

Утицај модификатора метаболизма цикличних нуклеотида на контрактилност десне коморе срца с очуваним и уклоњеним ендокардним ендотелом

Соња Смиљић¹, Драгица Радовић¹, Миланка Милетић¹, Војкан Несторовић¹, Горан Трајковић², Слађана Савић³

¹Институт за физиологију, Медицински факултет, Косовска Митровица;

²Институт за статистику, Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

³Институт за хистологију, Медицински факултет, Косовска Митровица

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Ендокардни ендотел је природна биолошка баријера између циркулишуће крви у коморама и ћелија срца. Унутрашња површина срца је потпуно уоквирена ендокардним ендотелом, који покрива и валвуле, а наставља се на ендотел великих крвних судова. Има особину крвно-срчане баријере, садржи рецепторе за бројне медијаторе и има способност синтезе ендотелних медијатора.

Циљ рада Циљ рада је био да се утврди значај очуваног ендокардног ендотела за контрактилност десне коморе срца и утицај модификатора метаболизма цикличних нуклеотида на контрактилност срца с очуваним и уклоњеним ендокардним ендотелом.

Методе рада У експерименту су коришћени одрасли пацови соја *Wistar albino* оба пола. Експерименти су изведени на препаратима десне коморе срца пацова кроз два експериментална модела. Први модел представљао је десну комору срца с очуваним ендокардним ендотелом, а други с ендотелом уклоњеним хемијским путем потапањем коморе у једнопроцентни раствор *Triton X-100*.

Резултати Контрактилност срца с уклоњеним ендотелом је била за 60% мања него код срца с очуваним ендокардним ендотелом. Теофилин (10^{-2} mol/l) испољава позитиван инотропни ефекат независно од постојања ендокардног ендотела. Инотропни одговор може бити индукован инхибицијом фосфодиестеразе, акумулацијом цикличних нуклеотида и активацијом Ca^{2+} канала. Модулаторна улога ендокардног ендотела у инотропним ефектима имидазола (2×10^{-3} mol/l) је значајна ($p < 0,05$). Имидазол утиче на контрактилност десне коморе само када је ендокардни ендотел очуван, па се претпоставља да је ефекат имидазола посредован синтезом и ослобађањем ендотелних медијатора.

Закључак Очувани ендокардни ендотел је неопходан за остваривање контрактилних перформанси срца.
Кључне речи: ендокардни ендотел; циклични аденозинмонофосфат; фосфодиестераза; теофилин; имидазол

УВОД

Ендокардни ендотел (ЕЕ) је природна биолошка баријера између циркулишуће крви у коморама и ћелија срца. Ћелије ЕЕ стварају слој тесно повезаних ћелија са централним једарним испупчењем и опсежним међућелијским спојевима. Оваква грађа омогућава му јединствена пермеабилна својства. Трансендотелна пропустљивост контролисана је преобладањем једне тесне везе или више њих (енгл. *tight junction*), добро организованих причвршћујућих веза (лат. *zonula adherens*) и бројних, структурно сложених пукотинастих веза (енгл. *gap junction*). Сматра се да се тесне везе увек налазе на луминалној страни у међућелијским пукотинама између ендокардних ћелија [1].

Електрофизиолошка мерења протока струје показала су да су ендокардне ћелије електрично и морфолошки повезане везама сличним пукотинастим [2, 3]. Обиље пукотинастих веза сугерише да ћелије ЕЕ имају блиске електрохемијске везе међусобно и овај тип веза обезбеђује веома брзу међућелиј-

ску електрохемијску повезаност и функционалну особину ЕЕ да активација једне његове ћелије доводи до активације свих. Имунохистохемијским бојењима показано је да су пукотинасте везе канали за пролаз јона, молекула секундарних гласника и малих метаболита између суседних ендотелних ћелија, па ЕЕ можемо да посматрамо као синцицијум с јаким електрохемијским везама [4, 5].

Електрофизиолошке студије указале су на постојање великог броја јонских канала у ћелијској мембрани (улазно-исправљачки K^+ канали, Ca^{2+} сензитивни K^+ канали, волтажно-зависни K^+ канали, волумен-зависни Cl^- канали, тзв. *stretch* активисани катјонски канали) и један носачем посредовани транспорт (Na^+/K^+ АТП-аза) [3]. Трансцелуларни јонски транспорт од крви до кардиомиоцитног интерстицијума одвија се пасивном дифузијом кроз јонске канале и преко активног транспорта зависног од носача.

