
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**5-НТ2-РЕЦЕПТОРЫ И 5-ГИУК – ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ МИШЕНИ ОЦЕНКИ
ТЯЖЕСТИ, ПРОГРЕССИРОВАНИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ
У НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ САМЦОВ КРЫС В МОНОКРОТАЛИНОВОЙ
МОДЕЛИ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

© 2023 г. Д. Ф. Билалова^{1, *}, Р. Р. Нигматуллина¹, А. А. Мустафин^{1, 2}

¹Казанский государственный медицинский университет,
Казань, Республика Татарстан, Россия

²Детская республиканская клиническая больница МЗ РТ,
Казань, Республика Татарстан, Россия

*E-mail: Diana_bilalova@hotmail.com

Поступила в редакцию 01.03.2023 г.

После доработки 19.06.2023 г.

Принята к публикации 21.06.2023 г.

При легочной артериальной гипертензии подавление пролиферации эндотелиальных клеток сосудов и взаимодействие эндотелиальных с гладкомышечными клетками нарушены. Выявлено участие 5-НТ2a-рецепторов в митогенном действии на эндотелиальные, а 5-НТ2b-рецепторов на гладкомышечные клетки сосудов. Известно, что одним из основных органов, в котором происходит метаболизм серотонина, является легкое. В эндотелиальных клетках сосудов легких под действием фермента моноаминоксидазы А серотонин превращается в 5-гидроксииндолуксусную кислоту (5-ГИУК), которая впоследствии выводится с мочой. В настоящее время при лечении детей с легочной гипертензией не учитывается роль 5-НТ2-рецепторов. Нами модифицирована монокроталиновая модель легочной гипертензии для неполовозрелых крыс-самцов. Также разработана и апробирована схема введения блокатора 5-НТ2-рецепторов для профилактики и лечения легочной гипертензии у неполовозрелых крыс. В нашем исследовании выявлена положительная корреляция концентрации 5-ГИУК в моче со степенью легочной гипертензии, что может стать потенциальным маркером этого заболевания. Полученные данные свидетельствуют о развитии легочной гипертензии у неполовозрелых крыс самцов после однократного введения монокроталина в виде замещения легочной ткани фиброзной, развитием пневмосклероза и бронхоэктазов. Также у животных в данной модели формируются изменения структуры сердечной мышцы и сосудистой стенки с развитием фиброзной ткани, что может свидетельствовать о вовлеченности 5-НТ2-рецепторов в активацию фибробластов и соответственно в патогенез легочной гипертензии.

Ключевые слова: серотонин, легочная гипертензия, монокроталин, 5-НТ2a- и 5-НТ2b-рецепторы, неполовозрелые крысы, фиброз, 5-гидроксииндолуксусная кислота

DOI: 10.31857/S0869813923080022, **EDN:** NOKUOF

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время большое внимание уделяется изучению серотонинергической системы. Достаточно хорошо изучены молекулярные и клеточные механизмы синтеза серотонина [1, 2], его метаболизма [3, 4], рецепторного взаимодействия [5, 6].

Естественное подавление пролиферации эндотелиальных клеток сосудов и взаимодействие эндотелиальных с гладкомышечными клетками оказываются при легочной артериальной гипертензии нарушенными.

Нейрогормон серотонин — представитель биогенных аминов, синтезируется серотонинергическими нейронами в ЦНС, а на периферии — клетками APUD-системы кишечника. Содержание серотонина в плазме крови незначительно, его основное депо — тромбоциты, где концентрация этого гормона в сотни раз выше [7, 8]. Серотонин выделяется под влиянием стимулов, активирующих тромбоциты: тромбин, коллаген, сам серотонин. Активация тромбоцитов приводит к выбросу серотонина, который через 5-HT₂-рецептор, находящийся на мембране, приводит к активации других тромбоцитов [9, 10]. На мембране эндотелиальных клеток, так же, как и у тромбоцитов, имеется белок-переносчик (SERT), способный захватывать и накапливать серотонин в клетке. Выявлено митогенное влияние 5-HT_{2a}-рецептора на эндотелиальные клетки, 5-HT_{2b}-рецептора — на гладкомышечные клетки сосудов [11–13].

Широкий спектр эффектов серотонина объясняется наличием большого разнообразия серотониновых рецепторов [14, 15]. Синтезированы препараты с терапевтическим эффектом, основанным на стимуляции и блокаде серотониновых рецепторов [16, 17]. Выявлена эффективность блокаторов 5-HT₂-рецепторов в предупреждении развития легочной гипертензии у крыс [18].

