

УДК 612.117.2

ТИХОМИРОВА Ирина Александровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой основ медицинских знаний и охраны здоровья детей Ярославского государственного педагогического университета им. К.Д. Ушинского. Автор более 200 научных публикаций, в т. ч. трех монографий и 7 учебных пособий

ОСЛЯКОВА Анна Олеговна, кандидат биологических наук, заведующая кабинетом кафедры анатомии и физиологии человека и животных Ярославского государственного педагогического университета им. К.Д. Ушинского. Автор более 20 научных публикаций

ВЛИЯНИЕ ВАЗОДИЛАТАТОРОВ НА РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ*

Авторами изучено влияние вазоактивных соединений, повышающих уровень цГМФ: донора оксида азота, нитроглицерина и ингибитора фосфодиэстеразы 5 запринаста на реологические свойства крови здоровых лиц и пациентов с нарушениями работы сердца. Эритроциты инкубировали в физиологическом растворе (контроль) и в растворах исследуемых веществ (эксперимент) и оценивали вязкость крови, агрегационную способность красных клеток крови и их деформационные свойства. Отмечено повышение текучести крови в присутствии исследуемых соединений за счет оптимизации клеточных свойств эритроцитов (снижения агрегируемости и увеличения деформируемости) в норме и при нарушениях сердечной деятельности. Сходство эффекта донора оксида азота, нитроглицерина и ингибитора фосфодиэстеразы 5 запринаста свидетельствует о вовлеченности цГМФ эритроцитов в механизм модификации их микрореологических характеристик.

Ключевые слова: реологические свойства крови, вазоактивные соединения, влияние вазодилаторов.

Введение. В состоянии нормы сердечно-сосудистая система человека способна полностью обеспечить все клетки и ткани организма необходимым для их эффективного функционирования кислородом. В условиях нарушений деятельности сердечно-сосудистой системы наблюдаются сдвиги в работе регуляторных механизмов периферического кровотока. Так, при ишемической болезни сердца и хронической сердечной недостаточности [1, 2] отмечается

развитие дисфункции эндотелия, характеризующееся уменьшением способности эндотелиальных клеток освобождать релаксирующие факторы и, как следствие, нарушением способности сосудов расширяться и обеспечивать при необходимости увеличение кровотока [4].

На уровне капиллярного звена микроциркуляции эффективность снабжения тканей кислородом в значительной степени зависит от реологических свойств крови, поскольку стенки

* Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 14-04-01703.

капилляров лишены сократительных элементов и вязкость крови становится определяющим фактором в обеспечении тканевой перфузии. Основным вклад в формирование вязкости цельной крови вносят такие характеристики, как показатель гематокрита, вязкость плазмы и микрореологические свойства эритроцитов – агрегируемость и деформируемость [5]. Капиллярный кровоток значительно страдает даже при минимальном повышении вязкости крови, что приводит к существенному снижению оксигенации тканей.

Метаболиты и вазоактивные вещества, попадающие в кровеносное русло, контактируют не только со стенкой кровеносных сосудов, но и с клетками крови, в связи с чем возникает вопрос об их возможном влиянии на реологические свойства крови (а, значит, и на ее кислородтранспортный потенциал) и на уровень микрокровотока как в норме, так и при нарушениях деятельности сердечно-сосудистой системы в особенности. Если механизмы влияния экзогенных и эндогенных вазодилататоров на сосудистую стенку достаточно хорошо изучены, то вопрос о специфичности и механизмах воздействия вазоактивных веществ на реологические свойства крови остается предметом изучения. Целью настоящего исследования было оценить влияние вазодилататоров, одним из механизмов кардиопротекторной функции которых является повышение уровня циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), на реологические свойства крови здоровых лиц и пациентов с нарушениями сердечной деятельности.

