ОБЩАЯ ПАТОЛОГИЯ И ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

ДИНАМИКА ПОВЫШЕНИЯ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ У МОЛОДЫХ КРЫС ЛИНИИ SHR В ПЕРИОД РАЗВИТИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

А.М.Анищенко*, О.И.Алиев*,, А.В.Сидехменова*, А.Ю.Шаманаев*, М.Б.Плотников*,****

**Лаборатория фармакологии кровообращения ФГБНУ НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д.Гольдберга, Томск, РФ; **Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, РФ*

Изучена динамика систолического АД, диастолического АД и вазодилататорной активности эндотелия у крыс линий SHR и Wistar-Kyoto с 5-й по 12-ю недели жизни. В возрасте 5 нед значения систолического и диастолического АД у крыс линий SHR и Wistar-Kyoto достоверно не различались. С 6-й недели у крыс линии SHR выделяется два этапа формирования артериальной гипертензии. Первый этап (6-8-я неделя жизни) характеризовался достоверным повышением систолического и диастолического АД, превышающим соответствующие показатели у крыс линии Wistar-Kyoto на 26-32%. Значения вазодилататорной активности эндотелия у крыс обеих линий в период 5-7-й недель жизни не различались. Второй этап (9-12-я неделя жизни) у крыс линии SHR характеризовался дальнейшим повышением систолического и диастолического АД, превышающим значения у крыс линии Wistar-Kyoto в те же возрастные периоды на 54-89%. В этот период увеличение АД происходило на фоне достоверного снижения эндотелийзависимой вазодилатации на 14-16% по сравнению со значениями у крыс линии Wistar-Kyoto того же возраста.

Ключевые слова: *артериальная гипертензия, артериальное давление, крысы SHR, крысы Wistar-Kyoto, эндотелиальная дисфункция*

При артериальной гипертензии (АГ) наблюдается дисфункция эндотелия артерий, которая проявляется уменьшением эндотелийзависимой вазодилатации и нарушением антиагрегантных свойств сосудистой стенки [9,10]. Адекватной моделью АГ, используемой для изучения отдельных механизмов ее формирования, являются крысы линии SHR [4]. Однако данные о причинно-следственной связи повышения АД и нарушения функции эндотелия у крыс линии SHR крайне противоречивы [7]. Так, в исследовании [6] было показано, что эндотелиальная дисфункция является следствием повышенного АД. Другие авторы считают, что пусковым механизмом повышения АД у крыс линии SHR является формирование эндотелиальной дисфункции [2,9,13,14]. В работе [11] показано, что у животных линии SHR в возрасте до 12 нед при повышенном АД не наблюдается изменений функции эндотелия. Данные противоречия в значительной степени связаны с разнообразием дизайна подобных исследований, в частности проведения экспериментов на крысах линии SHR разных возрастов (от 6 до 78 нед) [8,12]. Преодолеть это противоречие и выявить взаимозависимость между этапами формирования АГ и эндотелиальной дисфункцией можно, применив онтогенетический подход [15].

Целью данной работы являлось исследование динамики АД и вазодилататорной функции

Адрес корреспонденции: mbp2001@mail.ru. Плотников М.Б.

эндотелия у молодых крыс линии SHR в период развития у них АГ.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена на 45 нормотензивных крысах линии Wistar-Kyoto (WKY) и 45 крысах линии со спонтанной гипертензией (SHR) категории SPF, полученных из вивария Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шимякина и Ю.А.Овчинникова РАН (сертификат здоровья животных от 04.09.2014). В виварии НИИФиРМ им. Е.Д.Гольдберга животных содержали в неполной барьерной системе при 20-24°С, относительной влажности 50±20%, воздухообмене 12-15 объемов помещения в час и световом режиме 12:12 ч. Содержание животных и уход за ними осуществляли в соответствии Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986 г). Протокол исследования утвержден комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных НИИФиРМ им. Е.Д.Гольдберга (протокол № 72052014).

У крыс SHR динамика АД, морфологические изменения в сердце и сосудах, а также вторичные изменения в органах-мишенях соответствуют патогенезу гипертонической болезни и ее осложнений у человека [1], в связи с чем данная линия признана наиболее адекватной моделью эссенциальной АГ [4]. Животные каждой линии были разделены на 8 возрастных групп (по 5 особей в каждой): 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 нед жизни. В конце исследования крыс выводили из эксперимента в CO_2-камере.

