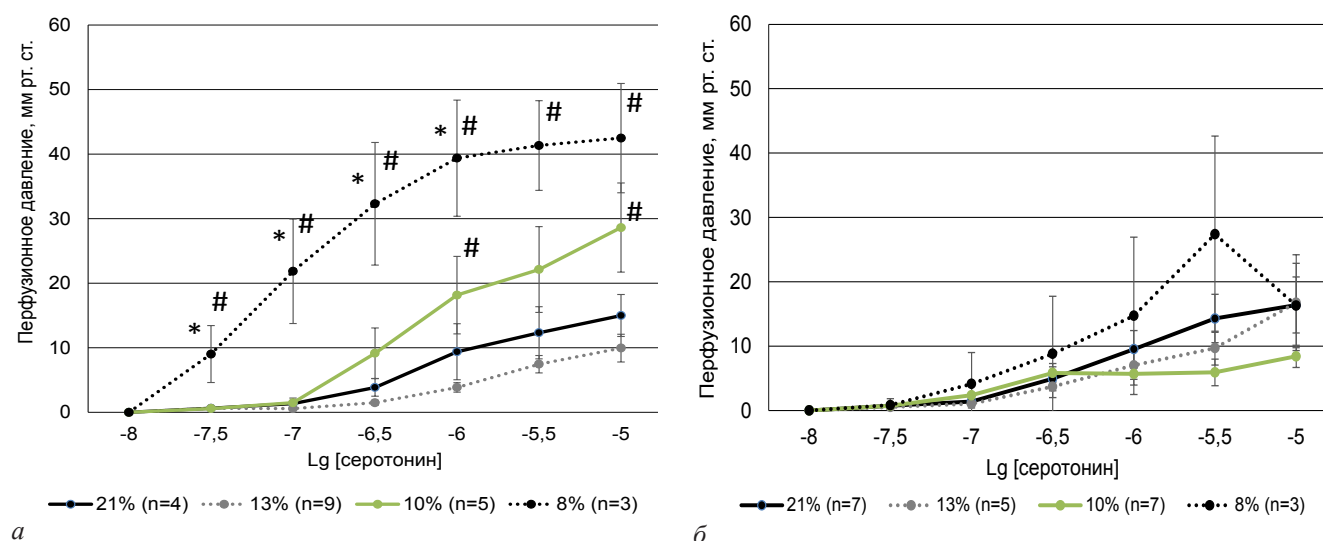


Рис. 1. Дозозависимое увеличение перфузионного давления в изолированных легочных артериях 3-го порядка гонадоэктомированных крыс (мм рт. ст.) в ответ на перфузию растворами серотонина (10^{-8} – 10^{-5} М): а – самки крысы; б – самцы крысы; * – $p < 0,05$ по сравнению с группой с 21 %; # – $p < 0,05$ по сравнению с группой с 13 %; & – $p < 0,05$ по сравнению с группой с 10 %; @ – $p < 0,05$ по сравнению с такой же группой самок крысы, тест Крускал – Уоллиса

Fig. 1. Dose-dependent increasing of perfusion pressure in isolated pulmonary arteries of the 3rd order of gonadectomized rats (mmHg) in response to perfusion with serotonin solutions (10^{-8} – 10^{-5} М): а – female; б – male; * – $p < 0.05$ compared to the group with 21 %; # – $p < 0.05$ compared to the group with 13 %; & – $p < 0.05$ compared to the group with 10 %; @ – $p < 0.05$ compared to the same group of female rats, Kruskal – Wallis test

самцов крыс с ГЛГ, возникающей при содержании кислорода 13 % O_2 , или 10 % O_2 , или 8 % O_2 во вдыхаемом воздухе, на сосудосуживающий и сосудорасширяющие вещества. В качестве сосудосуживающего фактора был выбран серотонин. Показано, что концентрация серотонина в плазме крови возрастает в ходе развития ГЛГ. Источником избыточного количества серотонина могут быть нейроэндокринные и нейроэпителиальные тельца, а также тромбоциты [9]. Согласно литературным данным [8, 9], серотонин является одним из главных суживающих факторов при развитии ЛГ, кроме того, он участвует в ремоделинге сосудистой стенки легочных сосудов. Известно, что суживающий эффект серотонина реализуется через активацию в основном 5HT_{1B}- и 5HT_{2B}-рецепторов [10] и цитохром 450-эпоксизависимую активацию TRP4-каналов [11].