Ендотелне ћелије срца синтетичу и ослобађају различите аутокрине и паракрине трансмитере који директно утичу на срчани метаболизам, раст и контрактилност

Correspondence to:

Sonja SMILJIĆ
Požeška 93/25, 11000 Beograd
Srbija
srna@eunet.rs

кардиомиоцита. Синтеза, лучење и активност ендотелних медијатора је уско повезана. Ендокрина улога ЕЕ огледа се у способности синтезе ендотелних медијатора: азот-оксида (*NO*), ендотелина 1 (*ET1*), простагландина (*PG*) и ангиотензина (*ATI*) [6].

Модификатори метаболизма цикличних нуклеотида

Унутарћелијски сигнали играју важну улогу у контролисању физиолошких и патофизиолошких одговора ћелије. Циклични 3,5-аденозинмонофосфат (*cAMP*) и циклични 3,5-гуанозинмонофосфат (*cGMP*) први су описани секундарни гласници. У сарадњи с унутарћелијским Ca^{2+} и инозитол-трифосфатом (*IP₃*) организују унутарћелијску сигнализацију. Променом метаболизма *cAMP*, стимулацијом или инхибицијом аденилилциклазе, односно цикличне фосфодиестеразе (*PDE*), може се очекивати и промена концентрације цикличних нуклеотида у ћелији, што се највероватније одражава и на његове ефекте у њој. Активност *PDE* је стотину пута већа од активности аденилилциклазе [7].

Суперфамилија фосфодиестераза чини једанаест фамилија: од *PDE1* до *PDE11*. *PDE1-PDE6* су прве добро описане изоформе, али њихов специфичан допринос функцији ткива и патофизиологији остаје отворено поље за истраживања. Ово се посебно односи на новооткривене фамилије *PDE7-PDE11*, чије улоге још нису утврђене [7]. Биохемијска изолација и хистохемијске студије су указале на то да су у ткиву срца, поред њихове цитозолне дистрибуције, *PDE2*, *PDE3* и *PDE4* везане и за сарколему. Ове три изоформе *PDE* показују највећу активност у ћелијама срца, што је покренуло развој њихових инхибитора, односно нових негликозидних и несимпатомиметичких кардиотоничних агенаса у лечењу слабости срца. Познато је да у кардиоваскуларном систему повећање нивоа *cAMP* изазива позитиван инотропни ефекат срца и вазорелаксацију [7, 8].

Метилксантини (теофилин, теобромин, кофеин) су неселективни инхибитори *PDE*. Теофилин је први описани метилксантин који инхибира *PDE*, а деценију касније синтетисан је аналог ксантина, 1-метил-3-изобутилксантин (*IBMX*), са стотину пута потентнијим ефектом од теофилина. Поред тога што инхибирају *PDE*, неки метилксантини су и антагонисти пуринских рецептора, што је делимично узрок њиховог релаксантног деловања на глатки мишић. Теофилин је у терапијским концентрацијама потентни инхибитор аденозинских рецептора и самим тим инхибира деловање интравенски примењеног аденозина [9, 10]. Теофилин, као антагонист аденозинских рецептора, спречава инотропни и хронотропни ефекат флуоксетина [11, 12]. Метилксантини повећавају контрактилност миокарда путем инхибиције *PDE* и антагонизмом према A_2 -рецепторима и потенцирају инотропно деловање стимулатора аденилилциклазе [13].

Имидазол остварује позитиван инотропни ефекат на дозно-зависан начин. Подаци у литератури о меха-

низму деловања имидазола су опречни. Роза (*Rózsa*) [14] сматра да имидазол као стимулатор активности *PDE* утиче на смањење унутарћелијског нивоа *cAMP* у кардиомиоцитима и умањује инотропни одговор. Међутим, имидазол у перфундованом срцу заморца не мења базални ниво *cAMP* и повећава контрактилност срца. Сугерише се да имидазол мења флукс Ca^{2+} повећавајући пермеабилност мембране за овај јон. Имидазол појачава кардиотоксично дејство калцијум-хлорида, има проаритмогени ефекат, доводи до фибрилације комора и појачава аритмије срца изазване убаинном [15]. Иначе, имидазол је хетероциклично ароматично органско једињење прстенасте структуре која му обезбеђује значајна биолошка својства. Имидазолски прстен је основа у синтези лекова који припадају азолима, бензнидазолу и 7-нитроинданзолу. Дериват имидазола 7-нитроинданзол инхибира активност неуралне синтазе *NO* (*nNOS*) и смањује ниво *NO* у ткивима [13]. Такође, остварује инхибиторни ефекат у синтези тромбосана A_2 код мишева нормалног крвног притиска [16].

