

УДК 612.133

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДНОГО ГЕРОПРОТЕКТОРА НА ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОДИНАМИКИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СОСУДОВ ЖИВОТНЫХ

¹Евлахов В.И., ¹Поясов И.З., ¹Кудряшов Ю.А., ¹Цвященко Т.Ю.,
²Рыжак А.П., ²Лютлов Р.В.

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН,
Санкт-Петербург, e-mail: viespbbru@mail.ru;

²Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии,
Санкт-Петербург, e-mail: galina@gerontology.ru

Возрастное снижение функциональной активности сосудистой стенки лежит в основе развития патологических состояний, ассоциированных с возрастом. Поиск средств для повышения резервных возможностей сосудистой системы является актуальной задачей геронтологии. В экспериментах с перфузией постоянным объемом крови гемодинамически изолированных задней конечности и тонкой кишки у кошек изучали направление и величину сдвигов органного интегрального сосудистого сопротивления, которое оценивали по сдвигам перфузионного давления при применении пептидного биорегулятора сосудов Славинорма. При непосредственном измерении сосудистого сопротивления скелетных мышц задней конечности и тонкой кишки кошек установлено вазоконстрикторное действие Славинорма, выразившееся в дозозависимом увеличении органного интегрального сосудистого сопротивления. При этом латентный период сосудистых реакций на Славинорм был отставлен во времени – латентный период составлял 15–30 с (при введении катехоламинов – 2–5 с). Изучали также возможное влияние Славинорма на реактивность органных артериальных сосудов к катехоламинам. Установлено, что реактивность артериальных сосудов скелетных мышц задней конечности и тонкой кишки животных к катехоламинам после применения Славинорма в дозе 250 мкг повышалась, в дозах 1250 и 5000 мкг – снижалась. Эти результаты свидетельствуют об опосредованном дозозависимом действии Славинорма на гладкие мышцы артериальных сосудов, за счет чего достигается мягкое физиологическое воздействие на сосудистую стенку. Такой механизм действия пептидного биорегулятора сосудов Славинорма является оптимальным при применении препарата у людей пожилого и старческого возраста с целью коррекции возрастных нарушений сосудистой системы.

Ключевые слова: возрастная патология сосудов, пептидный биорегулятор сосудов, органная гемодинамика, перфузионное давление, вазоконстрикторное действие

PEPTIDE GEROPROTECTOR INFLUENCE ON HEMODYNAMIC PARAMETERS OF ANIMALS' PERIPHERAL BLOOD VESSELS

¹Evlakhov V.I., ¹Poyasov I.Z., ¹Kudryashov Y.A., ¹Tsvyaschenko T.Y.,
²Ryzhak A.P., ²Lyutov R.V.

¹FGBU «Research Institute of Experimental Medicine» NWB RAMS, Saint
Petersburg, e-mail: viespbbru@mail.ru;

²Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint Petersburg,
e-mail: galina@gerontology.ru

Age-related reduction in the functional activity of the vascular wall is the basis of pathological conditions development associated with aging. Finding the resources to improve the reserve capacity of the vascular system is an urgent task of gerontology. In experiments with perfusion of hemodynamically isolated hind limb and small intestine of cats with constant volume of blood the direction and magnitude of shifts integral organ vascular resistance was studied. This parameter was evaluated by perfusion pressure shifts during the application of vessels peptide bioregulator Slavinorm. In the direct measurement of vascular resistance of the hind limbs' skeletal muscles and in the small intestine of cats the vasoconstriction effect of Slavinorm was established, which was expressed in a dose-dependent increase in the integral organ vascular resistance. In this case the latent period of vascular responses to Slavinorm was postponed at the time – the latent period was 15–30 s (with the introduction of catecholamines – 5,2 s). Also the possible impact of Slavinorm on organ arterial vascular reactivity to catecholamines was studied. It was found that the reactivity of the arterial vessels of hind limb's skeletal muscle and small intestine in animals to catecholamines after Slavinorm application in a dose of 250 µg was increased. At doses of 1250 and 5000 µg it was decreased. These results indicate mediated dose-dependent effect of Slavinorm on the smooth muscle of blood vessels, thus a mild physiological impact on the vascular wall is achieving. This mechanism of vessels peptide bioregulator Slavinorm action is optimal when drug is used in elderly and senile patients to correct age-related disorders of the vascular system.