На рис. 1 представлены дозозависимые кривые, показывающие возрастание перфузионного давления в изолированных сегментах легочных сосудов СК (рис. 1, а) и СЦ (рис. 1, б) крыс с ГЛГ в ответ на перфузию серотином в диапазоне концентраций от $3 \cdot 10^{-8}$ до 10^{-5} М. На рисунке видно, что в сосудах животных, находившихся под действием гипоксии с содержанием кислорода 13 % во вдыхаемом воздухе, суживающий дозоэффект легочных сосудов на серотонин не отличается от групп нормотензивного контроля (21 % O_2) ни у СЦ, ни у СК крыс (рис. 1). При этом у этих животных уже наблюдается статистически значимое увеличение систолического давления в правом желудочке сердца, что свидетельствует о развитии ГЛГ.

Таким образом, при содержании кислорода 13 % во вдыхаемом воздухе развитие ГЛГ у крыс не связано с изменением реактивности легочных сосудов как СК, так и СЦ, к серотонину.

При содержании кислорода во вдыхаемом воздухе 10 % были выявлены статистически значимые

различия в ответах сосудов на серотонин в диапазоне концентраций 10^{-6} – 10^{-5} М между самками и самцами. При концентрации серотонина 10^{-5} М увеличение перфузионного давления в сосудах самок составило $28,6 \pm 6,9$ мм рт. ст., а у самцов – $8,4 \pm 1,7$ мм рт. ст. ($p < 0,05$). Результаты по измерению СПЖД у этих животных показали, что у самок давление в правом желудочке сердца на 23 % выше (группа СК10), чем у самцов (СЦ10) (таблица), т. е. при действии хронической гипоксии 10 % O_2 у самок ГЛГ развивается в большей степени, чем у самцов. Этот эффект сопровождается возрастанием суживающих ответов легочных артерий самок на серотонин. Полученные данные позволяют предположить, что увеличенная реактивность артерий легких СК к серотонину является одним из факторов, который приводит к более тяжелому проявлению ГЛГ у самок по сравнению с самцами, учитывая, что концентрация циркулирующего серотонина в крови при ГЛГ увеличена [9].

Уменьшение содержания кислорода во вдыхаемом воздухе с 10 до 8 % O_2 привело к дальнейшему возрастанию перфузионного давления на серотонин как у самок, так и у самцов крыс. Максимальный ответ у самок составил $41,3 \pm 6,9$ мм рт. ст. ($3 \cdot 10^{-6}$ М), а у самцов – $27,4 \pm 15,2$ мм рт. ст. При этом величина СПЖД у самок не изменилась, а у самцов выросла на 18 %. Несмотря на достаточно большую величину изменений изучаемых параметров, разница между реакциями сосудов самок и самцов была недостоверна, так как при гипоксии 8 % O_2 во вдыхаемом воздухе наблюдалась высокая гибель животных и не у всех животных, вступивших в эксперимент, удалось взять сосуды. В ходе эксперимента среди самок погибло 69 % животных, а самцов – 61 %. Обсуждая полученные данные, можно сказать, что максимальное развитие ГЛГ у самок достигается уже при гипоксии 10 % O_2 и оно сопровождается увеличением реак-