Бета-адренергички агонисти и инхибитори *PDE3* традиционално се користе у лечењу акутне декомпензоване инсуфицијенције срца, а остварују своје дејство кроз повећање нивоа *cAMP* у миоцитима и последично повећање унутарћелијске концентрације Ca^{2+} [11]. Фармаколошки развој инхибитора *PDE* за циљна специфична ткива, као што је васкуларни глатки мишић, и засад може имати клиничку примену у лечењу повишеног артеријског крвног притиска. Механизам вазорелаксације као вишеструки процес може бити индукован путем акумулације цикличних нуклеотида, инхибиције *PDE* и активацијом K^+ канала [12].

ЦИЉ РАДА

Циљ истраживања је био да се утврди значај очуваног ЕЕ за контрактилност десне коморе срца и утицај модификатора метаболизма цикличних нуклеотида на контрактилност срца с очуваним и уклоњеним ЕЕ.

Ендотел је данас признат као масиван, регионално специфичан, мултифункционални орган. Дата му је стратегијска анатомска локација између компонента циркулишуће крви и васкуларне глатке мускулатуре или срчане мускулатуре, а то је биолошки значајна површина, чија дисфункција може бити критичан фактор у различитим патолошким условима. Хипотеза да ЕЕ може бити укључен у модулацију инотропног одговора срца на одређене активне супстанце била је циљ многих истраживачких тимова.

МЕТОДЕ РАДА

Избор и припрема животиња за експеримент

У експерименту су коришћени одрасли пацови соја *Wistar albino* оба пола, телесне масе 200 ± 10 g. До експеримента животиње су чуване у условима оптималне

температуре и контролисане дневне светлости. Хра-на и вода давани су према потреби. Током тог перио-да нису уочени знаци болести, нити промене понаша-ња иједне животиње.

Експериментални поступак

Сви експерименти су изведени на препаратима десне коморе срца пацова кроз два експериментална моде-ла. Препарати су припремани тако што су експеримен-талне животиње жртвоване ударцем у потиљак, брзо је отворан грудни кош, срце вађено из грудног коша и потапано у Петријеву шољу у којој се налазио Ти-родов (Tyrode) раствор следећег састава (вредности су дате у $mmol/l$): $NaCl$ 136,9, KCl 2,69, $CaCl_2$ 1,8, $MgCl_2$ 1,05, $NaHCO_3$ 11,9, NaH_2PO_4 0,42 и глукоза 5,55. Затим се приступило пажљивом одвајању десне коморе од осталих делова срца. Након препарисања, изолована десна комора је фиксирана у чизмасту електроду од плексигласа која је постављена у водено купатило за изоловане органе запремине 25 ml, такође напуњено Тиродовим раствором оксигенисаним мешавином га-сова (95% O_2 и 5% CO_2), вредношћу pH од 7,4 и темпе-ратуре од $37 \pm 0,5^\circ C$, што је проверавано на почетку и током сваког појединачног експеримента.

Код другог експерименталног модела је након пре-парисања десне коморе одстрањен ЕЕ потапањем пре-парата у једнопроцентни раствор Triton X-100 у Кребс-Рингеровом (Krebs-Ringer) раствору температуре $20^\circ C$. У раствору Triton X-100 комора је држана само један секунд, а затим је вађена и обилно испирана са 500 ml Тиродовог раствора загрејаног на $35^\circ C$ [17]. Код свих експерименталних група третираних једнопроцент-ним раствором Triton X-100 изостанак ЕЕ хистолош-ки је потврђен.

Изолована комора у воденом купатилу је стимули-сана путем пара платинастих електрода. Контракци-је су изазиване правоуглим струјним импулсима фре-квенције 1 Hz, интензитетом два пута већим од пра-говног и трајања од 5 ms, а преношене путем изоме-тријског трансдјусера (осетљивост $0,05 g/cm$) на микро-динамометар (7050, Ugo Basile). Експеримент је за све експерименталне групе трајао 90 минута, а у целости је урађен у специјализованој експерименталној лабо-раторији на Институту за физиологију Медицинског факултета у Београду.

Експерименталне групе

Експеримент је постављен кроз два експериментална модела: препарат десне коморе срца пацова с очува-ним ЕЕ и препарат десне коморе срца пацова с укло-њеним ЕЕ. Истраживањем је обухваћено шест група – две контролне и четири експерименталне. Сваку гру-пу је чинило седам експерименталних животиња. Пр-ва контролна група представљена је препаратима де-сне коморе с очуваним ЕЕ, а друга препаратима с укло-

њеним ЕЕ. Код четири експерименталне групе, поде-љене на две подгрупе са ЕЕ и две без ЕЕ, испитиван је инотропни ефекат фармаколошких супстанци теофи-лина и имидазола. Стабилизациони период за изоло-вану десну комору у воденом купатилу, стимулисану електричним импулсима, био је 30 минута. После тог времена додавана је испитивана супстанца и њен ино-тропни утицај праћен је током следећих 60 минута.