Keywords: age related vascular pathology, vessels peptide bioregulator, organ hemodynamic, perfusion pressure, vasoconstricting action

Кровеносные сосуды выполняют в организме многообразные функции, что связано как с их структурными особенностями, так и с физиологическим назначением [1, 6]. Объективная оценка сопряженных реак-

ций кровеносных сосудов разного диаметра и функционального назначения требует синхронной регистрации ряда показателей (артериальное давление, капиллярное давление и кровоток и др.), характеризующих

последовательно расположенные сегменты сосудистого русла в условиях как устойчивого, так и переходного режимов его регуляции [2]. Решение этой задачи может быть достигнуто только с применением методики перфузии изолированного в гемодинамическом отношении органа в режиме «постоянного расхода» или «постоянного давления» [5]. Несмотря на длительную историю развития методов перфузии, этот подход является по существу единственным для оценки физиологических параметров микроциркуляторного русла, в частности, коэффициента капиллярной фильтрации, пре- и посткапиллярного сопротивления, давления крови в капиллярах как в норме, так и при действии фармакологических препаратов [8, 9, 10].

В лаборатории кровообращения Отдела физиологии висцеральных систем НИИ экспериментальной медицины РАМН исследования проводятся с использованием специально разработанных методик, обеспечивающих возможность проведения высокоточных комплексных многоплановых исследований системной и органной гемодинамики даже при малых изменениях изучаемых гемодинамических параметров в ответ на применение раздражителей различной модальности. Именно такие методики позволяют изучать механизмы ангиопротекторного действия вазоактивных веществ при физиологическом изменении гемодинамических параметров, например, при возрастном снижении функциональной активности сосудистой стенки.

В Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии разработана технология выделения из различных органов и тканей животных полипептидов. В проведенных ранее исследованиях установлено, что созданные на основе данной технологии препараты обладают тканеспецифическим действием, восстанавливая метаболизм в клетках тех тканей, из которых они были выделены [7]. В частности, создан препарат «Славином» на основе пептидов сосудистой стенки животных, который обладает антиатеросклеротическим и антиаритмическим действием в экспериментальных моделях на животных [3, 4]. Актуальность изучения патогенетических механизмов ангиопротекторного действия пептидного биорегулятора Славинома продиктована важной ролью сосудов в формировании ассоциированной с возрастом патологии. В соответствии с этим целью настоящей работы явилось изучение механизмов ангиопротекторного действия пептидного биорегулятора сосудов Славинома на показатели гемодинамики периферических сосудов экспериментальных животных.

Материалы и методы исследования

Все экспериментальные исследования на животных проводили в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki) 1964 г. с изменениями от 1975, 1983, 1989, 2000 гг. с использованием ранее разработанных нами методических подходов [5].

Исследование влияния пептидного биорегулятора сосудов Славинома на показатели органной гемодинамики скелетных мышц голени и тонкой кишки были проведены в 2 сериях на 8 кошках с массой тела 4,0–5,0 кг под нембуталовым наркозом (35–40 мг/кг, внутримышечно) при естественном дыхании. В каждой серии экспериментов у животных вначале осуществляли катетеризацию левой бедренной вены и для предотвращения тромбообразования в катетере датчика давления им внутривенно вводили гепарин в дозе 1000 ед./кг.