Основным органом, метаболизирующим серотонин, является легкое. В эндотелиальных клетках сосудов легких под действием фермента моноаминоксидазы А серотонин превращается в 5-гидроксииндолуксусную кислоту (5-ГИУК), которая впоследствии выводится с мочой [12, 19, 20]. Исследования показывают причастность серотонина и его рецепторов в развитие хронической сердечной недостаточности и в морфофункциональном ремоделировании миокарда [10, 21, 22].

В настоящее время для лечения легочной гипертензии у пациентов детского возраста используется ограниченный спектр лекарственных препаратов, что частично обусловлено сложностью и дороговизной создания лабораторной модели легочной гипертензии на животных неполовозрелого возраста. На данный момент существует несколько лабораторных моделей, разработанных на новорожденных ягнятах [18, 23], однако данные модели сложны для воспроизведения и требуют специальных хирургических навыков, что может усложнять серийные исследования новых типов препаратов, их терапевтические эффекты и побочные действия на неполовозрелый возраст.

Целью нашего исследования является разработка доступной модели легочной гипертензии, методов диагностики и лечения у неполовозрелых крыс с позиций серотонинергической регуляции с возможностью дальнейшего применения данных методов у детей.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные животные

В работе были использованы крысы-самцы линии Wistar в возрасте 4 нед. массой тела 50–60 г, питомника “Пушино”. Крыс содержали в комнатах с контролируемыми параметрами микроклимата (температура 22–26°C, относительная влажность 30–70%, световой режим день/ночь). Клетки были снабжены решеткой из нержавеющей стали с углублением для корма, поликарбонатной поилкой с крышкой-ниппелем из нержавеющей стали. В качестве подстилки использовали “Лигноцель” (ООО “Реттенмайер-Рус”). Использовали полнорационный комбикорм для мелких лабораторных животных для конвекционного содержания “Чара” (ЗАО “Ассортимент-Агро”). Корм давали *ad libitum* в кормовое углубление клетки,

фильтрованную водопроводную воду — также *ad libitum* в поилках. Замену клетки с подстилом осуществляли один раз в три дня, решетки с аксессуарами — один раз в неделю. Бутылки с водой заменяли на новые один раз в два дня. Влажную уборку комнат, где содержали животных, проводили ежедневно. Все применяемые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Экспериментальные протоколы

Экспериментальные животные ($n = 60$) подразделялись на четыре группы: группы 1, 2, 3 включали крыс с однократным подкожным введением монокроталина (МСТ) (60 мг/кг): группа 1 (группа МСТ-контроль) получила однократное подкожное введение МСТ в дозе 60 мг/кг; группе 2 (МСТ-профилактика) предварительно вводили селективный блокатор 5-НТ_{2a}/5-НТ_{2c}-рецепторов — кетансерин в дозе 0.05 мг/кг, внутримышечно, за сутки до введения МСТ. Животным группы 3 (МСТ-лечение) вводили этот же блокатор дозе 0.05 мг/кг внутримышечно 1 раз в день на протяжении 4 нед., после введения МСТ. Группа 4 (контроль) ежедневно получала 0.9%-ный раствор NaCl подкожно (0.5 мл) без предварительного введения МСТ. Исследования каждой из групп проводились через 4 нед. после введения МСТ.

Метод иммуноферментного анализа (ИФА) для количественного определения 5-гидроксиндоуксусной кислоты (5-ГИУК) в моче

Количественное определение 5-ГИУК в моче проводилось с помощью набора для ИФА (IBL, Гамбург, Германия) в соответствии с инструкциями производителя. До проведения ИФА осуществлялось модифицирование 5-ГИУК метилированием. Набор ИФА для количественного определения 5-ГИУК основан на твердофазном конкурентном варианте ИФА. На поверхности лунок планшета (твердой фазе) иммобилизованы молекулы антигена. Молекулы модифицированной 5-ГИУК, содержащиеся в стандартах, контролях и исследуемых образцах, и иммобилизованные на твердой фазе конкурируют за ограниченное число центров связывания специфичных антител антисыворотки. После того, как реакция связывания достигнет равновесия, несвязавшиеся с твердой фазой антигены и комплексы “антиген—антитело” удаляются промывкой. Антитела, связавшиеся с иммобилизованным на твердой фазе антигеном, выявляются с помощью конъюгата — антител к IgG кролика, меченных пероксидазой. В качестве субстрата используется тетраметилбензидин. Интенсивность цветовой реакции измерялась при длине волны 450 нм. Количество 5-ГИУК в исследуемых образцах рассчитывалось по калибровочной кривой, построенной по известным концентрациям в стандартах. Моча для определения 5-ГИУК собиралась в индивидуальных метаболических клетках в объеме 200 мкл в герметичную пробирку. Образцы хранились при температуре -20°C до проведения анализа. У контрольной группы метод забора мочи не отличался.