Материалы и методы. В исследовании после получения информированного согласия приняли участие добровольцы – лица обоего пола. В группу 1 вошли практически здоровые доноры ($n = 57$); в группу 2 – пациенты с ишемической болезнью сердца (ИБС), стенокардией напряжения (СН) II функционального класса (ФК), хронической сердечной недостаточностью (ХСН) II ФК ($n = 43$); группу 3 составили пациенты с ИБС, СН III ФК, ХСН III ФК ($n = 50$). Забор крови для исследования проводился утром натощак из локтевой вены

квалифицированным медицинским персоналом в условиях клинического стационара. Эритроциты отделяли от плазмы центрифугированием (в течение 15 мин при 1500 об/мин), трижды отмывали в 0,9 % растворе NaCl и инкубировали при 37 °С в физиологическом растворе (контроль) и в растворах исследуемых веществ: донаторов оксида азота – нитроглицерина (10^{-5} М), Spermine NONOate (10^{-6} М) и ингибитора фосфодиэстеразы 5 запринаста ($2 \cdot 10^{-5}$ М) (эксперимент). Вязкость цельной крови и суспензий эритроцитов с Hct = 40 % в аутоплазме и физиологическом растворе измеряли при постоянной температуре 21 °С с помощью полуавтоматического капиллярного вискозиметра при различных напряжениях сдвига: от 1,06 до 0,21 Па. Для оценки процесса агрегатообразования эритроциты ресуспендировали в обедненной тромбоцитами аутологичной плазме при стандартном значении Hct = 0,5 %. Степень агрегации эритроцитов определяли методом оптической микроскопии с последующей видеорегистрацией и компьютерным анализом изображения, рассчитывали степень агрегации (как отношение числа агрегатов к количеству одиночных клеток) и размер агрегата (среднее число эритроцитов, приходящихся на один агрегат). Деформируемость красных клеток крови оценивали по индексам элонгации эритроцитов в проточной микрокамере в сдвиговом потоке при фиксированном напряжении сдвига 0,78 Па. Статистическую обработку полученных данных после проверки на соответствие выборки закону нормального распределения проводили с использованием параметрических критериев (парный t-критерий Стьюдента). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Известно, что эндотелиальные клетки способны синтезировать ряд вазоактивных веществ, включая оксид азота, роль которого в поддержании сосудистого гомеостаза заключается в регуляции сосудистого тонуса, ингибировании адгезии, агрегации тромбоцитов и тромбообразования [14]. Оксид азота активизирует цитоплазматическую гуанилатциклазу

в миоцитах сосудистой стенки, что способствует нарастанию концентрации цГМФ и снижению уровня цитозольного кальция. В итоге снижается тонус сосудов, уменьшается пред- и постнагрузка на сердце, а также давление наполнения желудочков [10].

Оксид азота ингибирует высвобождение аденозинтрифосфата из эритроцитов посредством инактивации гетеротримерного G белка G_i [11]. По всей видимости, такое положительное влияние на энергетический баланс красных клеток крови является одним из механизмов благоприятного эффекта донора NO Spermine NONOate на микрореологические свойства крови, особенно выраженного при нарушениях деятельности сердца – отмеченные нами снижение агрегируемости и рост деформируемости эритроцитов в группах 2 и 3 (рис. 1) способствовали увеличению текучести крови, что играет важную роль в обеспечении кислородного питания тканей в этих условиях.

Один из экзогенных источников NO – нитроглицерин – широко применяется в терапии ряда сердечно-сосудистых заболеваний, механизм его действия можно рассматривать как имитацию эффекта эндогенного NO. Нитроглицерин вызывает вазодилатацию после превращения в NO с последующим увеличением содержания цГМФ за счет активации растворимой гуанилатциклазы или цГМФ-зависимой протеинкиназы PKG [6].

Нами был зафиксирован выраженный позитивный эффект нитроглицерина на реологические свойства крови в норме и при нарушениях работы сердца. Этот препарат значительно снизил способность эритроцитов и здоровых лиц, и пациентов с ишемией миокарда и ХСН к агрегатообразованию, о чем свидетельствовали более низкие по сравнению с контролем показатели вязкости суспензий эритроцитов в плазме (в среднем на 9 % ($p < 0,01$) в группе здоровых лиц; на 10 и 8 % ($p < 0,05$))

