

ЛЮБОВЬ ЕВГЕНЬЕВНА БЛАЖЕВИЧ

старший преподаватель кафедры безопасности жизнедеятельности и здоровьесберегающих технологий Института физической культуры, спорта и туризма, Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск, Российская Федерация)

*lyu15041988@yandex.ru*

ВАЛЕНТИНА МИХАЙЛОВНА КИРИЛИНА

кандидат биологических наук, доцент, директор Института физической культуры, спорта и туризма, Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск, Российская Федерация)

*kirilina@petsu.ru*

ЕЛЕНА НИКОЛАЕВНА КИВЕР

преподаватель кафедры безопасности жизнедеятельности и здоровьесберегающих технологий Института физической культуры, спорта и туризма, Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск, Российская Федерация)

*hoiya@yandex.ru*

АЛЕКСАНДР ИВАНОВИЧ КРИВЧЕНКО

доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией сравнительной физиологии дыхания, Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН (Санкт-Петербург, Российская Федерация)

*office@iephb.ru*

## РОЛЬ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ПРОСТАГЛАНДИНОВ В СОКРАЩЕНИИ ГЛАДКОЙ МУСКУЛАТУРЫ ТРАХЕИ И БРОНХОВ КРЫСЫ\*

Рассмотрена роль простагландинов эпителия нижних дыхательных путей крысы в сократительной активности гладкой мускулатуры трахеи и бронхов. Исследования проводились на изолированных препаратах с применением электрической стимуляции постганглионарных нервов (частота – 30 стим./с, длительность – 0,5 мсек, амплитуда – 20 В, продолжительность стимуляции – 10 с). В результате исследования выяснено, что простагландини респираторного эпителия способствуют увеличению сократительной активности гладкой мышцы, что связано с преобладанием простагландинов констрикторного действия – PGF2 $\alpha$  и других. В исследовании применялись аденоzin и капсаицин как экспериментальные аналоги внешних факторов среды. При ингибиции синтеза эпителиальных простагландинов бронхоконстрикторный эффект аденоцина сохраняется, констрикторное же действие капсаицина сохраняется только в препаратах с ганглиями; в препаратах трахеи и бронхов без ганглиев присутствует дилатационный эффект, это указывает на то, что в действии капсаицина эпителиальные простагландини понижают активность тахикининов С-волокон, ответственных за бронхоконстрикцию. В то же время снижение сокращения гладкой мышцы в препаратах без ганглиев может свидетельствовать о роли интрамуральных нервных структур в констрикторном эффекте, опосредованном активацией С-волокон.

Ключевые слова: интрамуральный ганглий, тучные клетки, ПГЕ2, индометацин

### ВВЕДЕНИЕ

Эпителиальный слой клеток, выстилающий внутреннюю поверхность респираторного тракта, прямо подвержен воздействию соединений атмосферного воздуха, способных сенсибилизировать организм, в результате чего происходит развитие аллергической реакции. Эпителий способен оказывать влияние на сократительную активность прилегающего к нему гладкомышечного слоя за счет выделения простагландинов – ПГЕ2, PGF2 $\alpha$  и других, оказывающих дилата-

ционный или констрикторный эффект. В данной статье мы рассмотрим влияние ингибиции синтеза простагландинов при различных видах воздействия на гладкие мышцы трахеи и бронхов: стимуляции электрическим полем постганглионарных нервов, аппликации аденоцина и аппликации капсаицина. Роль нейронов интрамуральных ганглиев в этом процессе мы будем оценивать сравнением эффекта ингибиции синтеза простагландинов на препаратах трахеи и бронхов, содержащих ганглии и без них.