Инвазивное измерение давления в легочной артерии

Давление в легочной артерии измеряли инвазивным путем. Предварительно животных анестезировали внутрибрюшинным введением 30%-ного раствора уретана в дозе 800 мг/кг. Искусственную вентиляцию легких обеспечивали мешком Амбу через введенную в ротовую полость интубационную трубку диаметром 2.5 мм с раздуваемой для герметичности манжетой. Послойно вскрывали грудную клетку с последующим разведением краев грудины для визуализации сердца и сосудистого пучка. Производили канюляцию легочной артерии катетером диаметром 24 G (Va-

sofix® Certo, B. Braun, США), соединенным с магистралью, заполненной жидкостью для передачи колебаний давления. Последующее снятие цифровых данных осуществляли с помощью системы мониторинга Infinity® Acute Care System (Dräger, Германия). Далее производился забор крови, из которой затем отделяли плазму.

Гистологическое исследование препаратов

После проведения инвазивного исследования давления в легочной артерии выделяли сердце и разделяли его на отделы. При выделении правого желудочка оценивался макропрепарат для определения степени гипертрофии миокарда. Материал фиксировали в забуференном формалине в течение 6–24 ч, после чего препараты заливали в парафин по стандартной схеме. На стекла с электроадгезивным покрытием фиксировали парафиновые срезы толщиной 3–4 мкм, приготовленные на микротоме (Microm HM 340E, Германия) из парафиновых блоков. Срезы подвергались депарафинированию и обезвоживанию посредством последовательной инкубации в толуоле — 2 смены по 5 мин, абсолютном этаноле — 2 смены по 5 мин, 95%-ном этаноле — 2 смены по 3 мин. Для определения морфологических изменений в структуре миокарда и сосудов проводилось стандартное окрашивание гематоксилином и эозином.

Для оценки развития и перестройки соединительной ткани сердца препараты окрашивали по Ван Гизону. При данном методе окрашивания коллагеновые и эластические волокна приобретают красный/ярко-розовый цвет, что позволяет количественно оценить их размеры на препарате.

Препарат миокарда правого желудочка, легочной артерии, легочной ткани фиксировался в парафин и проходил процесс депарафинизации по тому же принципу. Стекла со срезами переносились в дистиллированную воду. Далее происходила окраска железным гематоксилином Вейгерта в течение 3–15 мин, с последующим промыванием в проточной дистиллированной воде в течение нескольких минут. Следующий этап — это окраска красителем Ван Гизона в течение 5 мин, с последующей быстрой промывкой в дистиллированной воде (5–15 с). Срезы заключали в канадский бальзам после проведения через толуол и 96%-ный спирт. Время пребывания срезов в каждой порции составляло 1–2 мин. На микрофотографиях при помощи системы анализа изображений ImageJ количественно оценивались площади, окрашенные в красный/ярко-розовый цвет.

Статистический анализ

Результаты исследования подвергались статистической обработке с использованием программного комплекса Microsoft Office Excel 2010, Statistica V.10.0. Для проверки нормальности выборок использовался тест Колмогорова–Смирнова или Шапиро–Вилк (Shapiro–Wilk). Для дисперсионного анализа использовали тест ANOVA. Все результаты представлены в виде $M \pm SD$. Достоверность различий между средними величинами оценивалась по критерию Стьюдента. Различия считали статистически достоверными при $p < 0.05$. Корреляционный анализ между рассматриваемыми признаками проводился по методу Пирсона. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95%-ного доверительного интервала.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наиболее выраженные статистически значимые различия между группами отмечались по концентрации 5-ГИУК. У животных 1-й группы концентрации 5-ГИУК в

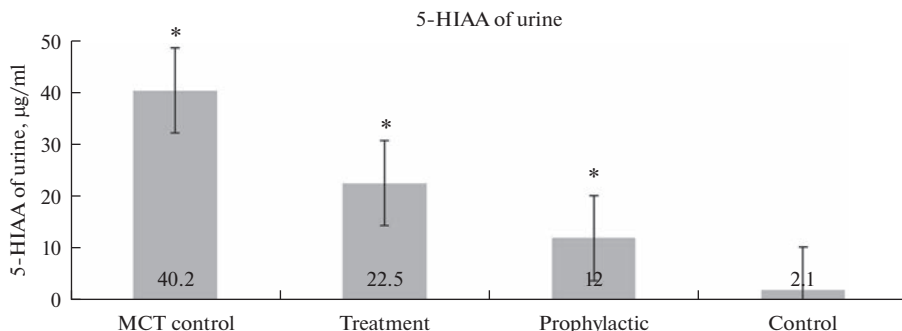


Рис. 1. Концентрация 5-ГИУК в моче у экспериментальных групп животных. * – $p < 0.001$.