Заднюю правую конечность или тонкую кишку животного изолировали в гемодинамическом отношении с сохранением целостности нервов. Осуществляли перфузию сосудистого русла одного из исследуемых регионов собственной кровью животного с помощью канала насоса постоянной производительности (производства экспериментально-производственных мастерских ГУ НИИЭМ РАМН). Забор крови осуществляли этим же каналом насоса из правой бедренной артерии. При перфузии артерий тонкой кишки объем составлял 20–30 мл/мин, при перфузии артерий задней конечности – 13–15 мл/мин с частотой пульсации 134 имп./мин, при амплитуде пульсации 30–40 мм рт. ст. Перфузионное давление устанавливали на уровне 100–120 мм рт. ст. Данные характеристики перфузии приближены к физиологическим условиям. Примененная в экспериментах методика артериальной резистографии позволяет с высокой точностью регистрировать изменения сопротивления кровотоку при действии гуморальных стимулов на гладкие мышцы сосудов. Эти изменения учитываются электроманометрически по сдвигам перфузионного давления (в мм ртутного столба либо в процентах от исходного значения), измеренного в артериальном сосудистом русле.

Температуру крови, поступающей в сосуды указанных регионов из экстракорпоральной системы ($37 \pm 0,2^\circ\text{C}$), устанавливали близкой к температуре организма с помощью специального теплообменника и ультратермостата (UT-15, Германия). О сдвигах интегрального сосудистого сопротивления в перфузируемом органе судили по изменениям перфузионного давления. Определение перфузионного и артериального давления производили электроманометрами с механотронными датчиками (производства экспериментально-производственных мастерских ГУ НИИЭМ РАМН) и регистрировали на чернильнопишущем быстродействующем приборе Н-327-8.

В первой серии экспериментов (4 кошки) оценивали сдвиги перфузионного давления сосудов правой задней конечности кошки в ответ на внутриартериальное введение Славинома, во второй серии (4 кошки) – изучали характер и величину изменения перфузионного давления сосудов тонкой кишки при применении этого же препарата.

Славином применяли в дозах 25 мкг (в 0,1 мл раствора декстрана), 50 мкг (в 0,2 мл раствора декстрана), 75 мкг (в 0,3 мл раствора декстрана), 100 мкг

(в 0,4 мл раствора декстрана), 1250 мкг (в 0,5 мл физиологического раствора) и 5000 мкг (в 2 мл физиологического раствора). В каждом эксперименте в качестве контроля возможной реакции сосудов на изменения объема перфузии в магистральную артерию органов болюсно вводили 0,1 мл 6% раствора декстрана (полиглокин). Статистическую обработку результатов проводили на IBM PC с использованием t-критерия Стьюдента и пакета стандартных (Excel, MicroSoft) программ.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты проведенного исследования показали, что при введении Славинорма в артериальное русло перфузируемых органов – задней конечности и тонкой кишки – по мере возрастания дозы препарата происходило повышение сопротивления кровотоку в обоих органах. Следует, однако, отметить, что это повышение было незначительным, статистически не достоверным. Несмотря на то, что в исследованиях были применены большие дозы препарата (от 25 до 5000 мкг), величины реакций со-

судов не превышали 15–20% от исходного уровня перфузионного давления. На основании этого можно сделать заключение о том, что Славинорм не обладает высокой степенью вазоактивности по сравнению, например, с действием на гладкие мышцы сосудов катехоламинов. Тем не менее дозозависимый эффект Славинорма на перфузионное давление указывает на возможность влияния этого препарата на гладкие мышцы органных артериальных сосудов.

При введении Славинорма в артериальное русло этих органов изменялось перфузионное давление и латентные периоды сосудистых реакций. В экспериментах на артериях задней конечности при применении Славинорма в дозах 25, 50, 75 и 100 мкг перфузионное давление повышалось, а латентный период снижался по мере возрастания дозы (табл. 1). В опытах на препарате артерий тонкой кишки перфузионное давление также возрастало с повышением дозы, при этом латентный период реакций незначительно уменьшался.