Систолическое и диастолическое АД (САД, ДАД) у крыс регистрировали при помощи системы неинвазивного измерения АД у ненаркотизированных (бодрствующих) мелких лабораторных животных NIBP200A ("BIOPAC Systems Inc."). Запись и обработка данных производилась на компьютере в программе "AcqKnowledge 4.2 for MP150".

САД и ДАД у крыс каждой возрастной группы измеряли дважды в неделю: на 2-й и 5-й день. Все манипуляции с животными проводили в утренние часы. Перед началом исследования крыс несколько раз помещали в удерживающую камеру, чтобы адаптировать их к экспериментальным процедурам. АД измеряли при постоянной температуре воздуха в камере (34°С). Каждое животное, помещенное в удерживающую камеру, предварительно оставляли в блоке для подогрева хвоста на 10 мин, а затем выполняли 4-5 измерений.

После завершения опытов с измерением САД и ДАД в каждой группе у бодрствующих крыс SHR и WKY на 5-й день недели оценивали вазодилататорную активность эндотелия. Животных наркотизировали (диэтиловый эфир), катетеризовали общую сонную артерию и регистрировали АД датчиком TSD 104A на аппаратном комплексе для электрофизиологических исследований MP150 ("BIOPAC Systems Inc."). Непрерывную запись АД и последующую обработку данных проводили на компьютере в программе "AcqKnowledge 4.2 for MP150". Вазодилататорную активность эндотелия оценивали по значению индекса вазодилатационной активности (ИВА), который рассчитывали как отношение площади над кривой снижения АД в ответ на внутривенную инъекцию эндотелийзависимого вазодилататора ацетилхолина (5 мкг/кг) к площади над кривой снижения АД в ответ на внутривенную инъекцию эндотелийнезависимого вазодилататора нитропруссида натрия (30 мкг/кг).

Полученные результаты обрабатывали в программе "Statistica 6.0". Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего значения ($M \pm m$). Для оценки достоверности межгрупповых различий использовали непараметрический критерий Крускала—Уоллиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

АД у крыс WKY с 5-й по 12-ю неделю жизни оставалось стабильным: средние значения САД и ДАД в эти сроки составляли 126±2 и 95±2 мм рт. ст. соответственно (табл. 1). Наблюдаемые колебания АД не были значимыми (p=0.08).

У крыс SHR в возрасте 5 нед САД и ДАД достоверно не отличались от соответствующих показателей у крыс WKY (табл. 1). С 6-й недели САД и ДАД у крыс SHR были достоверно выше соответствующих значений крыс WKY того же возраста. В период между 6-й и 8-й неделями жизни средние значения САД и ДАД у крыс SHR были умеренно повышены: 162±3 и 133±2 мм рт. ст. соответственно, что превышало соответствующие показатели крыс WKY на 26-32%. С 9-й недели жизни у крыс SHR наблюдалось повторное прогрессивное повышение АД и к концу 12-й недели жизни САД и ДАД составляли 205±9 и 172±12 мм рт. ст. соответственно. В этот период средние значения исследуемых показателей у крыс SHR превышали значения у крыс WKY в те же сроки на 54-89%. Подобная этапность развития АГ у крыс SHR отмечается и в других исследованиях [3-5], что может свидетельствовать о последовательном включении различных патологических механизмов в формирование АГ. Одним из механизмов, способствующих прогрессивному росту АД у крыс SHR в возрасте 9-12 нед, может быть

Таблица 1. Динамика САД и ДАД у крыс линий WKY и SHR

Возраст крыс, нед	День недели	Линия WKY		Линия SHR	
		САД	ДАД	САД	ДАД
5	2-й	125±3	97±4	138±8	111±8
	5-й	128±4	100±5	148±6	114±5
6	2-й	137±4	108±5	164±1*	136±1*
	5-й	134±7	112±6	175±10*	146±10*
7	2-й	127±6	102±5	161±5*	133±5*
	5-й	120±4	94±4	155±2*	127±2*
8	2-й	119±3	97±7	155±10*	127±8*
	5-й	128±11	90±9	161±4*	132±4*
9	2-й	115±5	83±5	174±10*	142±6*
	5-й	126±4	90±7	182±8*	135±8*
10	2-й	118±4	85±4	177±13*	145±10*
	5-й	112±3	83±3	174±13*	140±12*
11	2-й	120±12	84±8	195±15*	156±17*
	5-й	134±5	104±5	189±13*	146±14*
12	2-й	133±12	99±9	211±7*	171±6*
	5-й	124±4	91±6	205±9*	172±12*

Примечание. *Здесь и в табл. 2: *p<0.05 по сравнению со значениями у крыс линии WKY того же возраста.*

Таблица 2. Динамика ИВА (усл. ед.) у крыс линий WKY и SHR

Возраст крыс, нед	Линия WKY	Линия SHR
5	0.52±0.05	0.48±0.10
6	0.470±0.002	0.44±0.06
7	0.52±0.04	0.47±0.03
8	0.48±0.03	0.41±0.05*
9	0.40±0.03	0.31±0.03*
10	0.43±0.04	0.32±0.05*
11	0.40±004	0.33±0.03*
12	0.42±0.02	0.31±0.02*

развитие недостаточности вазодилатационной функции эндотелия.

Значения ИВА у крыс SHR и WKY в возрасте 5, 6 и 7 нед достоверно не различались. Однако у крыс SHR, начиная с 8-й недели и в последующие периоды наблюдения, ИВА был достоверно ниже на 14-26% по сравнению со значениями этого показателя у крыс WKY (табл. 2). Снижение ИВА эндотелия происходит за счет уменьшения сосудорасширяющей реакции на внутривенное введение эндотелийзависимого вазодилататора ацетилхолина. Данный факт свидетельствует о выраженной эндотелиальной дисфункции у крыс SHR, которая формируется на этапе устойчивого возрастания АД. Одной из причин формирования эндотелиальной дисфункции в этот период может быть повреждение эндотелиальных клеток постоянным избыточным сдвиговым напряжением на эндотелии [10].

Полученные результаты позволяют проследить этапность в формировании АГ и эндотелиальной дисфункции у молодых крыс SHR. Первый этап — умеренное повышение АД — начинается у крыс SHR в раннем возрасте (6 нед) на фоне неизменной вазодилататорной активности эндотелия. В период стабильного, но умеренного повышения АД, начиная с 8-й недели жизни, у молодых крыс SHR формируется эндотелиальная дисфункция. В свою очередь, эндотелиальная дисфункция, возможно, запускает дальнейшее возрастание АД у крыс SHR в возрасте 9-12 нед.

Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 14-25-00017).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Журавлев Д.А.* // Артериал. гипертен. 2009. Т. 15, № 6. С. 721-723.
2. *Akiba Y., Yamaguchi N., Amano H. et al.* // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Suppl. 1995. Vol. 22, N 1. P. S142-S143.
3. *Boylan J.W., Van Liew J.B., Feig P.U.* // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1991. Vol. 88, N 21. P. 9848-9852.

4. *Bruschi G., Minari M., Bruschi M.E. et al.* // Hypertension. 1986. Vol. 8, N 11. P. 983-989.
5. *Chabanel A., Schachter D., Chien S.* // Hypertension. 1987. Vol. 10, N 6. P. 603-607.
6. *Chou T.C., Yen M.H., Li C.Y., Ding Y.A.* // Hypertension. 1998. Vol. 31, N 2. P. 643-648.
7. *Dharmashankar K., Widlansky M.E.* // Curr. Hypertens. Rep. 2010. Vol. 12, N 6. P. 448-455.
8. *Li F., Joshua I.G.* // Clin. Exp. Hypertens. 1993. Vol. 15, N 3. P. 511-526.
9. *Puddu P., Puddu G.M., Zaca F., Muscari A.* // Acta Cardiol. 2000. Vol. 55, N 4. P. 221-232.
10. *Rush J.W., Ford R.J.* // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2007. Vol. 37, N 1-2. P. 185-192.
11. *Safar M., Chamiot-Clerc P., Dagher G., Renaud J.F.* // Hypertension. 2001. Vol. 38, N 6. P. 1416-1421.
12. *Tominaga M., Fujii K., Abe I. et al.* // J. Hypertens. 1994. Vol. 12, N 3. P. 259-268.
13. *Vapaatalo H., Mervaala E., Nurminen M.L.* // Physiol. Res. 2000. Vol. 49, N 1. P. 1-10.
14. *Vaziri N.D., Ni Z., Oveisi F. et al.* // Hypertension. 1998. Vol. 31, N 6. P. 1248-1254.
15. *Zicha J., Kunes J.* // Physiol. Rev. 1999. Vol. 79, N 4. P. 1227-1282.

Получено 16.02.14

ВНИМАНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ

Оформить подписку и доставку журналов

“Бюллетень экспериментальной биологии и медицины”,

“Клеточные технологии в биологии и медицине”

можно в редакции по адресу

119021 Москва, ул. Большая Пироговская, 9а

Принимаются заказы на отдельные номера журналов

Тел.: +7(499)246-35-61, 246-26-82

E-mail: bam.b@g23.relcom.ru, info@iramn.ru, com@iramn.ru