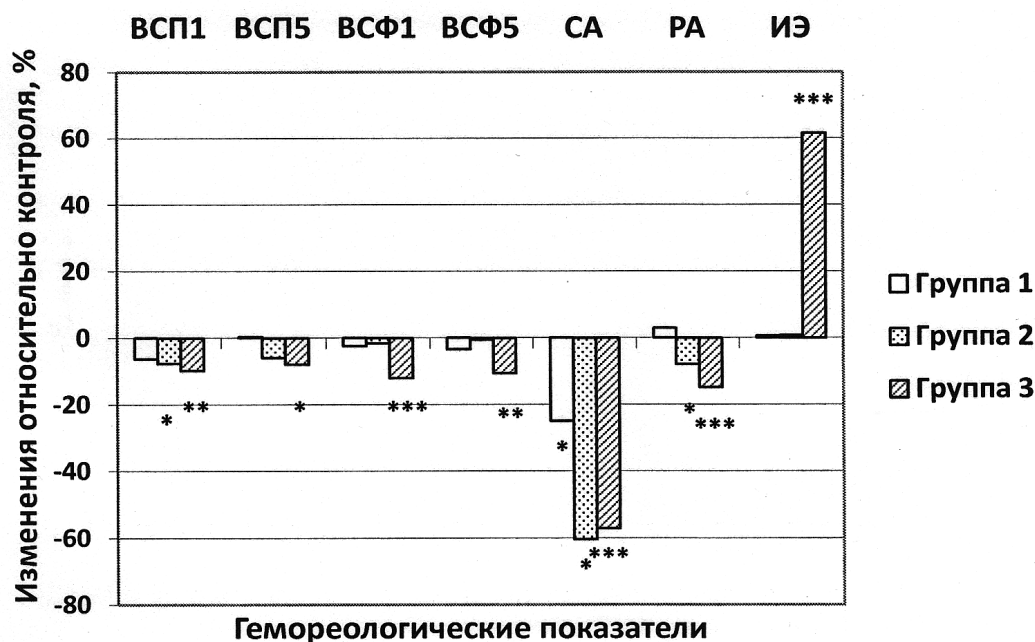


Рис. 1. Изменения гемореологических показателей под влиянием донора NO: ВСП – вязкость суспензии эритроцитов в аутоплазме (Hct = 40 %), ВСФ – вязкость суспензии эритроцитов в физиологическом растворе (Hct = 40%), индексы для напряжений сдвига: 1 – 1,06 Па, 5 – 0,21 Па; СА – степень агрегации эритроцитов; РА – размер агрегата; ИЭ – деформируемость эритроцитов. Статистически значимые различия: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

в группах 2 и 3 соответственно) и степени агрегации клеток (на 41 % ($p < 0,01$) в норме; на 45 % ($p < 0,05$) и 60 % ($p < 0,001$) в группах 2 и 3 соответственно) (рис. 2).

В условиях сердечно-сосудистой патологии нитроглицерин повысил деформируемость эритроцитов: индексы элонгации клеток увеличились на 5 % ($p < 0,01$) в группе 2 и на 29 % ($p < 0,001$) – в группе 3 (рис. 2). Рост деформируемости красных клеток крови облегчает их прохождение по спазмированным сосудам и способствует улучшению кровотока в ишемизированных зонах.

Известно, что NO, продуцируемый эндотелиальной NO-синтазой, увеличивает концентрацию цГМФ и находится в антагонистических взаимоотношениях с ферментом фосфодиэстеразой 5 (ФДЭ 5), которая специфически гидролизует цГМФ в 5'-ГМФ, снижая внутриклеточный уровень концентрации цГМФ. Фосфодиэстераза 5 играет важную роль

в процессах гидролиза цГМФ в миоцитах сосудистой стенки и вазодилатации, вызванной нитроглицерином и NO [12].

Экспериментально доказана эффективность ингибиторов ФДЭ 5 как сосудорасширяющего средства для церебральных сосудов среднего калибра и при легочной гипертензии [7]. Кардиопротекторный эффект ингибитора ФДЭ 5 запринаста при повреждениях при ишемии-реперфузии был показан в экспериментах на животных [8]. Одним из механизмов кардиопротекторного эффекта экзогенных доноров оксида азота и ингибиторов фосфодиэстеразы при ишемическом preconditionировании миокарда считается повышение уровня цГМФ [13].

