

Роль чувствительности эндотелиального гликокаликса к напряжению сдвига в регуляции тонуса кровеносных сосудов

И.Л. Соколов¹, И.В. Гончар¹, О.А. Антонова², И.А. Валиев¹, А.М. Мелькумянц²

¹Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный

²Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ РФ, г. Москва

Известно, что артерии расширяются в ответ на повышение скорости кровотока. Это связано с выделением эндотелиальными клетками вазоактивных веществ, основным из которых является оксид азота (NO), что способствует реализации множества важных физиологических реакций [1]. До недавнего времени считалось, что механорецепторами выступают мембрана и корковый слой эндотелиоцитов, но последние исследования показали, что первичным элементом, воспринимающим напряжение сдвига, являются жестко связанные с ними волокна эндотелиального гликокаликса, которые, деформируясь под действием напряжения сдвига, передают возникшее в них напряжение на сеть волокон альфа-актина, обеспечивающего жесткость коркового слоя [2,3]. Цели данной работы состояли в том, чтобы показать, что: во-первых, регуляцию диаметра сосудов при изменениях напряжения сдвига могут осуществлять только эндотелиоциты с интактным гликокаликсом; во-вторых, именно его механочувствительность обеспечивает способность эндотелиоцитов ориентироваться по направлению течения крови; в-третьих, доказать, что деформация волокон гликокаликса обеспечивает включение и иных вазодилататорных механизмов (кроме выделения NO), в частности, снижение активности ангиотензин-превращающего фермента (АПФ), обуславливающего выработку клетками эндотелия мощного вазоконстриктора ангиотензина II.

Опыты проводились на культуре эндотелия пупочной артерии человека.

Культивированные клетки в перфузионных камерах подвергались «высокому» (20–30 дин/см²) и «низкому» (менее 3 дин/см²) напряжениям сдвига. В перфузионный раствор одной из них добавлялся фермент, разрушающий структуры гликокаликса (гиалуронидаза, 1,5 Ед/мл или гепариназа III, 0,15 Ед/мл). В течение первых трёх часов с помощью NO-метра (WPI) регистрировался ответ клеток на ацетилхолин и повышение напряжения сдвига (уменьшением щелевого зазора в камере), а после 24 ч делались снимки под фазоконтрастным микроскопом Nikon, и затем в лизатах клеток измерялась активность АПФ.

Результаты работы:

1. Эндотелиоциты с интактным гликокаликсом показали практически одинаковое повышение концентрации NO в оттекающем перфузате в ответ как на ацетилхолин (10^{-6} – 10^{-5}

М, 60 с), так и на повышение напряжения сдвига в 2–4 раза. Однако, клетки с поврежденным гликокаликсом реагировали увеличением концентрации NO только на ацетилхолин и оно было таким же, как и в культуре с неповрежденным гликокаликсом ($p > 0,1$). Повышение напряжения сдвига на клетках, перфузируемых раствором с гиалуронидазой или гепариназой III, не вызывало увеличения концентрации оксида азота. Эти данные указывают, во-первых, на то, что использованные ферменты избирательно повреждают гликокаликс, не влияя на способность эндотелия продуцировать оксид азота, и, во-вторых, что эндотелиоциты способны отвечать на повышение напряжения сдвига увеличением производства оксида азота лишь в присутствии неповреждённого гликокаликса. Таким образом, показано, что именно гликокаликс является механоцептивным элементом эндотелиальных клеток.

2. После 24-часовой перфузии эндотелиоцитов под микроскопом наблюдалось наличие ориентации вдоль линий тока только у клеток с неповреждённым гликокаликсом, подвергавшихся действию «высокого» напряжения сдвига: они были вытянуты вдоль оси камеры и имели эллипсовидную форму. Клетки под действием «низкого» напряжения сдвига, а также клетки под действием «высокого» напряжения сдвига и повреждающих гликокаликс ферментов сохранили полигональную форму без определённой ориентации.