Таблица 1

Изменение перфузионного давления в артериях задней конечности и тонкой кишки животных при применении Славинорма

Показатель	Доза препарата			
	25 мкг	50 мкг	75 мкг	100 мкг
Прирост перфузионного давления в артериях задней конечности, мм рт. ст.	9 ± 3*	12 ± 4*	15 ± 3**	17 ± 4**
Латентный период, с	30 ± 5	28 ± 6	22 ± 5	17 ± 4
Прирост перфузионного давления в артериях тонкой кишки, мм рт. ст.	12 ± 3**	15 ± 6*	18 ± 4**	23 ± 6**
Латентный период, с	33 ± 6	27 ± 5	26 ± 3	28 ± 5

Примечание: латентный период – время от начала применения препарата до начала реакции сосудов, указан в секундах. Изменения показателей представлены в виде $M \pm m$; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ по сравнению с исходным показателем.

Результаты этих экспериментов показали, что Славинорм в дозах 25, 50, 75, 100 мкг вызывал дозозависимое увеличение органных интегрального сосудистого сопротивления. Его прирост в скелетных мышцах задней конечности составлял от 10 до 17 мм рт. ст., а в тонкой кишке – от 12 до 25 мм рт. ст. Латентные периоды проявления сосудистых реакций составляли 10–30 с для скелетной мускулатуры в зависимости от дозы препарата, действующего на гладкие мышцы артерий, и были практически постоянными в опытах на тонкой кишке, составляя 27–30 с.

Вместе с тем исследования показали, что латентный период сосудистых реакций на Славинорм был отставлен во времени, то есть латентный период составлял 15–30 с. Эти результаты позволяют предположить,

что Славинорм не обладает прямым вазоактивным действием на гладкие мышцы артериальных сосудов по сравнению с катехоламинами, которые вызывают констрикторные реакции органных артериальных сосудов с латентным периодом 2–5 с [2]. Можно полагать, что повышение перфузионного давления в ответ на применение пептидного биорегулятора сосудов было обусловлено его косвенным влиянием на гладкие мышцы.

В опытах с перфузией задней конечности и тонкой кишки у животных изучали возможное влияние Славинорма на реактивность органных артериальных сосудов к катехоламинам. В табл. 2 представлены изменения перфузионного давления в артериях задней конечности и тонкой кишки у кошек при применении норадреналина

(10 мкг/кг) на фоне введения различных доз Славинорма. В опытах на задней конечности было отмечено повышение перфузионного давления на 75 ± 18 мм рт. ст. после введения Славинорма в дозах 25, 50, 75, и 100 мкг (суммарная доза 250 мкг). Этот прирост был более выраженным по сравнению с таковым в ответ на применение норадреналина у интактных животных, когда перфузионное давление повышалось на 60 ± 17 мм рт. ст. Некоторое увеличение прироста перфузионного давления по

сравнению с его повышением у интактных животных было отмечено также и в случае применения норадреналина на фоне введения Славинорма в дозе 1250 мкг (соответственно 73 ± 19 и 60 ± 17 мм рт. ст.). В случае же введения Славинорма в большой дозе (5000 мкг) повышение перфузионного давления в ответ на применение норадреналина было менее выраженным, чем у интактных животных и составляло 58 ± 18 мм рт. ст. Однако выявленные отличия не были статистически достоверными.

Таблица 2

Изменение перфузионного давления в артериях задней конечности и тонкой кишки животных при применении норадреналина (10 мкг/кг) в контроле и после введения Славинорма

Доза препарата	Контроль (норадреналин 10 мкг/кг)	250 мкг	1250 мкг	5000 мкг
Перфузионное давление в артериях задней конечности, мм рт. ст.	60 ± 17	75 ± 18	73 ± 19	59 ± 18
Перфузионное давление в артериях тонкой кишки, мм рт. ст.	51 ± 9	56 ± 11	48 ± 21	-

Пр и м е ч а н и е . Изменения показателей представлены в виде $M \pm m$.

Такая же закономерность отмечалась и в экспериментах с перфузией сосуда тонкой кишки. На фоне применения Славинорма в суммарной дозе 250 мкг перфузионное давление в ответ на применение норадреналина повышалось на 56 ± 11 мм рт. ст., т.е. в несколько большей степени по сравнению с его сдвигами при контрольном введении норадреналина интактным животным (51 ± 9 мм рт. ст.). В условиях же применения Славинорма в дозе 1250 мкг перфузионное давление при применении норадреналина возрастало на 48 ± 21 мм рт. ст., т.е. в меньшей степени, чем у интактных животных. Однако отмеченные различия не были статистически достоверными.