Учитывая, что фосфодиэстераза 5 содержится в цитозоле эритроцитов человека и регулирует уровень цГМФ [9], мы предположили, что влияние специфического ингибитора ФДЭ 5 запринаста на реологические свойства крови

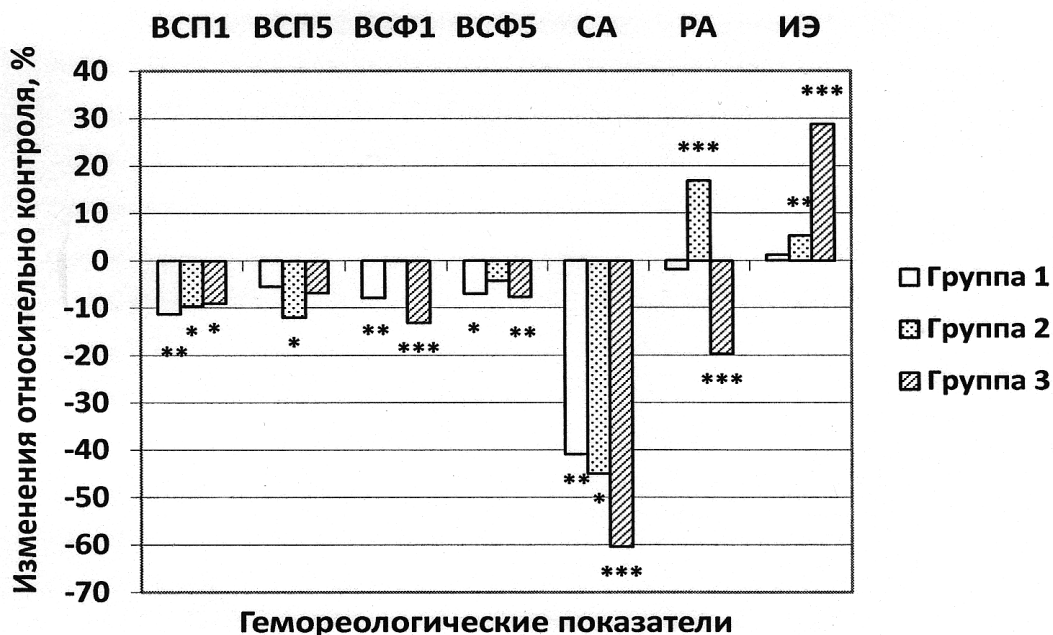


Рис. 2. Изменения гемореологических показателей под влиянием нитроглицерина: ВСП – вязкость суспензии эритроцитов в аутоплазме (Hct = 40 %), ВСФ – вязкость суспензии эритроцитов в физиологическом растворе (Hct = 40%), индексы для напряжений сдвига: 1 – 1,06 Па, 5 – 0,21 Па; СА – степень агрегации эритроцитов; РА – размер агрегата; ИЭ – деформируемость эритроцитов. Статистически значимые различия: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

может оказаться сходным с эффектом NO и нитроглицерина, действие которых определяется повышением концентрации цГМФ. Обработка запринастом эритроцитов лиц с нарушениями работы сердца в нашем исследовании, так же как и в случае использования донора оксида азота и нитроглицерина, способствовала снижению степени агрегации клеток (на 46 %, $p < 0,05$ в группе 2 и на 53 %, $p < 0,001$ в группе 3) и росту их деформационной способности (на 4 %, $p < 0,05$ в группе 2 и на 19 %, $p < 0,001$ в группе 3). Повышение деформируемости эритроцитов на 6 % ($p < 0,05$) после инкубации с запринастом отмечено и в состоянии нормы (рис. 3).

в нашем исследовании благоприятные изменения микрореологических свойств крови под влиянием запринаста, по всей видимости, также связаны с ростом цГМФ в красных клетках крови.

Выводы:

1. Донор оксида азота Spermine NONOate, нитроглицерин и запринаст оказывают позитивное влияние на реологические свойства крови *in vitro*, особенно выраженное при нарушениях деятельности сердца.

2. Рост текучести крови под действием донора NO, нитроглицерина и запринаста обусловлен уменьшением агрегируемости и повышением деформируемости эритроцитов.