Бронхиальный эпителий выделяет провоспалительные цитокины, простагландины, бронхоконстриктор эндотелин и бронходилатирующий оксид азота, а также другие биологически активные факторы. Однако полная роль эпителия в механизмах гиперреактивности и бронхоконстрикции у различных видов животных и человека остается невыясненной. Практически нет исследований, раскрывающих роль эпителия при блокаде синтеза простагландинов индометацином на фоне воздействия капсаицином или аденоzinом в сократительных ответах гладкой мускулатуры крысы [1]. В то время как эти соединения выступают в качестве экспериментальных моделей внешних факторов, возбуждающих С-волокна неадренергической нехолинергической системы (капсаицин) и активирующих иммунокомпетентные тучные клетки с последующей их дегрануляцией и выбросом гистамина (аденоzin) [8]. В литературе имеются сведения о том, что аденоzin активирует тучные клетки, С-волокна, аденоzinовые рецепторы гладкой мышцы и эпителия, а также стреч-рецепторы, вызывая при этом увеличение сокращения гладкой мускулатуры, сменяющееся его понижением [7]. Капсаицин активирует преимущественно С-волокна, вызывая аналогичную мышечную реакцию. Ингибиование эпителиальных простагландинов индометацином позволит установить их роль в сокращении гладкой мышцы трахеи и бронхов крысы как на фоне физиологического раствора, так и на фоне моделирования внешнего воздействия (аппликации аденоzина и капсаицина) [2].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования являлись 20 крыс линии Вистар обоего пола с массой тела 180–250 г. Подготовленные препараты трахеи и бронхов помещались в камеры с физиологическим раствором Кребса – Хензелайта, где поддерживался необходимый уровень кислорода и температурный режим. Исследовали изменение ответов гладкой мышцы трахеи и бронхов, вызванное электрической стимуляцией постгангионарных нервов на фармакологические препараты. Анализировали максимальную и минимальную величину сокращения. Минимальная величина сокращения может рассматриваться как дилатационный эффект, а максимальная – как констрикторный (учитывается в % от фонового уровня активности, принимаемого за 100 %). Регистрация сократительной активности проводилась в изометрическом режиме с помощью электромеханического датчика. Сокращение (напряжение) гладкой мышцы преобразовывалось в электрический сигнал,

который поступал на ЭВМ для регистрации и дальнейшей обработки.

Раздражение препарата электрическим полем осуществляли с помощью стимулятора ЭСЛ-2. Серебряные электроды располагались по обе стороны препарата. При стимуляции постгангионарных нервов частота равнялась 30 стим./с, длительность 0,5 мсек, амплитуда 20 В, продолжительность стимуляции 10 с [3].

В ходе экспериментов экзогенно вводились следующие вещества: индометацин (10 мкг/мл) для блокады синтеза эпителиальных простагландинов, аденоzin (10 мкг/мл) для активации тучных клеток, капсаицин (1 мкг/мл, аппликация (V = 0,2 мл)) с целью активации С-волокон.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Активность гладкой мышцы трахеи и бронхов при ингибиовании синтеза простагландинов индометацином

На фоне физиологического раствора неспецифический ингибитор синтеза простагландинов индометацин вызывал снижение сократительных ответов гладкой мышцы трахеи с ганглиями, вызванных стимуляцией постгангионарных нервов до  $78,7 \pm 2,6$  % на  $7,0 \pm 0,1$  минуте (рис. 1).

На трахее без ганглиев снижение ответов достигало практически той же величины –  $75,8 \pm 3,6$  %, однако оно происходило на  $5,71 \pm 0,82$  минуте ( $P < 0,05$ ), то есть значительно раньше. На препаратах бронхов с ганглиями и без ганглиев снижение величины сокращения, вызываемое обработкой препаратов индометацином, достоверно не различалось ( $75,7 \pm 2,4$  % и  $85,1 \pm 2,8$  % на бронхах с ганглиями и без ганглиев соответственно), однако в первом случае уменьшение амплитуды сокращения наступало на  $6,4 \pm 0,49$  минуте, а во втором – на  $5,0 \pm 0,84$  минуте ( $P < 0,05$ ).

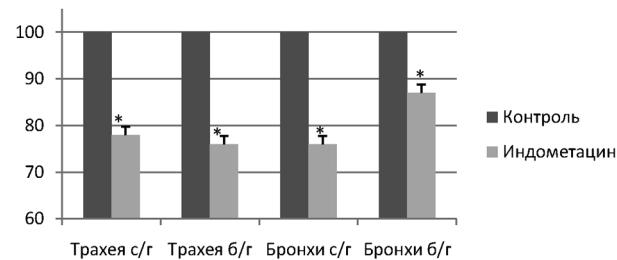


Рис. 1. Сокращения гладкой мышцы трахеи и бронхов при постгангионарной стимуляции и при блокаде эпителия индометацином. По оси абсцисс обозначены используемые препараты. По оси ординат – изменения ответов гладкой мышцы в %. За 100 % приняты ответы гладкой мышцы, вызванные стимуляцией постгангионарных нервов, на фоне физиологического раствора. «Трахея с/г» – трахея с ганглиями. «Трахея б/г» – трахея без ганглиев. «Бронхи с/г» – бронхи с ганглиями. «Бронхи б/г» – бронхи без ганглиев.

\* – достоверное ( $P < 0,05$ ) отличие от контроля

### Активность гладкой мышцы трахеи и бронхов при действии аденоцина и ингибировании синтеза простагландинов

На фоне ингибирования синтеза простагландинов аденоцин оказывал двухфазный эффект при сокращении гладкой мышцы, вызванный стимуляцией постганглионарных нервов (рис. 2). Первая фаза у всех препаратов характеризовалась незначительным усилением сокращения гладкой мышцы до  $103,7 \pm 105,8\%$  ( $P < 0,05$ ). На препаратах трахеи с ганглиями фаза усиления сокращения наступала на  $2,50 \pm 0,39$  минуте, на бронхах с ганглиями – на  $1,82 \pm 0,36$ . На препаратах без ганглия первая фаза наступала значительно позже и равнялась  $3,5 \pm 0,27$  минуты у трахеи и  $4,5 \pm 0,32$  минуты у бронхов.

Вторая фаза – снижение сокращения у всех препаратов трахеи и бронхов была примерно одинакова по величине и составляла  $89,7 \pm 93,9\%$ . У препаратов с ганглиями она наступала достоверно ( $P < 0,05$ ) позже, чем первая фаза, – на  $4,8 \pm 0,66$  минуте у трахеи и на  $5,75 \pm 0,51$  минуте у бронхов. На препаратах без ганглия вторая фаза хотя и наступала после первой, но достоверной разницы во времени наступления первой и второй фаз выявлено не было.

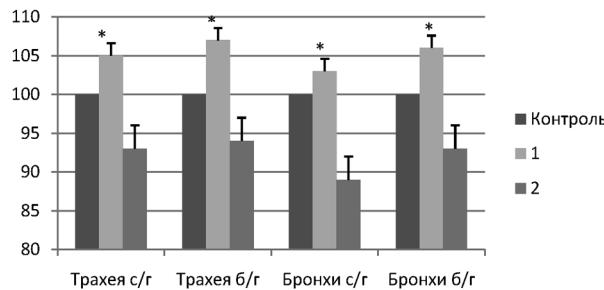


Рис. 2. Действие аденоцина на фоне блокады эпителия индометацином. По оси абсцисс обозначены препараты. По оси ординат – изменения ответов гладкой мышцы в %. За 100 % приняты ответы гладкой мышцы, вызванные стимуляцией постганглионарных нервов, на фоне блокады индометацином. «Трахея с/г» – трахея с ганглиями. «Трахея б/г» – трахея без ганглиев. «Бронхи с/г» – бронхи с ганглиями; «Бронхи б/г» – бронхи без ганглиев. «1» – первая фаза действия аденоцина, «2» – вторая фаза действия аденоцина.

\* – достоверное ( $P < 0,05$ ) отличие от контроля

### Активность гладкой мышцы трахеи и бронхов при активации С-волокон и ингибировании синтеза простагландинов

На фоне ингибирования синтеза простагландинов индометацином активация С-волокон дает изменение сокращения гладкой мускулатуры трахеи и бронхов с ганглиями при стимуляции постганглионарных нервов (рис. 3).

Увеличение сократительных ответов гладкой мышцы трахеи с ганглиями на  $2,91 \pm 0,80$  минуте составляло  $107,9 \pm 2,0\%$ , а бронхов на  $3,10 \pm 0,74$

минуте  $108,1 \pm 1,6\%$ . Вторая фаза снижения сокращения до  $94,4 \pm 2,9\%$  на трахее наступала на  $4,82 \pm 0,56$  минуте, на бронхах снижение сокращения до  $91,4 \pm 2,4\%$  регистрировалось на  $5,20 \pm 0,63$  минуте. На трахее и бронхах без ганглиев после ингибирования синтеза простагландинов капсацин вызывал только уменьшение сокращения, вызванного стимуляцией постганглионарных нервов до  $84,4 \pm 3,7\%$  на препаратах трахеи и до  $78,9 \pm 3,0\%$  на бронхах. Различия между средними значениями сокращений гладкой мускулатуры с ганглиями и без ганглиев достоверны (при  $P < 0,05$ ).

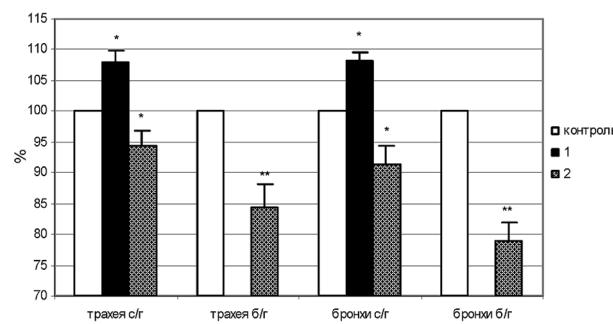


Рис. 3. Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов на фоне действия капсацина и блокады эпителия индометацином. По оси абсцисс обозначены препараты. По оси ординат – изменения ответов гладкой мышцы в %. За 100 % приняты ответы гладкой мышцы, вызванные стимуляцией постганглионарных нервов на фоне индометацина. «Трахея с/г» – трахея с ганглиями. «Трахея б/г» – трахея без ганглиев. «Бронхи с/г» – бронхи с ганглиями. «Бронхи б/г» – бронхи без ганглиев. \*, \*\* – достоверное ( $P < 0,05$  и  $P < 0,01$  соответственно) отличие от контроля

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Респираторный эпителий играет большую роль в функционировании дыхательных путей, а также в развитии воспаления и бронхоспазма. В наших исследованиях эпителий усиливал сократительные ответы гладкой мышцы, а при его блокаде ответы уменьшались. Вероятно, его бронхоконстрикторное действие связано с синтезом простагландинов, усиливающих сокращение гладкой мускулатуры (PGF2 $\alpha$  и других). Аналогичные результаты показали в своих исследованиях Armour и Johnson на препаратах кролика. Они обнаружили, что сокращения, вызванные пре- и постганглионарным стимулированием, потенцировались простагландином F2 альфа (PGF2 $\alpha$ ), вследствие чего наблюдалось их увеличение. PGF2 $\alpha$  также потенцировал сокращения на внешний ацетилхолин в изолированных неиннервированных сегментах трахеи. Это говорит о том, что действие PGF2 $\alpha$  связано непосредственно с гладкой мышцей. Эти эффекты PGF2 $\alpha$  могут быть важными при воспалении,

которое сопровождает патологии респираторного тракта [4].

При блокаде синтеза простагландинов индометацином на фоне активации С-волокон капсаицином в препаратах с ганглиями развивалась двухфазная реакция: сокращение сменялось расслаблением.

Исследования, проведенные Jolly и Desmecht на изолированных препаратах без применения стимуляции нервов, свидетельствуют о противоположном эффекте эпителия. При механическом удалении эпителиального слоя с препаратов трахеи и бронхов быка регистрировалось повышение сократительных ответов. Они утверждают, что эпителий обладает релаксационным эффектом на гладкую мышцу, который является независимым от H<sub>2</sub>- и H<sub>3</sub>-рецепторов [5]. Loenders и Jorens в своих опытах на морской свинке получили несколько иные результаты. Клетки эпителиального слоя оказывали пресинаптическое тормозное влияние на выпуск ацетилхолина, вызванный хлоридом калия и электрическим стимулированием, с уменьшением сокращения гладкой мышцы. Ответы, вызванные внешним ацетилхолином, действующие постсинаптически, также тормозились в присутствии эпителия. Однако эпителиальный эффект не объяснялся производством тормозных простагландинов или синтеза бронходилатирующего фактора – оксида азота. Кроме того, эпителий не функционировал как метаболический сайт для разложения ацетилхолина, что указывает на значительную роль каких-то других механизмов в действии эпителия [6]. Расхождение результатов, полученных нами, с результатами Jolly и Desmecht, Loenders и Jorens

можно объяснить высокой специфичностью функциональных показателей эпителия у различных групп животных. Каких-либо других сведений, касающихся изучаемой проблемы, в научной литературе нам не удалось обнаружить.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, можно сделать выводы о следующей роли простагландинов эпителия в сокращении гладкой мускулатуры трахеи и бронхов крысы. Эпителиальные простагландины при перфузии физиологического раствора способствуют повышению величины сократительных ответов, и при их блокаде ответы уменьшаются (то есть в качественном составе, синтезируемом респираторным эпителием простагландинов, преобладают простагландины констрикторного действия – PGF2 $\alpha$  и др.). При ингибиции синтеза эпителиальных простагландинов бронхоконстрикторный эффект аденоцина сохраняется. Констрикторный эффект капсаицина в отсутствие простагландинов сохраняется только в препаратах трахеи и бронхов с интрамуральными ганглиями; в препаратах без ганглиев констрикторное действие капсаицина исчезает, что указывает на роль нейронов метасимпатического интрамурального ганглия в сократительном ответе. По-видимому, основной сократительный ответ связан с запуском местной рефлекторной цепочки, проходящей через локализованный здесь интрамуральный ганглий. Однако при его отсутствии (препаратах без ганглиев) начинает срабатывать иной механизм: влияние простагландинов на активность тахикининов С-волокон, определяющих дилатационный эффект.

\* Работа выполнена при финансовой поддержке Программы стратегического развития ПетрГУ на 2012–2016 гг.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Кирилина В. М., Смирнова Л. Е., Кивер Е. Н., Федин А. Н. Взаимодействия тучных клеток и гладкой мускулатуры в нижних дыхательных путях // Сборник материалов III международной научно-практической конференции. Северный Чарлстон, США, 2014. Т. 2. С. 6–11.
- Смирнова Л. Е., Кивер Е. Н., Кирилина В. М. Влияние аденоцина и гистамина на сократительную активность гладкой мускулатуры трахеи и бронхов крысы // Современные концепции научных исследований. М., 2014. № 4. Ч. 2. С. 6–8.
- Федин А. Н., Кивер Е. Н., Смирнова Л. Е., Кирилина В. М., Кривченко А. И. Роль интрамуральных ганглиев дыхательных путей в действии гистамина // Российский физиологический журнал имени И. М. Сеченова. 2014. Т. 100. № 9. С. 1059–1067.
- Armour C. L., Johnson P. R., Marthan R., Black J. L. Prostaglandin F2 alpha augments the response to parasympathetic fibre stimulation in an isolated innervated preparation of rabbit trachea // Journal of Autonomic Pharmacology. 1988. Vol. 8. № 3. P. 251–258.
- Jolly S., Desmecht D. Functional identification of epithelial and smooth muscle histamine-dependent relaxing mechanisms in the bovine trachea, but not in bronchi // Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology. 2003. Vol. 134. № 1. P. 91–100.
- Loenders B., Jorens P. G., Hermann A. G. Epithelial modulation of cholinergic responses in rabbit trachea is partly due to neutral endopeptidase activity // European Journal of Pharmacology. 1996. Vol. 18. № 1. P. 89–96.
- Varani K., Caramori G., Vincenzi F., Adcock I. Alteration of adenosine receptors in patients with chronic obstructive pulmonary disease // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2006. Vol. 173. № 174. P. 398–406.

8. Vass G., Horváth I. Adenosine and adenosine receptors in the pathomechanism and treatment of respiratory diseases // Current Medicinal Chemistry. 2008. Vol. 15. № 9. P. 917–922.

**Blazhevich L. E.**, Petrozavodsk State University (Petrozavodsk, Russian Federation)

**Kirilina V. M.**, Petrozavodsk State University (Petrozavodsk, Russian Federation)

**Kiver E. N.**, Petrozavodsk State University (Petrozavodsk, Russian Federation)

**Krivchenko A. I.**, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the RAS  
(St. Petersburg, Russian Federation)

## **EPITHELIAL PROSTAGLANDINS' ROLE IN RATS' SMOOTH MUSCLE CONTRACTION OF TRACHEA AND BRONCHI**

The article considers the role of epithelial prostaglandins of lower respiratory tract of rats in contractile activity of smooth muscles of trachea and bronchi. Studies were conducted on isolated preparations with the use of electrical stimulations of postganglionic nerves (frequency – 30 stimuli, duration – 0,5 ms, amplitude – 20 V, duration of stimulation – 10 s). It was revealed that epithelial prostaglandins increase contractile activity of smooth muscles. In the study, we used adenosine and capsaicin as experimental analogues of the external environmental factors. Bronchoconstriction effects of adenosine persisted in spite of the inhibition of prostaglandin synthesis. Contractile activity of capsaicin was preserved only in the preparations with ganglia. The relaxation of muscles was observed in preparations without ganglia. It is probable that the influence of capsaicin epithelial prostaglandins decreases the activity of tachykinins C-fibers responsible for bronchoconstriction. At the same time, reduction of the smooth muscle contractions in preparations without ganglia may speak of the role played by the intramural nerve structures in the constricting effect mediated by the activation of C-fibers.

Key words: intramural ganglion, mast cells, PGE2, indomethaci

### REFERENCES

1. Kirilina V. M., Smirnova L. E., Kiver E. N., Fedin A. N. The interaction between mast cells and smooth muscles in the lower respiratory tract [Vzaimodeystviya tuchnykh kletok i gladkoy muskulyatury v nizhnikh dykhatel'nykh putyakh]. *Sbornik materialov III mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii* [The collection of materials of III international scientific-practical conference]. North Charleston, USA, 2014. Vol. 2. P. 6–11.
2. Smirnova L. E., Kiver E. N., Kirilina V. M. The effect of adenosine and histamine on the contractile activity of smooth muscles of the trachea and bronchi of the rat [Vliyanie adenozina i histamina na sokratitel'nyu aktivnost' gladkoy muskulyatury trakhei i bronkhov krysy]. *Sovremennye kontseptsii nauchnykh issledovaniy* [Modern research concepts]. Moscow, 2014. № 4. Part 2. P. 6–8.
3. Fedin A. N., Kiver E. N., Smirnova L. E., Kirilina V. M., Krivchenko A. I. The role of intramural ganglia of the respiratory tract on the effect of histamine [Rol' intramural'nykh gangliev dykhatel'nykh putey v deystvii histamina]. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni I. M. Sechenova* [Russian journal of physiology by I. M. Sechenov]. 2014. Vol. 100. № 9. P. 1059–1067.
4. Armour C. L., Johnson P. R., Marthan R., Black J. L. Prostaglandin F2 alpha augments the response to parasympathetic fibre stimulation in an isolated innervated preparation of rabbit trachea // Journal of Autonomic Pharmacology. 1988. Vol. 8. № 3. P. 251–258.
5. Jolley S., Desmecht D. Functional identification of epithelial and smooth muscle histamine-dependent relaxing mechanisms in the bovine trachea, but not in bronchi // Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology. 2003. Vol. 134. № 1. P. 91–100.
6. Loenders B., Jorens P. G., Hermann A. G. Epithelial modulation of cholinergic responses in rabbit trachea is partly due to neutral endopeptidase activity // European Journal of Pharmacology. 1996. Vol. 18. № 1. P. 89–96.
7. Varani K., Caramori G., Vincenti F., Adcock I. Alteration of adenosine receptors in patients with chronic obstructive pulmonary disease // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2006. Vol. 173. № 174. P. 398–406.
8. Vass G., Horváth I. Adenosine and adenosine receptors in the pathomechanism and treatment of respiratory diseases // Current Medicinal Chemistry. 2008. Vol. 15. № 9. P. 917–922.

Поступила в редакцию 02.12.2015