Таким образом, на основании результатов этих исследований можно сделать вывод о том, что реактивность артериальных сосудов скелетных мышц задней конечности и тонкой кишки животных к катехоламинам после применения Славинорма в дозе 250 мкг повышалась. В случае же применения Славинорма в дозах 1250 и 5000 мкг реактивность органических артериальных сосудов к катехоламинам уменьшалась.

Анализ относительных изменений перфузионного давления при применении норадреналина у интактных животных и на фоне введения пептидного геропротектора сосудов подтвердил эти выводы. В проведенном анализе прирост перфузионного давления в ответ на применение норадре-

налина у интактных животных принимался за исходный «нулевой» уровень. При применении норадреналина в условиях введения Славинорма в дозах 250 и 1250 мкг прирост перфузионного давления по сравнению с исходным увеличением у интактных животных составлял соответственно 29 ± 6 и 24 ± 3 %. Однако после введения Славинорма в дозе 5000 мкг было отмечено уменьшение на -8 ± 5 % прироста перфузионного давления в ответ на применение норадреналина по сравнению с таковым у интактных животных.

На препарате артерий тонкой кишки были получены следующие результаты: на фоне введения Славинорма в суммарной дозе 250 мкг прессорные сдвиги перфузионного давления в ответ на применение норадреналина были на 9 ± 5 % больше, чем таковые у интактных животных. В случае же применения норадреналина в условиях введения Славинорма в дозе 1250 мкг наблюдалось уменьшение на -6 ± 3 % прессорных сдвигов перфузионного давления по сравнению с интактными животными ($p > 0,05$).

Представленные экспериментальные данные позволяют сделать вывод о том, что реактивность органических артериальных сосудов к катехоламинам возрастает в случае применения Славинорма в дозах 250 и 1250 мкг и уменьшается в условиях применения препарата в большой дозе (5000 мкг). Следовательно, результаты

экспериментов с перфузией органного сосудистого русла подтвердили предположение о блокирующем влиянии Славинорма на констрикторное сосудистое действие норадреналина.

Это является важным свойством пептидного геропротектора сосудов Славинорма, поскольку обуславливает мягкое физиологическое воздействие на клетки сосудистой стенки, в том числе и при воздействии экстремальных факторов. Выявленный механизм регулирующего действия Славинорма на функциональную активность клеток сосудистой стенки лежит в основе применения препарата в качестве лекарственного средства для лечения пациентов пожилого и старческого возраста, страдающих заболеваниями, обусловленными возрастным снижением резервных возможностей сосудистой системы.

Список литературы

1. Джонсон П. Периферическое кровообращение: пер. с англ. – М.: Медицина, 1982. – 440 с.
2. Интеграция сосудистых функций: сб. научн. тр.; под ред. Б.И. Ткаченко. – Ленинград, 1984. – 157 с.
3. Антиатеросклеротическое действие пептидного геропротектора / А.П. Рыжак, Б.И. Кузник, В.Н. Рутковская, Г.А. Рыжак, Ю.С. Титков // Успехи геронтологии. – 2012. – Т.25, № 1. – С. 139–142.
4. Антиаритмическое действие природного пептидного геропротектора / А.П. Рыжак, Б.И. Кузник, В.Н. Рутковская, Г.А. Рыжак, Ю.С. Титков // Успехи геронтологии. – 2012. – Т. 25, № 2. – С. 356–359
5. Ткаченко Б.И., Евлахов В.И., Поясов И.З. Соотношение изменений давления в предсердиях и показателей системной гемодинамики при применении катехоламинов // Российский физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2005. – Т.91, № 6. – С. 625–635.
6. Ткаченко Б.И., Поленов С.А. Сосудистый тонус и его местная регуляция. // Болезни сердца и сосудов: Руководство для врачей. – М.: Медицина. 1992. – Т.1. – Гл.1. – С. 5–30.
7. Хавинсон В.Х. Тканеспецифическое действие пептидов // Биол. эксперим. биол. – 2001. – Т. 132, № 8. – С. 228–229
8. Lehmann C., Meissner K., Knock A., Diedrich S., Pavlovic D., Grundling M., Usichenko T., Wendt M., Birnbaum J. Activated protein C improves intestinal microcirculation in experimental endotoxaemia in the rat. // Crit. Care. – 2006. – Vol. 10, № 6. – P. R157–R165.
9. Lundblad C., Bentzer P., Grande P.O. The permeability-reducing effects of prostacyclin and inhibition of Rho kinase do not counteract endotoxin-induced increase in permeability in cat skeletal muscle // Microvasc. Res. – 2004. – Vol. 68, № 3. – P. 286–294.