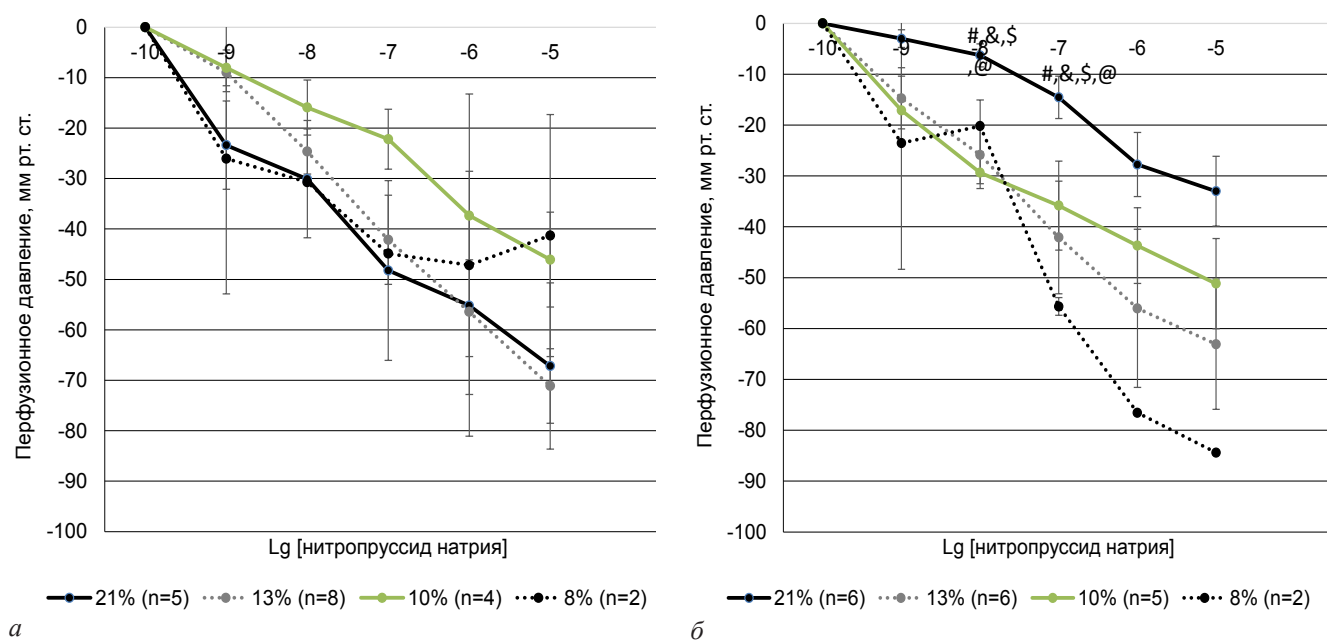


Рис. 2. Дозозависимое уменьшение перфузионного давления изолированной легочной артерии 3-го порядка гонадэктомированных крыс в ответ на перфузию растворами нитропруссид натрия в % от прироста давления на серотонин $3 \cdot 10^{-6}$ М: а – самки крыс; б – самцы крыс; * – $p < 0,05$ по сравнению с группой с 21 %; # – $p < 0,05$ по сравнению с группой с 13 %; & – $p < 0,05$ по сравнению с группой с 10 %; @ – $p < 0,05$ по сравнению с такой же группой самок крыс, тест Крускал – Уоллиса

Fig. 2. Dose-dependent decreasing of the perfusion pressure in the isolated pulmonary artery of the 3rd order of gonadectomized rats in response to perfusion with sodium nitroprusside solutions as a % of the increasing by serotonin pressure of $3 \cdot 10^{-6}$ M: а – female rats; б – male rats; * – $p < 0.05$ compared to the group with 21 %; # – $p < 0.05$ compared to the group with 13 %; & – $p < 0.05$ compared to the group with 10 %; @ – $p < 0.05$ compared to the same group of female rats, Kruskal – Wallis test

тивности легочных сосудов к серотонину, но дальнейшее увеличение реактивности к сосудосуживающему фактору не сказывается на величине СПЖД, но приводит к большой гибели животных. У самцов максимальная величина СПЖД наблюдается при 8 % O_2 . Однако статистически значимое увеличение перфузионного давления на серотонин было показано только при одной концентрации серотонина – $3 \cdot 10^{-6}$ М. Таким образом, развитие ГЛГ у СК, в отличие от СЦ, сопровождается большим возрастанием суживающих реакций на серотонин. Эффект увеличивается с возрастанием степени гипоксии. Реакция может быть опосредована увеличенной экспрессией рецепторов 5-НТ1В в гладкой мышце легочных сосудов представителей женского пола [12]. Настоящие данные можно рассматривать как аргумент в пользу большего участия серотонина в развитии ГЛГ у СК по сравнению с СЦ.