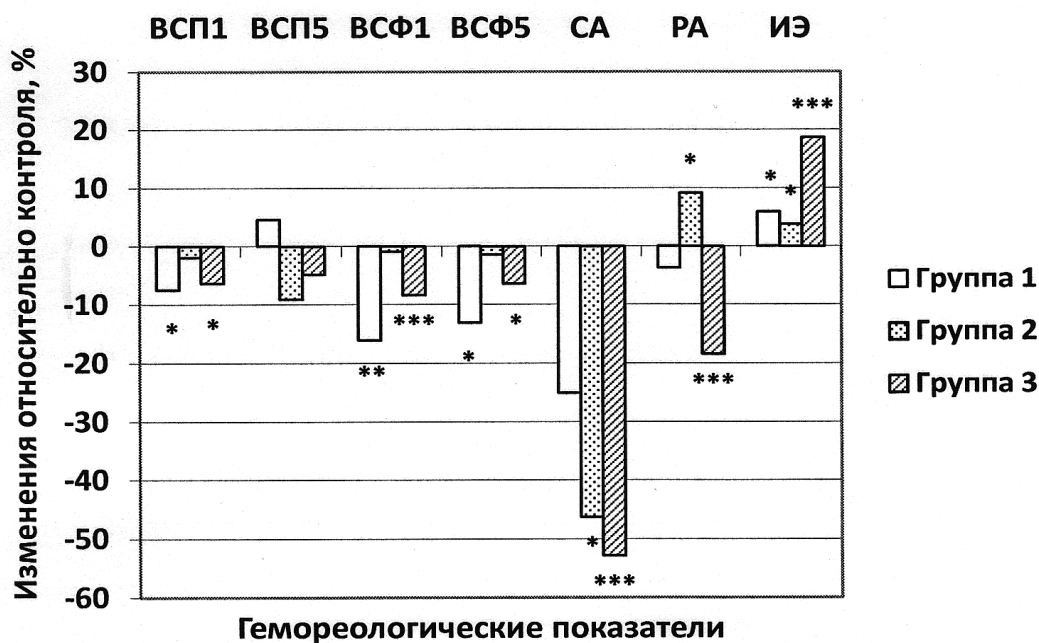


Рис. 3. Изменения гемореологических показателей под влиянием запринаста: ВСП – вязкость суспензии эритроцитов в аутоплазме (Hct = 40 %), ВСФ – вязкость суспензии эритроцитов в физиологическом растворе (Hct = 40 %), индексы для напряжений сдвига: 1 – 1,06 Па, 5 – 0,21 Па; СА – степень агрегации эритроцитов; РА – размер агрегата; ИЭ – деформируемость эритроцитов. Статистически значимые различия: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Было показано, что присутствие запринаста в среде инкубации красных клеток крови приводит к повышению содержания цГМФ в эритроцитах, увеличивает активность Ca^{2+} -зависимых калиевых каналов [3]. Таким образом, отмеченные

3. Сходство эффекта этих трех соединений указывает на возможность участия цГМФ красных клеток крови в механизме модификации их микрореологических свойств.