Супстанце

У експериментима су примењене активне супстан-це произвођача Sigma Chemical (St. Louis, USA): тео-филин (theophylline, $10^{-2} mol/l$) и имидазол (imidazole, $2 \times 10^{-3} mol/l$). Активне супстанце су примењене у мак-сималним ефективним дозама, што је утврђено нашим експериментима који су претходили овом истраживању.

Анализа података

Примарно добијени подаци анализирали су графич-ким методама, дескриптивним статистичким мето-дама (аритметичка средина, стандардна девијација) и методама за испитивање хипотеза. Вредности аритме-тичких средина и стандардних девијација амплитуда контракција за све испитиване групе представљене су графички у виду временског линијског дијаграма. Раз-лике између измерених вредности амплитуде у датом времену мерења и амплитуде на иницијалном мерењу анализиране су Студентовим t -тестом за зависне узор-ке. Разлике између испитиваних група и процентуалне промене података анализиране су Студентовим t -те-стом за независне узорке. Испитивање статистичких хипотеза обављено је на нивоу значајности од 0,05.

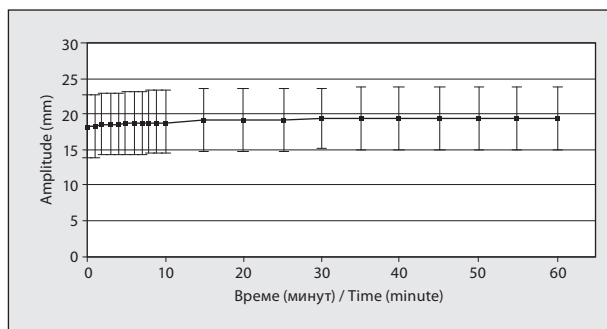
РЕЗУЛТАТИ

Приказ резултата обухвата промену вредности ампли-туде контракција десне коморе срца пацова по приме-ни испитиване активне супстанце. Добијене вредности амплитуде контракција за све испитиване групе при-казане су линијским дијаграмом кроз средњу вредност и стандардну девијацију.

Контролне групе

Вредност амплитуде контракција десне коморе срца пацова са ЕЕ код прве контролне групе на крају ста-билизационог периода била је 18 mm и није се значај-но мењала до краја експерименталног периода (Гра-фикон 1).

Вредност амплитуде контракција контролне гру-пе без ЕЕ на крају стабилизационог периода била је 7 mm и на тој вредности се одржавала до краја експери-мента (Графикон 2).

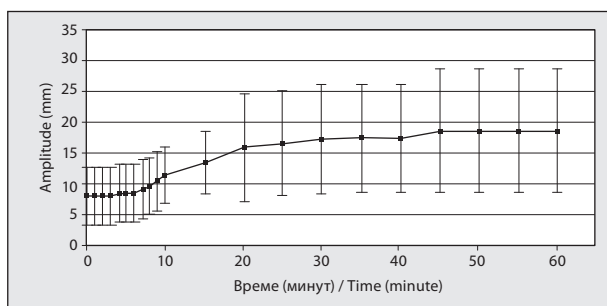


Графикон 1. Амплитуде контракција десне коморе срца пацова с очуваним ендокардним ендотелом (контролна група)
Graph 1. Contraction amplitude of rat heart right ventricle with intact endocardial endothelium (control group)

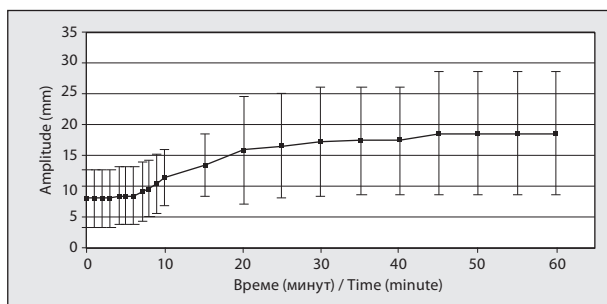
Вредности амплитуде контракција у контролној групи без ЕЕ за 60% су биле мање од вредности амплитуде контракција у контролној групи са ЕЕ. Испитивањем разлика између вредности амплитуда контракција у групи са ЕЕ и групи без ЕЕ потврђена је статистички значајна разлика између две испитиване контролне групе ($p < 0,05$). Очуван ЕЕ неопходан је у остваривању оптималне контрактилности кардиомиоцита.