Хорошо известно, что хроническая гипоксия влияет на механизмы не только сокращения гладких мышц, но и их расслабления. Основные расширительные механизмы обусловлены увеличением содержания циклических нуклеотидов цАМФ и цГМФ и запускаемыми ими изменениями метаболизма гладких мышц сосудов и проницаемости ионных каналов. Особый интерес представляет собой растворимая гуанилатциклаза-цГМФ-зависимый путь (рГЦ-цГМФ), так как с его помощью реализуется влияние оксида азота (NO), одного из основных сосудорасширительных факторов, синтезируемых эндотелием в норме. По поводу влияния хронической гипоксии на этот механизм расслабления в литературе имеются противоречивые данные, что связано, по-видимому, с использованием разных эксперимен-

тальных моделей. Но большинство исследователей приходят к заключению, что как активность рГЦ, так и экспрессия ее гена находятся под регулирующим влиянием NO, синтезируемым в эндотелии сосудов [13]. Имеются данные о том, что пол может влиять на данное взаимодействие. Так, было показано, что у самок хроническая гипоксия уменьшает NO-зависимое расширение, увеличивая активность фосфодиэстеразы 5-го типа [14].

Мы изучали дозозависимые расширительные ответы легочных сосудов гонадэктомированных СЦ и СК на донор NO нитропруссид натрия (НП) в концентрации от 10^{-9} до 10^{-5} М (рис. 2).

Хорошо видно, что у гонадэктомированных крыс, не подвергавшихся воздействию гипоксии, наблюдается статистически значимое различие в расширительной реакции на нитропруссид натрия в зависимости от пола. В диапазоне концентраций НП от 10^{-8} до 10^{-7} М у самцов расширительный ответ на донор NO существенно ниже. Так, при концентрации 10^{-7} М уменьшение перфузионного давления в сосудах самцов в 3,5 раза меньше, чем у самок. Однако это различие не сказывается на величине СПЖД у нормотензивных животных (группы СЦ21 и СК21, таблица). Влияние прерывистой хронической гипоксии любой интенсивности приводит к возрастанию ответа на НП в сосудах гонадэктомированных самцов крыс. Причем реакция уменьшения перфузионного давления в сосудах самцов и самок при гипоксии в 13 % O_2 и 10 % O_2 не отличается. Таким образом, наши результаты свидетельствуют о том, что хроническая гипоксия в экспериментах на крысах стимулирует активность рГЦ-цГМФ-пути расширения легочных сосудов у самцов. Эффект не зависит от

тяжести гипоксического воздействия. Полученные данные подтверждают ранее описанный стимулирующий эффект хронической гипоксии на активность рГЦ-цГМФ-пути расслабления гладкой мышцы сосуда [15]. Однако, как уже было сказано выше, активность рГЦ находится под регулирующим влиянием NO, который синтезируется в эндотелии при активации eNOS. Согласно литературным данным [13] при хронической гипоксии активность eNOS и синтез NO могут изменяться, что может приводить к уменьшению активности рГЦ и синтеза цГМФ и процессов расслабления. Учитывая, что при многих заболеваниях сердечно-сосудистой системы изменяется синтетическая функция эндотелия в сторону уменьшения синтеза NO, в настоящее время предлагается использовать активаторы рГЦ как способ увеличения расширительного резерва сосудистой системы через активацию рГЦ-цГМФ-пути расширения, в частности, при легочной гипертензии [16, 17].

Помимо изучения реактивности сосудов на эндотелий-независимый донор NO, мы проводили исследование реакции изолированных легочных артерий гонадоэктомированных самок и самцов как под действием гипоксии разной степени тяжести, так и без нее, на эндотелийзависимый расширительный фактор – 17 β -эстрадиол. Этот агент был выбран в связи с тем, что женский половой гормон способен активировать мембранные рецепторы эндотелия сосудов, вызывая синтез NO и расширение сосудов, что приводит к уменьшению сосудистого сопротивления и артериального давления [5]. Мы выяснили, что максимальное уменьшение перфузионного давления на эстрадиол в нормотензивных СК статистически значимо не отличалось от реакции сосудов СЦ (группы СК21 vs СЦ21, 64,9 \pm 11,0 мм рт. ст. vs 48,2 \pm 19,3 мм рт. ст.). Не было обнаружено статистически значимых различий между ответами сосудов разных экспериментальных групп, подвергавшихся воздействию разной степени гипоксии, и между группами СЦ и СК. Эти данные не противоречат результатам, имеющимся в литературе, где указывается, что активность eNOS в условиях гипоксии может как уменьшаться, так и увеличиваться, и, кроме NO, в условиях гипоксии активация eNOS может приводить к синтезу пероксинитрита и других свободных радикалов, влияющих на состояние сократительного тонуса гладких мышц сосудов [13, 18].