10. Persson J., Ekelund U., Grande P.O. Nitric oxide and prostacyclin play a role in the regulation of microvascular protein and hydraulic permeability in cat skeletal muscle // Microcirculation. – 2003. – Vol. 10, № 2. – P. 233–243.

References

1. Dzhonson P. Perifericheskoe krovoobraschenie. Per. s angl., M., Meditsina, 1982. 440 p.
2. Integratsiy sosudistykh funktsiy: Sb. nauchn. tr. – Red. B.I. Tkachenko. Leningrad, 1984. 157 p.
3. Ryzhak A.P., Kuznik B.I., Rutkovskaya V.N., Ryzhak G.A. Antiateroskleroticheskoe deystvie peptidnogo geroprotektora // Uspekhi gerontologii. 2012. T.25, no. 1. pp. 139–142.
4. Ryzhak A.P., Kuznik B.I., Rutkovskaya V.N., Ryzhak G.A., Titkov Yu.S. Antiaritmicheskoe deystvie prirodnogo peptidnogo geroprotektora // Uspekhi gerontologii. 2012. T.25, no. 2. pp. 356–359
5. Tkachenko B.I. Evlakhov V.I., Poyasov I.Z. Sootnoshenie izmeneniy davleniya v prederdiyakh i pokazately sistemnoy gemodinamiki pri primenenii katekholaminov // Rossiyskiy fiziol. zhurn. im. I.M.Sechenova 2005. T.91, no. 6 pp. 625–635.
6. Tkachenko B.I., Polenov S.A. Sosudisty tonus i ego mestnaya regulyaciya. // Bolezni serdtsa i sosudov: Rukovodstvo glya vrachei. M.: Meditsina. 1992. T.1. Gl.1. pp. 5–30.
7. Khavinson V.Kh. Tkanespetsificheskoe deystvie peptidov // Byul. eksper. biol. 2001. T. 132, no. 8. pp. 228–229
8. Lehmann C., Meissner K., Knock A., Diedrich S., Pavlovic D., Grundling M., Usichenko T., Wendt M., Birnbaum J. Activated protein C improves intestinal microcirculation in experimental endotoxaemia in the rat // Crit. Care. 2006. Vol. 10, no. 6. pp. R157–R165.
9. Lundblad C., Bentzer P., Grande P.O. The permeability-reducing effects of prostacyclin and inhibition of Rho kinase do not counteract endotoxin-induced increase in permeability in cat skeletal muscle. // Microvasc. Res. 2004. Vol. 68, no. 3. pp. 286–294.
10. Persson J., Ekelund U., Grande P.O. Nitric oxide and prostacyclin play a role in the regulation of microvascular protein and hydraulic permeability in cat skeletal muscle. // Microcirculation, 2003. Vol. 10, no. 2, pp. 233–243.

Рецензенты:

Козлов К.Л., д.м.н., профессор, заведующий лабораторией патологии сердечно-сосудистой системы Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, г. Санкт-Петербург;

Кветной И.М., д.м.н., профессор, заведующий отделом клеточной биологии и патологии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, заслуженный деятель науки РФ, г. Санкт-Петербург.
Работа поступила в редакцию 16.09.2013.