Групе са примењеним теофилином

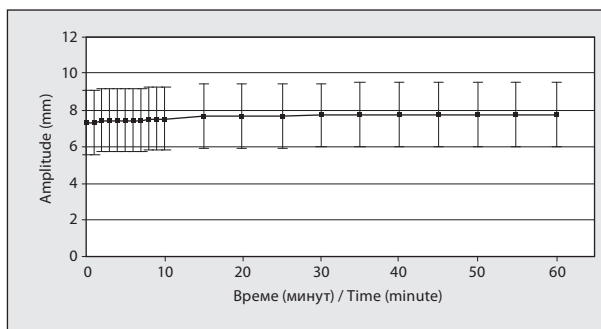
Теофилин примењен у концентрацији од 10^{-2} mol/l у групи с очуваним ЕЕ изазвао је повећање амплитуде контракција срца. Максималан ефекат је постигнут у



Графикон 3. Амплитуде контракција десне коморе срца пацова с очуваним ендокардним ендотелом након примене теофилина у дози од 10^{-2} mol/l
Graph 3. Contraction amplitude of rat heart right ventricle with intact endocardial endothelium after application of theophylline 10^{-2} mol/l



Графикон 4. Амплитуде контракција десне коморе срца пацова с уклоњеним ендокардним ендотелом након примене теофилина у дози од 10^{-2} mol/l
Graph 4. Contraction amplitude of rat heart right ventricle with removed endocardial endothelium after application of theophylline 10^{-2} mol/l

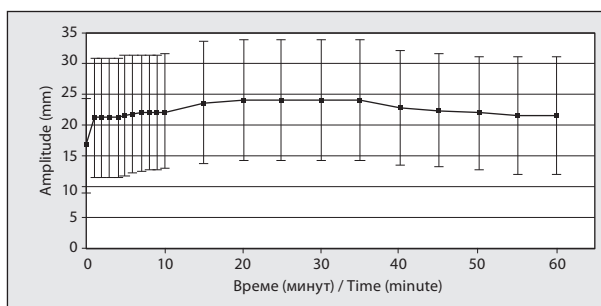


Графикон 2. Амплитуде контракција десне коморе срца пацова с уклоњеним ендокардним ендотелом (контролна група)
Graph 2. Contraction amplitude of rat heart right ventricle with removed endocardial endothelium (control group)

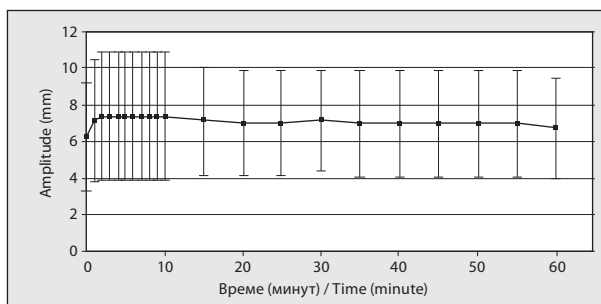
45. минути и за 87% је био већи од вредности на крају стабилизационог периода. Постигнута вредност амплитуде контракција одржавала се до краја посматраног периода (Графикон 3).

Код непостојања ЕЕ теофилин (10^{-2} mol/l) је изазвао повећање контрактилности које је било значајно од деветог минута, са максималним ефектом у 45. минути, и одржавала се до краја експерименталног периода ($p < 0,05$) (Графикон 4).

Анализом значајности разлике између група на сваком појединачном мерењу утврђено је да постоји разлика у одговору на теофилин у првих шест минута примене. Од седмог минута до краја посматраног периода од 60 минута није било разлике у инотропном одговору срца на теофилин ($p > 0,05$).



Графикон 5. Амплитуде контракција десне коморе срца пацова с очуваним ендокардним ендотелом након примене имидазола у дози од 2×10^{-3} mol/l
Graph 5. Contraction amplitude of rat heart right ventricle with intact endocardial endothelium after application of imidazole 2×10^{-3} mol/l



Графикон 6. Амплитуде контракција десне коморе срца пацова с уклоњеним ендокардним ендотелом након примене имидазола у дози од 2×10^{-3} mol/l
Graph 6. Contraction amplitude of rat heart right ventricle with removed endocardial endothelium after application of imidazole 2×10^{-3} mol/l

Групе са примењеним имидазолом

Имидазол у концентрацији од 2×10^{-3} mol/l у групи с очуваним ЕЕ довео је до значајног повећања амплитуде контракција у првој минути након додавања, и то за 26%. Максимално повећање амплитуде од 46% наступило је у 20. минути, одржавало се до 40. минута, а након тога амплитуда је благо опадала и на крају посматраног периода је била за 29% већа од почетне (Графикон 5).

Имидазол нема утицај на контрактилност десне коморе срца пацова без ЕЕ. Промена амплитуде контракција након примене имидазола била је максимално 14%. То се не може сматрати значајном променом, што је и статистички потврђено ($p > 0,05$) (Графикон 6).