Заключение

В настоящем исследовании было показано, что изменение реактивности легочных сосудов к суживающим и расширяющим факторам имеет ползависимое проявление и зависит от степени гипоксии. У СК суживающая реакция легочных сосудов на серотонин увеличивалась при возрастании степени гипоксии в значительно большей степени, чем у СЦ, и, в отличие от них, соответствовала степени развития ГЛГ. Эти данные позволяют говорить о том, что серотонин в большей степени принимает участие в увеличении сосудистого сопротивления и степени ГЛГ у СК по сравнению с СЦ. Интересной оказалась реакция легочных сосудов СЦ на донор NO ни-

тропруссид натрия. У нормотензивных СЦ величина эндотелий-независимой расширительной реакции в ответ на перфузию растворами нитропруссид натрия была существенно ниже, чем у СК. Развитие ГЛГ при гипоксии любой степени тяжести сопровождалось увеличением расширительных ответов на донор NO у СЦ крыс, но не у СК. При этом различий в эндотелийзависимой расширительной реакции в ответ на эстрадиол выявлено не было. Сохранение высокой реактивности рГЦ-цГМФ-пути расширения к экзогенному NO при развитии ГЛГ у самцов представляет интерес с точки зрения медикаментозного применения активаторов этого механизма расслабления гладких мышц сосудов.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Литература / References

1. Weitzenblum E, Chaouat A, Canuet M, Kessler R. Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease and interstitial lung diseases // *Semin Respir Crit Care Med*. 2009;30(4):458–470. Doi: 10.1055/s-0029-1233315.
2. Voelkel NF, Mizuno S, Bogaard HJ. The role of hypoxia in pulmonary vascular diseases: a perspective // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2013;304(7):L457–465. Doi: 10.1152/ajplung.00335.2012.
3. Esteve JM, Launay JM, Kellermann O, Maroteaux L. Functions of serotonin in hypoxic pulmonary vascular remodeling // *Cell Biochem Biophys*. 2007;47(1):33–44. Doi: 10.1385/cbb.47.1.33.
4. Mair KM, Johansen AK, Wright AF, Wallace E, MacLean MR. Pulmonary arterial hypertension: basis of sex differences in incidence and treatment response // *Br J Pharmacol*. 2014;171(3):567–79. Doi: 10.1111/bph.12281.
5. Foderaro A, Ventetulo CE. Pulmonary Arterial Hypertension and the Sex Hormone Paradox // *Curr Hypertens Rep*. 2016;18(11):84. Doi: 10.1007/s11906-016-0689-7.
6. Campean IA, Lang IM. Treating pulmonary hypertension in the elderly // *Expert Opin Pharmacother*. 2020;21(10):1193–1200. Doi: 10.1080/14656566.2020.1739270.
7. Панькова Н. В., Артемьева М. М., Попова А. С. Влияние степени гипоксии, пола животного и 17 β -эстрадиола на проявление гипоксической формы легочной гипертензии // *Рос. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова*. – 2019. – Т. 105. – № 2. – С. 258–266. [Pankova NV, Artemieva MM, Popova AS, Andreev-Andreevskiy AA, Medvedeva NA. Effect of hypoxia, sex and 17 β -estradiol on the manifestation of the hypoxic pulmonary hypertension. *Russian Journal of Physiology*. 2019;105(2):258–266. (In Russ.)]. Doi: 10.1134/S0869813919020122.
8. Shimoda LA, Laurie SS. Vascular remodeling in pulmonary hypertension // *J Mol Med (Berl)*. 2013;91(3):297–309. Doi: 10.1007/s00109-013-0998-0.
9. Hervé P, Launay JM, Scrobohaci ML, Brenot F, Simonneau G, Petitpretz P, Poubau P, Cerrina J, Duroux P, Drouet L. Increased plasma serotonin in primary pulmonary hypertension // *Am J Med*. 1995;99(3):249–254. Doi: 10.1016/s0002-9343(99)80156-9.
10. MacLean MR, Morecroft I. Increased contractile response to 5-hydroxytryptamine1-receptor stimulation in pulmonary arteries from chronic hypoxic rats: role of pharmacological synergy // *British Journal of Pharmacology*. 2001;134(3):614–620. Doi: 10.1038/sj.bjp.0704273.