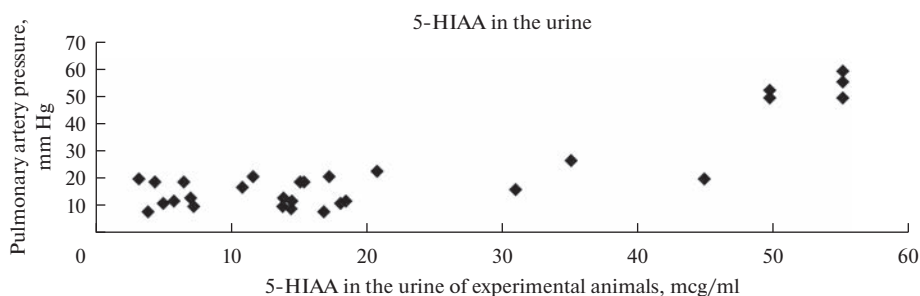


Рис. 2. Зависимость концентрации 5-ГИУК мочи крыс от давления в легочной артерии.

моче были максимальными и отличались от показателей 2-, 3-й и контрольной (4-й) группы в 2–4 раза ($p < 0.001$). У животных 2-й и 3-й группы уровень 5-ГИУК в моче был повышен относительно контрольной группы в 6–10 раз ($p < 0.05$) (рис. 1).

Полученные результаты показывают прямую положительную зависимость величины концентрации 5-ГИУК от степени легочной гипертензии (рис. 2).

При сравнительном анализе групп по уровню систолического артериального давления в легочной артерии были выявлены статистически значимые различия по уровню 5-ГИУК (рис. 3). В группе с выявленной легочной артериальной гипертензией уровень 5-ГИУК повышался более чем в 2 раза.

При гистологическом исследовании материалов выявлены статистически значимые различия степени развития фиброзной ткани. При исследовании легочной артерии выявлены статистически значимые различия в развитии фиброзной ткани между исследуемыми группами. У животных 1-й группы (МСТ-контроль) степень развития фиброзной ткани была максимальной и отличалась от показателей 2-й, 3-й и контрольной (4-й) групп в 2 раза ($p < 0.001$). У животных 2-й и 3-й групп (группы профилактики и лечения) в степени развития фиброзной ткани значимых межгрупповых различий не выявлено (рис. 4).

При оценке стенки легочной артерии 1-й группы выявлено снижение толщины мышечных волокон в 2 раза по сравнению с контрольной группой, однако статистически значимых различий между 1-й, 2-й и 3-й группами не выявлено (рис. 5).

В миокарде правого желудочка у животных 1-й группы (МСТ-контроль) степень развития фиброзной ткани была максимальной и отличалась от контрольной (4-й) группы в 3 раза ($p < 0.001$), от 2-й и 3-й групп в 2 раза ($p < 0.001$). У животных 2-й и 3-й групп степень развития фиброзной ткани достоверных различий не имела (рис. 6).

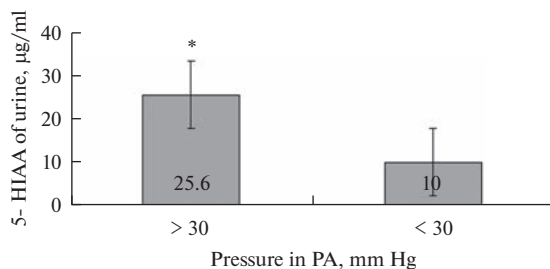


Рис. 3. Изменение концентрации 5-ГИУК в моче у крыс при нормальном и повышенном давлении в легочной артерии. * $p < 0.05$.