Миокард срца пацова показује другачији инотропни одговор на имидазол у зависности од очуваности ЕЕ ($p < 0,05$). Између добијених вредности амплитуда у групи са ЕЕ и групи без ЕЕ забележена је статистички значајна разлика на свим мерењима ($p < 0,05$).

ДИСКУСИЈА

Модулаторна улога ЕЕ на перформансе срца (метаболизам, раст, контрактилност и ритмичност) изузетно је значајна. Снага контракције срца директно је зависна од постојања ЕЕ. Утицај појединих трансмитера или лекова на контрактилност срца условљен је стањем очуваности ЕЕ. Ефекти лекова на срце разликују се у зависности од тога да ли је ЕЕ очуван, делимично оштећен или потпуно уклоњен. ЕЕ остварује своју улогу путем синтезе и ослобађања аутокриних, односно паракриних медијатора, сензорном способношћу да открије промене у крвној плазми и особином крвно-срчане баријере која је одговорна за контролу трансендотелног транспорта молекула и јона између крви и кардијалног интерстицијума [1, 6].

Метилксантини повећавају снагу контракције срца, имају позитивно хронотропно дејство и утичу на појаву екстрасистола и вентрикуларних аритмија [18]. Директним деловањем на крвне судове метилксантини изазивају вазодилатацију и хипотензију. Теофилин је неселективни инхибитор *PDE*, ензима који су убиквитарни за све ћелије сисара. Досад је у ендотелним ћелијама идентификована само изоформа *PDE2*, док у кардиомиоцитима постоје многе изоформе *PDE*. Утицај теофилина на повећање контрактилности миокарда индукован је инхибицијом активности *PDE*, акумулацијом унутарћелијског *sAMP* и јона Ca^{2+} . Теофилин повећава осетљивост ријанодинских (*RyR*) рецептора, што узрокује ослобађање Ca^{2+} из саркоплазматског ретикулума и при нормалним вредностима Ca^{2+} . Своје ефекте теофилин испољава не само путем инхибиције *PDE*, већ и способношћу да блокира рецепторе за аденозин. Данас је могуће објаснити позитиван инотропни ефекат теофилина захваљујући његовој особини да се везује за адено-

зинске рецепторе, посебно кардијалне A_2 рецепторе. Наиме, метилксантини и аденозин испољавају компетицију за иста рецепторска места и остварују своје ефекте преко четири типа рецептора: A_1 , A_{2A} , A_{2B} и A_3 . Ови рецептори везани су за G-протеине и активација A_{2A} и A_{2B} рецептора повећава ниво *sAMP* у ћелији, а активација A_1 и A_3 смањује концентрацију *sAMP* у ћелији [19, 20].

Примена теофилина у концентрацији од 10^{-2} mol/l у групи с очуваним ЕЕ остварује позитиван инотропни ефекат који је значајан на свим мерењима и са максимумом вредности амплитуде контракција у 45. минути за 89% изнад базалне вредности. У групи са уклоњеним ЕЕ теофилин изазива позитиван инотропни ефекат, статистички значајан од десетог минута до краја посматраног периода и са максималном вредношћу амплитуде у 45. минути. Позитиван инотропни ефекат теофилина на срце не разликује се значајно између испитиваних група ($p > 0,05$), односно очуваност ЕЕ није значајна за ефекат теофилина. Подаци из нашег истраживања корелирају с релевантним подацима из литературе [9, 21].

Примена имидазола у концентрацији од 2×10^{-3} mol/l у групи с очуваним ЕЕ изазива повећање вредности амплитуде контракција која је била највећа у 20. минути за 46%. Након постигнутог максимума снага контракције лагано опада, али до краја посматраног периода остаје повећана ($p < 0,05$). Код изостанка ЕЕ имидазол не испољава значајан инотропни ефекат, али изазива благо повећање контрактилности које је максимално у другом минути након примене ($p > 0,05$). Постоји значајна разлика на свим мерењима између испитаних група, те је улога ЕЕ у инотропном ефекту имидазола очигледна.

Значајан позитиван инотропни ефекат имидазола који смо добили у нашем истраживању сличан је резултатима других аутора [10], који наводе да имидазол у перфундованом срцу заморца не мења базални ниво *sAMP* иако повећава контрактилност срца. Имидазол највероватније свој позитивни инотропни ефекат испољава повећавајући пермеабилност за јоне Ca^{2+} . Осим тога, сматрамо да имидазол може остварити ефекат путем стимулације или инхибиције синтезе и ослобађања ендотелних медијатора. Познато је да имидазол инхибира синтезу тромбосана [16], док његови деривати инхибирају активност *nNOS* [22, 23]. Ендотелне ћелије луче медијаторе који модулирају контрактилни одговор кардиомиоцита, а сигнал за њихово ослобађање или синтезу јесте повећана концентрација Ca^{2+} , која је последица ослобађања Ca^{2+} из унутарћелијских складишта и инфлуksа Ca^{2+} . Изостанак инотропног ефекта имидазола након уклањања ЕЕ може бити последица и поремећене јонске хомеостазе субендокардног интерстицијума. У литератури се не могу наћи подаци о ефектима имидазола на срце након уклањања ЕЕ, те је у том погледу овај рад пионирски.

Циклични *AMP* се хидролизује унутар ћелије под утицајем цикличне *PDE*, ензима које инхибирају лекови попут метилксантина. Постоје различите ткивно-

специфичне изоформе *PDE*, а селективни инхибитори или стимулатори овога ензима, као и стимулатори аденил-циклазе имају све већу примену у лечењу кардиоваскуларних обољења. У основи многих патолошких процеса налази се поремећај унутарћелијске сигнализације, првенствено промене у активности *PDE*. Данас су истраживања усмерена ка откривању и синтетисању потентних лекова који би потенцијално могли да очувају хомеостазу у ћелијама [24, 25].

ЗАКЉУЧАК

На основу добијених резултата електрично стимулисане и хемијски третиране десне коморе срца пацова донесени су следећи закључци:

1. Очувани ЕЕ је неопходан за остваривање контрактилних перформанси срца. Контрактилност срца с уклоњеним ЕЕ је за 60% мања него код срца с очуваним ЕЕ ($p < 0,05$);
2. Теофилин испољава позитиван инотропни ефекат на срце независно од постојања ЕЕ ($p > 0,05$);
3. Модулаторна улога ЕЕ у инотропним ефектима имидазола је значајна ($p < 0,05$).
4. Несумњива је важност модулаторне улоге ЕЕ у остваривању ефеката испитиваних супстанци. Такође, утицај ЕЕ је изузетно значајан у одржавању перформанси срца. Све ћелије ЕЕ понашају се јединствено као функционални синцијум и остварују сложену, усаглашену аутокрينو и паракрино посредовану физичкохемијску баријеру између циркулишуће крви и суседног ткива срца.

ЛИТЕРАТУРА

1. Brutsaert DL. Cardiac endothelial-myocardial signaling: its role in cardiac growth, contractile performance, and rhythmicity. *Physiol Rev.* 2003; 83(1):59-115.
2. Andries LJ, Brutsaert DL. Endocardial endothelium in the rat: junctional organization and permeability. *Cell Tissue Res.* 1994; 277(3):391-400.
3. Franssen P, Hendrix J, Brutsaert DL, Sys SU. Distribution and role of Na^+/K^+ ATPase in endocardial endothelium. *Cardiovasc Res.* 2001; 52(3):487-99.
4. Beny JL. Information networks in the arterial wall. *NIPS.* 1999; 14:68-73.
5. Abdel-Samad D, Jacques D, Perreault C, Provost C. NPY regulates human endocardial endothelial cell function. *Peptides.* 2007; 28(2):281-7.
6. Kuruvilla L, Kurtha CC. Molecular mechanisms in endothelial regulation of cardiac function. *Mol Cell Biochem.* 2003; 253(1-2):113-23.
7. Lugnier C. Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) superfamily: a new target for the development of specific therapeutic agents. *Pharmacol Ther.* 2006; 109(3):366-98.
8. Yanaka N, Kurosawa Y, Minami K, Kawai E, Omori K. cGMP-phosphodiesterase activity is up-regulated in response to pressure overload of rat ventricles. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2003; 67(5):973-9.
9. Boswell-Smith V, Spina D, Page CP. Phosphodiesterase inhibitors. *Br J Pharmacol.* 2006; 147(1):S252-7.
10. De Mello CW. Effect of phosphodiesterase inhibitors and dBcAMP on the inotropic and relaxing actions of histamine in cardiac muscle. *Eur J Pharmacol.* 1977; 45(2):153-63.
11. Cary DA, Mendelsohn FAO. Effects of forskolin, isoproterenol and IBMX on angiotensin converting enzyme and cyclic AMP production by cultured bovine endothelial cells. *Mol Cell Endocrinol.* 1987; 53(1-2):103-9.
12. Wu BN, Chen IC, Lin RJ, Chiu CC, An LM, Chen JJ. Aortic smooth muscle relaxants KMUP-3 and KMUP-4, two nitrophenylpiperazine derivatives of xanthine, display cGMP-enhancing activity: roles of endothelium, phosphodiesterase, and K^+ channel. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2005; 46(5):600-8.
13. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. *Farmakologija.* Beograd: Data status; 2005.
14. Rózsa KS. Relation of the second messenger system to the electrogenesis and regulation of the contraction in the heart cell membrane of insecta. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol.* 1974; 49(1A):81-8.
15. Filippelli A, Cuparencu B, Berrino L, Tomus C, Rossi F. The influence of imidazole administration on arrhythmias induced by potassium chloride, calcium chloride, and ouabain in isolated guinea pig hearts. *Current Therapeutic Research.* 1994; 55(1):43-50.
16. Hably C, Gyorvary Z, Bartha J. Change of organ blood flow and cardiac output after imidazole administration. *Acta Physiol Hung.* 1994; 82(2):163-73.
17. Brutsaert DL, Meulemans AI, Spido KR, Sys SU. Effects of damaging the endocardial surface on the mechanical performance of isolated cardiac muscle. *Circ Res.* 1988; 62:358-66.
18. Varagić V, Milošević M. *Farmakologija.* Beograd: Elit-Medica; 2004.
19. Houslay MD, Adams DR. PDE4 cAMP phosphodiesterases: modular enzymes that orchestrate signalling cross-talk, desensitization and compartmentalization. *Biochem J.* 2003; 370(Pt 1):1-18.
20. Gonzalez-Muñoz C, Fuente T, Hernandez-Cascales J. Phosphodiesterases inhibition unmask a positive inotropic effect mediated by β_2 -adrenoceptors in rat ventricular myocardium. *Eur J Pharmacol.* 2009; 607(1-3):151-5.
21. Lo YC, Tsou HH, Lin RJ, Wu DC, Wu BN, Lin YT, et al. Endothelium-dependent and -independent vasorelaxation by a theophylline derivative MCPT: roles of cyclic nucleotides, potassium channel opening and phosphodiesterase inhibition. *Life Sci.* 2005; 76(8):931-44.
22. Crespo Otero R, Bravo Rodriguez S, Suardiaz R, Montero LA, De La Vega JMG. Theoretical study of imidazole...NO complexes. *J Phys Chem A.* 2009; 113(52):14595-605.
23. Brunner F, Andrew P, Wolkart Z, Zechner R, Mayer B. Myocardial contractile function and heart rate in mice with myocyte-specific overexpression of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation.* 2001; 104(25):3097-102.
24. Osadachii O, Norton G, Woodwiss A. Inotropic responses to phosphodiesterase inhibitors in cardiac hypertrophy in rats. *Eur J Pharmacol.* 2005; 514(2-3):201-8.
25. Perrone VS, Kaplinsky JE. Calcium sensitizer agents: a new class of inotropic agents in the treatment of decompensated heart failure. *Int J Cardiol.* 2005; 103(3):248-55.

Influence of Metabolism Modifiers of Cyclic Nucleotides on Contractility of Right Ventricle of Rat Heart with Intact and Removed Endocardial Endothelium

Sonja Smiljić¹, Dragica Radović¹, Milanka Miletić¹, Vojkan Nestorović¹, Goran Trajković², Sladjana Savić³

¹Institute of Physiology, School of Medicine, Kosovska Mitrovica;

²Institute of Medical Statistics and Informatics, Faculty of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

³Institute of Histology, School of Medicine, Kosovska Mitrovica

SUMMARY

Introduction Endocardial endothelium, a natural biological barrier between circulating blood in heart ventricle and cells, creates a complex yet finely tuned balance of interactions with the immediate environment.

Objective We investigated the roles of theophylline, nonspecific phosphodiesterase inhibitor, and imidazole, an activator of phosphodiesterase on contractility of the right ventricle of rat heart, with intact and removed endocardial endothelium.

Methods Adult rats, of both sexes, type Wistar albino, were used in this experiment. All experiments were conducted on the preparations of the right ventricle using two experimental models. In the first experimental model, an endocardial endothelium (EE) was preserved, and in the second model, an endocardial endothelium (-EE) was removed using 1% solution Triton X-100.

Results Theophylline (1×10^{-2} mol/l) expressed the positive inotropic effect on the heart, regardless of the presence of the endocardial endothelium. Inotropic response as multiple process can be induced by inhibition of phosphodiesterase, accumulation of cyclic nucleotides and activation of Ca^{2+} channels. Imidazole (2×10^{-3} mol/l) increased the contractility of the right ventricle of the heart with EE. The modulator effect of endocardial endothelium on contractility of imidazole proved to be significant. As imidazole influenced the contractility of the right ventricle only in the presence of the endocardial endothelium, it is assumed that its effect is mediated via deliverance of endothelial mediators with positive inotropic effect.

Conclusion An intact endocardial endothelium is necessary for completion of contractile performance of the heart.

Keywords: endocardial endothelium; cAMP; phosphodiesterase; theophylline; imidazole

Примљен • Received: 09/06/2009

Прихваћен • Accepted: 16/04/2010