11. Xia Y, Xia L, Jin Z, Jin R, Paudel O, Sham JSK. Cytochrome P450 Epoxygenase-Dependent Activation of TRPV4 Channel Participates in Enhanced Serotonin-Induced Pulmonary Vasoconstriction in Chronic Hypoxic Pulmonary Hypertension // *Anal Cell Pathol (Amst)*. 2020;8927381. Doi: 10.1155/2020/8927381.

12. Wallace E, Morrell NW, Yang XD, Long L, Stevens H, Nilsen M, Loughlin L, Mair KM, Baker AH, Maclean MR. A sex-specific microRNA-96/5-hydroxytryptamine 1B axis influences development of pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;(191):1432–1442. Doi: 10.1164/rccm.201412-2148oc.

13. Li D, Laubach VE, Johns RA. Upregulation of lung soluble guanylate cyclase during chronic hypoxia is prevented by deletion of eNOS. // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001;281(2):L369–L376. Doi: 10.1152/ajplung.2001.281.2.L369.

14. Jernigan NL, Resta TC. Chronic hypoxia attenuates cGMP-dependent pulmonary vasodilation // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2002;282(6):L1366–L1375. Doi: 10.1152/ajplung.00273.2001.

15. Li D, Zhou N, Johns RA. Soluble guanylate cyclase gene expression and localization in the rat lung after exposure to chronic hypoxia // *Am J Physiol*. 1999;277(4):L841–L847. Doi: 10.1152/ajplung.1999.277.4.L841.

16. Грацианская С. Е., Валиева З. С., Мартынюк Т. В. Достижения современной специфической терапии легочной артериальной и хронической тромбоэмболической легочной гипертензии: фокус на стимулятор растворимой гуанилатциклаз риоцигуат // *Терапевт. архив*. – 2020. – Т. 92, № 9. – С. 77–84. [Gratsianskaya SE, Valieva ZS, Martynyuk TV. The achievements of the modern specific therapy of pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension: focus on the stimulator of soluble guanylate cyclase riociguat. *Ter Arkh*. 2020;92(9):77–84. (In Russ.)]. Doi: 10.26442/00403660.2020.09.000717.

17. Mandras SA, Mehta HS, Vaidya A. Pulmonary Hypertension: A Brief Guide for Clinicians // *Mayo Clin Proc*. 2020;95(9):1978–1988. Doi: 10.1016/j.mayocp.2020.04.039.

18. Yvette N. Martin YN, Pabelick ChM. Sex differences in the pulmonary circulation: implications for pulmonary hypertension // *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;(306):H1253–H1264. Doi: 10.1152/ajpheart.00857.2013.

Информация об авторах

Панькова Надежда Владимировна – канд. биол. наук, научный сотрудник, Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия, e-mail: nadezhda.pankova.nnov@gmail.com.

Артемяева Марина Михайловна – канд. биол. наук, научный сотрудник, кафедра физиологии человека и животных, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия, e-mail: marinka.artemieva@gmail.com.

Медведева Наталия Александровна – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, кафедра физиологии человека и животных, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия, e-mail: namedved@gmail.com.

Authors information

Pankova Nadezhda V. – PHD, researcher, Institute of Biomedical Academy of Sciences, Moscow, Russia, e-mail: nadezhda.pankova.nnov@gmail.com.

Artemieva Marina M. – PHD, researcher, Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Department of Human and Animal Physiology, Moscow, Russia, e-mail: marinka.artemieva@gmail.com.

Medvedev Natalia A. – PHD, professor, leading researcher, Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Department of Human and Animal Physiology, Moscow, Russia, e-mail: namedved@gmail.com.