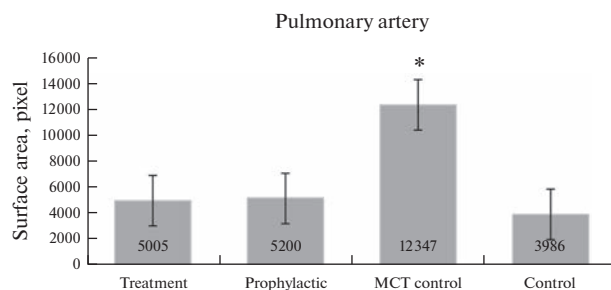


Рис. 4. Развитие фиброзной ткани в стенке легочной артерии при введении и без введения блокатора 5-HT_{2a/c}-рецепторов. * — $p < 0.001$.

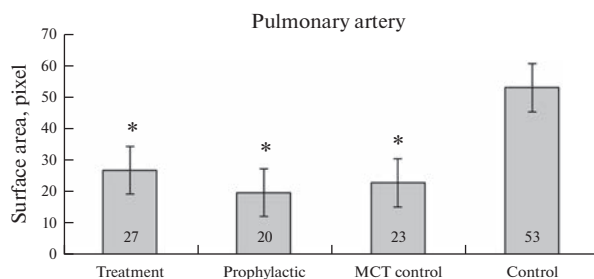


Рис. 5. Толщина волокон мышечного слоя в стенке легочной артерии при введении и без введения блокатора 5-HT_{2a/c}-рецепторов. * — $p < 0.001$.

При исследовании легочной ткани разделялись центральные и периферические отделы легких. Данные отделы отличались калибром сосудов, бронхов и плотностью легочной ткани. В тканях центрального отдела легких у животных 1-й группы (МСТ-контроль) степень развития фиброзной ткани была максимальной и отличалась от 2-й, 3-й и контрольной (4-й) групп в 4 раза ($p < 0.001$). У животных 2-й, 3-й и контрольной групп степень развития фиброзной ткани статистически значимых различий не имела (рис. 7а).

В тканях периферического отдела легких у животных 1-й группы (МСТ-контроль) степень развития фиброзной ткани была максимальной и отличалась от 2-й,

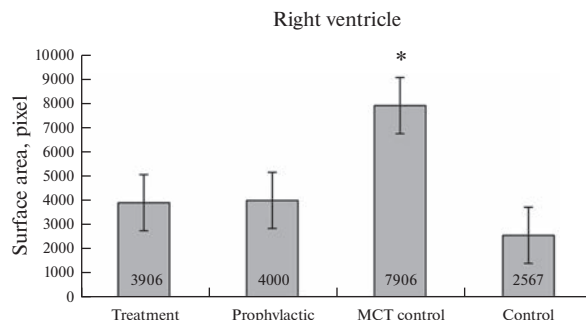


Рис. 6. Развитие фиброзной ткани в стенке правого желудочка при введении и без введения блокатора 5-НТ2а/с-рецепторов. * – $p < 0.001$.

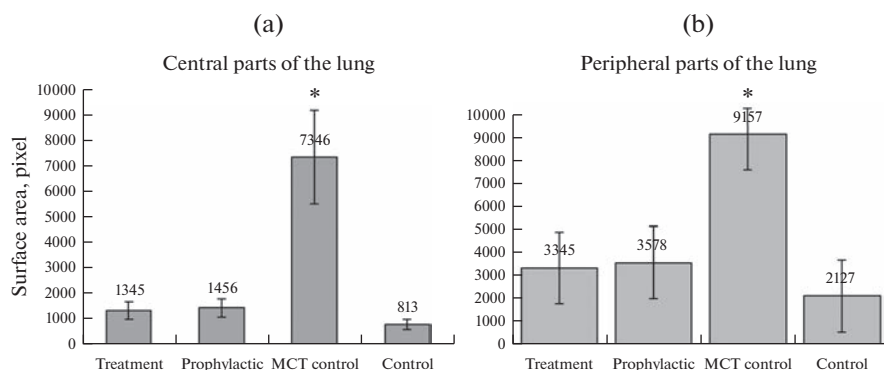


Рис. 7. Развитие фиброзной ткани в тканях легкого при введении блокатора 5-НТ2а/с-рецепторов с лечебной и профилактической целью. * – $p < 0.001$.

3-й и контрольной (4-й) групп в 4 раза ($p < 0.001$). В нижних отделах легких наблюдался выраженный склероз тканей с утолщением стенок сосудов и с формированием обширных бронхоэктазов (рис. 8а, б). У животных 2-й, 3-й и контрольной групп степень развития фиброзной ткани статистически значимых различий не имела (рис. 7а, б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Серотонинергическая система регуляции имеет непосредственное влияние на сердечно-сосудистую систему как в эмбриональном, так и в постнатальном развитии, что было хорошо изучено [11, 24]. В данном исследовании разработана доступная лабораторная модель легочной гипертензии в период интенсивного роста, то есть в пубертатном периоде онтогенеза животных. В проведенном исследовании показано статистически значимое снижение интенсивности развития легочной гипертензии и изменения легочной ткани путем исключения 5-НТ2а/5-НТ2с-рецепторов из патогенеза данного заболевания.