Список литературы

1. Влияние дисфункции эндотелия и курения на тестирование лучевой артерии, используемой в качестве кондукта при операциях коронарного шунтирования / О.В. Каменская, Л.М. Булатецкая, А.М. Чернявский и др. // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2010. № 6. С. 32–36.
2. Кукес В.Г. Роль дисфункции эндотелия в прогрессировании хронической сердечной недостаточности. Возможности эффективной фармакотерапии блокатором рецепторов ангиотензина валсартаном / В.Г. Кукес, К.А. Гямджян, М.Л. Максимов // Сердечная недостаточность. 2012. Т. 13, № 3. С. 184–187.
3. Оксид азота как регулятор Ca^{2+} -зависимой калиевой проницаемости мембраны эритроцитов здоровых доноров / О.А. Трубачева, И.В. Петрова, С.В. Кремено и др. // Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов и систем в норме и при патологии: материалы науч. конф. с междунар. участием. Томск, 2009. С. 98–100.
4. Сивохина Н.Ю. Современный взгляд на проблему дисфункции артериального эндотелия // Клиническая физиология кровообращения. 2009. № 2. С. 19–23.
5. Baskurt O.K., Meiselmam H.J. Blood Rheology and Hemodynamics // Semin. Thromb. Hemost. 2003. Vol. 29, № 5. P. 435–450.
6. cGMP-Dependent Protein Kinase in Regulation of Basal Tone and in Nitroglycerin- and Nitric-Oxide-Induced Relaxation in Porcine Coronary Artery / X. Qin, X. Zheng, H. Qi et al. // Eur. J. Physiol. (Pflugers Arch.). 2007. Vol. 454. P. 913–923.
7. Effect of a Phosphodiesterase 5 Inhibitor on Pulmonary and Cerebral Arteries of Newborn Piglets with Chronic Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension / C.D. Fike, M. Kaplowitz, Y. Zhang et al. // Neonatology. 2012. Vol. 101. P. 28–39.
8. Effect of the Phosphodiesterase-5 Inhibitor Zaprinast on Ischemia-Reperfusion Injury in Rats / A.J. Polcari, A.V. Farooq, M.E. Woods et al. // J. Endourol. 2013. Vol. 27(3). P. 338–342.
9. Identification of Cytosolic Phosphodiesterases in the Erythrocyte: A Possible Role for PDE5 / S.P. Adderley, K.M. Thuet, M. Sridharan et al. // Med. Sci. Monit. 2011. Vol. 17(5). P. CR241–247.
10. Mechanism of Nitric Oxide-Induced Vasodilatation: Refilling of Intracellular Stores by Sarcoplasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase and Inhibition of Store-Operated Ca^{2+} influx / R.A. Cohen, R.M. Weisbrod, M. Gericke et al. // Circ. Res. 1999. Vol. 84. P. 210–219.
11. NO Inhibits Signal Transduction Pathway for ATP Release from Erythrocytes via Its Action on Heterotrimeric G Protein G_i / J. Olearczyk, A.H. Stephenson, A.J. Lonigro et al. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2004. Vol. 287. P. H748–H754.
12. Phosphodiesterase Regulation of Nitric Oxide Signaling / D.A. Kass, E. Takimoto, T. Nagayama et al. // Cardiovasc. Res. 2007. Vol. 75. P. 303–314.
13. Protection of the Ischemic Heart: Investigations into the Phenomenon of Ischemic Preconditioning / A. Lochner, E. Marais, S. Genade et al. // Cardiovasc. J. Afr. 2009. Vol. 20(1). P. 43–51.
14. Walford G., Loscalzo J. Nitric Oxide in Vascular Biology // J. Thromb. Haemost. 2003. № 1(10). P. 2112–2118.

References

1. Kamenskaya O.V., Bulatetskaya L.M., Chernyavskiy A.M., et al. Vliyanie disfunktsii endoteliiya i kureniya na testirovanie luchevoj arterii, ispol'zuemoy v kachestve kondukta pri operatsiyakh koronarnogo shuntirovaniya [Impact of Endothelial Dsfunction and Smoking on Testing of Radial Artery Used as a Conduit in Coronary Bypass Grafting]. *Kardiologiya i serdechno-sosudistaya khirurgiya*, 2010, no. 6, pp. 32–36.
2. Kukes V.G., Gyamdzhyan K.A., Maksimov M.L. Rol' disfunktsii endoteliiya v progressirovanii khronicheskoy serdechnoy nedostatochnosti. Vozmozhnosti effektivnoy farmakoterapii blokatorom retseptorov angiotenzina valsartanom [Role of Endothelium Dysfunction in Progressing of CHF. Possibilities of Effective Drug Therapy with All Blocker Valsartan]. *Serdechnaya nedostatochnost'*, 2012, vol. 13, no. 3, pp. 184–187.
3. Trubacheva O.A., Petrova I.V., Kremeno S.V., et al. Oksid azota kak regulyator Ca^{2+} -zavisimoy kalievoy pronitsaemosti membrany eritrotsitov zdorovykh donorov [Nitric Oxide as a Regulator of Ca^{2+} -Dependent Potassium Permeability of Erythrocytes in Healthy Donors]. *Neyrogumoral'nye mekhanizmy regulyatsii vistseral'nykh organov i sistem v norme i pri patologii: materialy nauch. konf. s mezhdunar. uchastiem* [Neurohumoral Mechanisms of Regulation of Visceral Organs and Systems in Health and Disease: Proc. Sci. Conf. with Int. Participation]. Tomsk, 2009, pp. 98–100.
4. Sivokhina N.Yu. Sovremennyy vzglyad na problemu disfunktsii arterial'nogo endoteliiya [Modern Approach to the Problem of Arterial Endothelium Dysfunction]. *Klinicheskaya fiziologiya krovoobrashcheniya*, 2009, no. 2, pp. 19–23.
5. Baskurt O.K., Meiselmam H.J. Blood Rheology and Hemodynamics. *Semin. Thromb. Hemost.*, 2003, vol. 29, no. 5, pp. 435–450.