3. Повреждение гиалуроновой кислоты (гиалуронидазой) и гепаран сульфата (гепариназой III) в гликокаликсе приводили к исчезновению зависимости активности АПФ от напряжения сдвига ($p > 0,1$), хотя в клетках с интактным гликокаликсом активность АПФ снижалась в течение 24-часовой перфузии высоким напряжением сдвига ($(24,0 \pm 3,1)$ дин/см²) на $(23 \pm 4)\%$ ($p < 0,05$, рис. 1). Этот результат, во-первых, подтверждает вывод о роли гликокаликса как механосенсора эндотелиальных клеток, и, во-вторых, свидетельствует о регуляции сопротивления сосудов при изменениях напряжения сдвига не только продукцией NO, но и изменением активности АПФ, производящего ангиотензин II, что наводит на мысль о существовании ранее неизвестного NO-независимого механизма регуляции тонуса гладких мышц сосуда, опосредуемого эндотелием, при изменении напряжения сдвига на стенке сосуда.

Таким образом, результаты выполненной работы доказывают, что дилатация сосудов при повышении в них кровотока вызвана способностью эндотелиального гликокаликса выполнять роль механосенсора, воспринимающего действующее со стороны движущейся крови напряжение сдвига и стимулирующего клетки эндотелия, с одной стороны, к выделению вазодилаторных факторов, а с другой стороны, к подавлению вазоконстрикторных агентов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-01082.

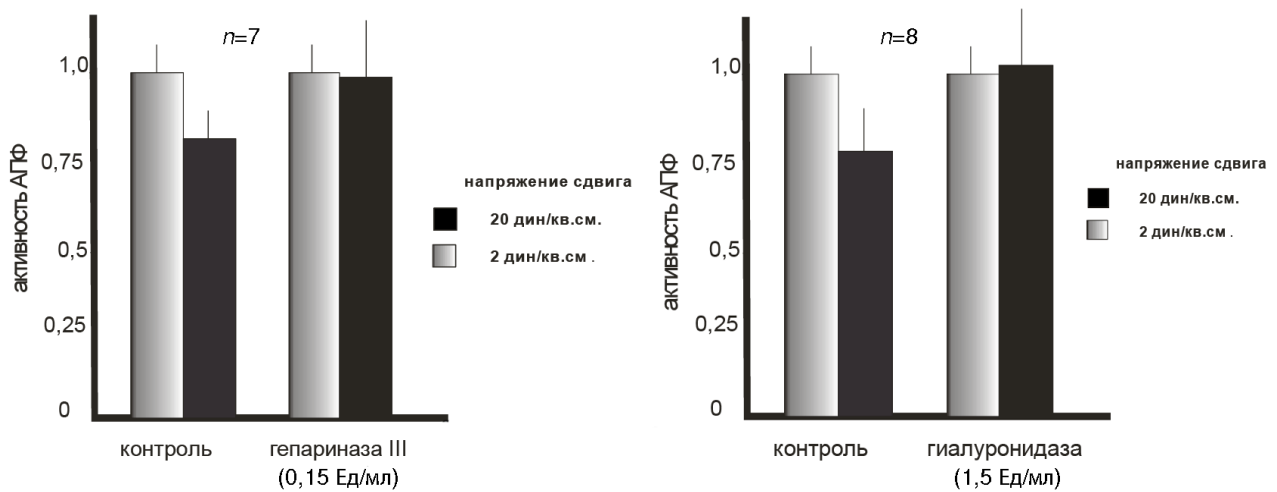


Рис. 1 Зависимость активности АПФ от напряжения сдвига в интактных эндотелиоцитах и в клетках эндотелия, гликокаликс которых поврежден гепариназой III (слева) или гиалуронидазой (справа).

Литература

1. Мелькумянц А.М., Балашов С.А. Механочувствительность артериального эндотелия. — М.:Триада, 2005.
2. Barakat A.I. Dragging along: the glycocalyx and vascular endothelial cell mechanotransduction. — Circulation research. — 2008. — N.102 — P. 747–748.
3. Weinbaum S., Tarbell J.M., Damiano E.R. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. — Annual review of biomedical engineering. — 2007. — N.9. — P.121–167.