Наше исследование направлено на апробирование метода ранней диагностики легочной гипертензии, ее профилактики и лечения путем воздействия непосредственно на специфические рецепторы серотонина, вовлеченные в патогенез легочной гипертензии.

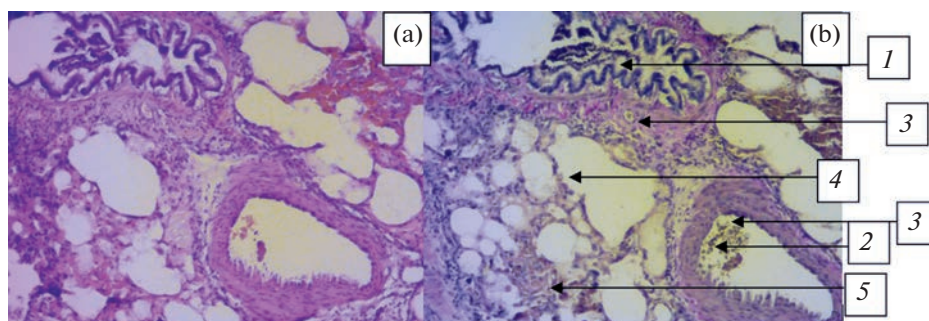


Рис. 8. Развитие фиброзной ткани, пневмосклероза, ателектазов в тканях легких после однократного введения монокроталина (группа МСТ-контроль). (а) — окраска гематоксилином и эозином; (б) — окраска по Ван Гизону. 1 — альвеола; 2 — сосуд; 3 — фиброзная ткань; 4 — ателектаз; 5 — пневмосклероз.

Анализ полученного материала свидетельствует о том, что потенциальными маркерами легочной гипертензии могут являться изменения концентрации 5-ГИУК в моче, которые имеют статистически значимую корреляцию со степенью легочной гипертензии. Данный метод диагностики является неинвазивным и легкодоступным в использовании, однако требует дальнейшего исследования его информативности на детях с легочной гипертензией. Полученные данные свидетельствуют о развитии легочной гипертензии у неполовозрелых крыс после однократного введения МСТ. Наблюдалось замещение легочной ткани фиброзной, развитие пневмосклероза и бронхоэктазов. Также происходило изменение структуры сердечной мышцы и сосудистой стенки с развитием фиброзной ткани, что может свидетельствовать о вовлеченности 5-НТ₂-рецепторов в активацию фибробластов и соответственно в патогенез легочной гипертензии. Изменение структуры сосудистой стенки с развитием фиброзной ткани может свидетельствовать о снижении функциональности сосудистой структуры, а именно снижении эластичности магистральных сосудов, что способствует увеличению давления в легочной артерии. Одновременно происходит утолщение сосудистой стенки за счет фиброзной ткани и гипоплазии мышечных волокон, что приводит к снижению проницаемости и способности к газообмену между легочной тканью и кровеносным руслом.

В приведенной модели легочной гипертензии у неполовозрелых крыс имеются структурные изменения, которые соответствуют продвинутой стадии легочной артериальной гипертензии в клинике, что позволяет предположить эффективность данной модели на практике.

Данные, полученные в результате введения селективного блокатора 5-НТ-рецепторов, позволяют сделать заключение о патогенетической составляющей серотонина в развитии легочной гипертензии и об эффективности лечения путем введения таргетной терапии.

Таким образом, можно предположить, что применение селективных блокаторов серотониновых рецепторов возможно расценивать в качестве специфической терапии легочной артериальной гипертензии, а предложенная модель может служить лабораторной моделью легочной гипертензии детского и подросткового возраста.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим

стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям локального этического комитета Казанского ГМУ, протокол № 3 от 22.03.2022. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-15-00417, <https://rscf.ru/project/23-15-00417/>.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии финансовых или иных конфликтов интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Разработка концепции работы и планирование эксперимента (А.А.М., Р.Р.Н., Д.Ф.Б.), сбор данных (Д.Ф.Б., А.А.М., Р.Р.Н.), обработка данных (А.А.М., Р.Р.Н., Д.Ф.Б.), написание и редактирование статьи (А.А.М., Р.Р.Н., Д.Ф.Б.). Авторы согласны нести ответственность за все аспекты работы, а также гарантируют, что все вопросы по достоверности и надежности любой части работы надлежащим образом проанализированы и решены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cooper DM, Bierlaning CL, Halford MK (1996) Serotonin. *Mol Pharmacol* 29(2): 113–119.
2. Cote F, Thevenot E, Fligny C (2004) Disruption of the nonneuronal *tph 1* gene demonstrates the importance of peripheral serotonin in cardiac function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 13525–13530.
3. Билич ИА, Хамитов ХС (1977) Ацетилхолин и серотонин в норме и патологии желудочно-кишечного тракта. Казань. Татарск. книжн. изд. 1977: 142. [Bilich IL, Khamitov KhS (1977) Acetylcholine and serotonin are normal and enter the gastrointestinal tract. Kazan. Tat. Publ House. 1977: 142. (In Russ)].
4. Gillis CN, Pitt BR (1982) The fate of circulating amines within the pulmonary circulation. *Annu Rev Physiol* 44: 269–281.
5. Choi DS, Maroteaux L (1996) Immunohistochemical localization of the serotonin 5-HT_{2B} receptor in mouse gut, cardiovascular system, and brain. *FEBS Lett* 391(1–2): 45–51.
6. Tournois C, Mutel V, Manivet P, Launay JM, Kellermann O (1998) Cross-talk between 5-hydroxytryptamine receptors in a serotonergic cell line. Involvement of arachidonic acid metabolism. *J Biol Chem* 273: 17498–17503.
7. Galiè N, Manes A, Branzi A (2004) Evaluation of pulmonary arterial hypertension. *Curr Opin Cardiol* 19(6): 575–581. <https://doi.org/10.1097/01.hco.0000142066.14966.85>
8. Hervé P, Launay JM, Scrobohaci ML, Brenot F, Simonneau G, Petitpretz P, Poubreau P, Cerrina J, Duroux P, Drouet L (1995) Increased plasma serotonin in primary pulmonary hypertension. *Am J Med* 99(3): 249–254.
9. Houkin K, Nakayama N, Nonaka T, Koyanagi I (2005) The 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor antagonist sarpogrelate hydrochloride inhibits acute platelet aggregation in injured endothelium. *J Int Med Res* 34(1): 65–72.
10. Frille A, Rullmann M, Becker GA, Patt M, Luthardt J, Tiepolt S, Wirtz H, Sabri O, Hesse S, Seyfarth HJ (2021) Increased pulmonary serotonin transporter in patients with chronic obstructive pulmonary disease who developed pulmonary hypertension. *Eur J Nucl Med Mol Imag* 48(4): 1081–1092. <https://doi.org/10.1007/s00259-020-05056-7>
11. Nebigil CG, Choi DS, Dierich A, Hickel P, Le Meur M, Messaddeq N, Launay JM, Maroteaux L (2000) Serotonin 2B receptor is required for heart development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(17): 9508–9513.
12. Mindubayeva F, Niyazova Y, Nigmatullina R, Kabiyeva S, Salikhova Y (2020) The system of serotonin and its metabolism in platelets in children with congenital heart defects of an early age. *Georg Med News* 298: 42–46.
13. Reyes-Palomares A, Gu M, Grubert F, Berest I, Sa S, Kasowski M, Arnold C, Shuai M, Srivas R, Miao S, Li D, Snyder MP, Rabinovitch M, Zaugg JB (2020) Remodeling of active endothelial enhancers is associated with aberrant gene-regulatory networks in pulmonary arterial hyperten-

- sion. *Nat Commun* 3 11(1): 1673.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-15463-x>
14. *Нигматуллина РР, Земскова СН, Зефирова АЛ, Смирнов АВ* (2004) Клеточно-молекулярные механизмы функционирования и регуляции сердца : Учебно-методическое пособие для медицинских вузов. Казань. КГМУ 2004: 109. [*Nigmatullina RR, Zemskova SN, Zefirova AL, Smirnov AV* (2004) Cellular and molecular mechanisms of functioning and regulation of the heart. Kazan. KGMU 2004: 109. EDN EFFAZQ. (In Russ)].
 15. *Adham N, Kao HT, Scherster LE* (1993) Classification of receptors for serotonin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90(2): 408–412.
 16. *Mindubayeva F, Niyazova Y, Nigmatullina R* (2020) Membrane serotonin transporter as a biomarker of pulmonary arterial hypertension in children with congenital heart defect. *RJPT* 5(13): 2435–2438.
<https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00436.9>
 17. *Affas S, AlhajSakur A* (2019) New Simple Spectrophotometric Method for the Simultaneous Estimation of the Mixtures of Sildenafil and some Serotonin Reuptake Inhibitors. *Res J Pharm and Techn* 12(2): 711–716.
 18. *Martinho S, Adão R, Leite-Moreira AF, Brás-Silva C* (2020) Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn: Pathophysiological Mechanisms and Novel Therapeutic Approaches. *Front Pediatr* 24(8): 342.
<https://doi.org/10.3389/fped.2020.00342>
 19. *Launay JM, Hervé P, Callebort J, Mallat Z, Collet C, Doly S, Belmer A, Diaz SL, Hatia S, Côté F, Humbert M, Maroteaux L* (2012) Serotonin 5-HT_{2B} receptors are required for bone-marrow contribution to pulmonary arterial hypertension. *Blood* 119: 1772–1780.
 20. *Mustafina AA, Nigmatullina RR, Bilalova DF* (2018) Serotonin as the main cause of pulmonary hypertension: from hypothesis to medical practice. *Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice. Series: Natural and Technical Sci* 3: 107–111.
 21. *Masarwa R, Bar-Oz B, Gorelik E, Reif S, Perlman A, Matok I* (2019) Prenatal exposure to selective serotonin reuptake inhibitors and serotonin norepinephrine reuptake inhibitors and risk for persistent pulmonary hypertension of the newborn: a systematic review, meta-analysis, and network meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 220(1): 57.e1–57.e13.
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.08.030>
 22. *Kirillova V, Nigmatullina R, Dzhordzhikiya R, Kudrin V, Klodt P* (2009) Increased concentrations of serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid in blood plasma from patients with pulmonary hypertension due to mitral valve disease. *Bull Exp Biol Med* 147(4): 408–410.
<https://doi.org/10.1007/s10517-009-0527-x>
 23. *Abman SH, Shanley PF, Accurso FJ* (1989) Failure of postnatal adaptation of the pulmonary circulation after chronic intrauterine pulmonary hypertension in fetal lambs. *J Clin Invest* 83(6): 1849–1858.
<https://doi.org/10.1172/JCI114091>
 24. *Delaney C, Gien J, Grover TR, Roe G, Abman SH* (2011) Pulmonary vascular effects of serotonin and selective serotonin reuptake inhibitors in the late-gestation ovine fetus. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 301(6): L937–L944.
<https://doi.org/10.1152/ajplung.00198.2011>

5-HT₂-Receptors and 5-HIAA – Therapeutic Targets for Evaluation of Severity, Progression and Effectiveness of Treatment in Immature Male Rats in a Monocrotalin Model of Pulmonary Hypertension

D. F. Bilalova^{a, *}, R. R. Nigmatullina^a, and A. A. Mustafin^{a, b}

^a*Kazan State Medical University, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia*

^b*Children's Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia*

^{*}*e-mail: Diana_bilalova@hotmail.com*

Suppression of the proliferation of vascular endothelial cells and the interaction of endothelial with smooth muscle cells in pulmonary hypertension (PH) are impaired. Participation of the 5-HT_{2a}-receptor in the mitogenic effect on endothelial, and 5-HT_{2b}-receptor – on vascular smooth muscle cells was revealed. The main organ that metabolizes serotonin is the lung. In the endothelial cells of the vessels of the lungs under the action of the enzyme monoamine oxidase And serotonin is converted to 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA), which is subsequently excreted in the urine. Currently, the

role of 5-HT₂-receptors is not taken into account in the treatment of children with pulmonary hypertension. We have modified the monocrotaline model of pulmonary hypertension for immature rats. A scheme for the administration of a 5-HT₂-receptor blocker for the prevention and treatment of pulmonary hypertension in immature rats was developed and tested. A positive correlation was found between the concentration of 5-HIAA in urine and the degree of pulmonary hypertension, which can become a potential marker of pulmonary hypertension. The data obtained indicate the development of pulmonary hypertension in immature rats after a single injection of monocrotaline in the form of replacement of lung tissue with fibrous tissue, the development of pneumosclerosis and bronchiectasis. Also, in animals in this model, changes in the structure of the heart muscle and vascular wall are formed with the development of fibrous tissue, which may indicate the involvement of 5HT₂-receptors in the activation of fibroblasts and, accordingly, in the pathogenesis of pulmonary hypertension.

Keywords: serotonin, pulmonary hypertension, monocrotaline, 5-HT_{2a}- and 5-HT_{2b}-receptors, 5-HIAA, immature rats, fibrosis