6. Qin X., Zheng X., Qi H., et al. cGMP-Dependent Protein Kinase in Regulation of Basal Tone and in Nitroglycerin- and Nitric-Oxide-Induced Relaxation in Porcine Coronary Artery. *Eur. J. Physiol. (Pflugers Arch.)*, 2007, vol. 454, pp. 913–923.
7. Fike C.D., Kaplowitz M., Zhang Y., et al. Effect of a Phosphodiesterase 5 Inhibitor on Pulmonary and Cerebral Arteries of Newborn Piglets with Chronic Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension. *Neonatology*, 2012, vol. 101, pp. 28–39.
8. Polcari A.J., Farooq A.V., Woods M.E., et al. Effect of the Phosphodiesterase-5 Inhibitor Zaprinast on Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *J. Endourol.*, 2013, vol. 27 (3), pp. 338–342.
9. Adderley S.P., Thuet K.M., Sridharan M., et al. Identification of Cytosolic Phosphodiesterases in the Erythrocyte: A Possible Role for PDE5. *Med. Sci. Monit.*, 2011, vol. 17 (5), pp. CR241–247.
10. Cohen R.A., Weisbrod R.M., Gericke M., et al. Mechanism of Nitric Oxide-Induced Vasodilatation: Refilling of Intracellular Stores by Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺ATPase and Inhibition of Store-Operated Ca²⁺ influx. *Circ. Res.*, 1999, vol. 84, pp. 210–219.
11. Olearczyk J., Stephenson A.H., Lonigro A.J., et al. NO Inhibits Signal Transduction Pathway for ATP Release from Erythrocytes via Its Action on Heterotrimeric G Protein Gi. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2004, vol. 287, pp. H748–H754.
12. Kass D.A., Takimoto E., Nagayama T., et al. Phosphodiesterase Regulation of Nitric Oxide Signaling. *Cardiovasc. Res.*, 2007, vol. 75, pp. 303–314.
13. Lochner A., Marais E., Genade S. et al. Protection of the Ischemic Heart: Investigations into the Phenomenon of Ischemic Preconditioning. *Cardiovasc. J. Afr.*, 2009, vol. 20 (1), pp. 43–51.
14. Walford G., Loscalzo J. Nitric Oxide in Vascular Biology. *J. Thromb. Haemost.*, 2003, no. 1 (10), pp. 2112–2118.

Tikhomirova Irina Aleksandrovna

Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky (Yaroslavl, Russia)

Oslyakova Anna Olegovna

Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky (Yaroslavl, Russia)

THE INFLUENCE OF VASODILATORS ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF BLOOD

The paper studied the effect of vasoactive substances increasing the level of cGMP (nitric oxide donor, nitroglycerine and PDE 5 inhibitor zaprinast) on rheological properties of blood in healthy persons and in patients with cardiac failure. Red blood cells were incubated in saline (control) and in the presence of the investigated substances (experiment). We evaluated blood viscosity as well as red blood cells aggregability and deformability. Higher blood fluidity due to optimization of erythrocyte cellular properties (decreased aggregability and increased deformability) was observed in the presence of these substances both in healthy subjects and in patients with cardiac failure. The similarity between the effects of nitric oxide donor, nitroglycerine and PDE 5 inhibitor zaprinast proves that cGMP of erythrocytes is involved in the mechanism of their microrheological properties modification.

Keywords: *rheological properties of blood, vasoactive substances, effect of vasodilators.*

Контактная информация:

Тихомирова Ирина Александровна

адрес: 150000, г. Ярославль, ул. Республиканская, д. 108;

e-mail: tikhom-irina@yandex.ru

Ослякова Анна Олеговна

адрес: 150000, г. Ярославль, ул. Республиканская, д. 108;

e-mail: a.oslyakova@yandex.ru

Рецензент – *Архипенко Ю.В.*, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией адаптационной медицины факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова