

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Атаман Юрій Олександрович

УДК: 616.13:616.14-092.18-008.9:612.015.3

**РОЛЬ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У
РОЗВИТКУ УРАЖЕНЬ АРТЕРІЙ І ВЕН, ЗУМОВЛЕНИХ
ПЕРВИННИМИ ПОРУШЕННЯМИ ЕНЕРГЕТИЧНОГО
ОБМІНУ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Харків - 2008

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано в Харківському національному медичному університеті МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Клименко Микола Олексійович,
Харківський національний медичний
університет МОЗ України, завідувач
кафедри патологічної фізіології.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор Звягінцева Тетяна
Володимирівна, Харківський національний медичний
університет МОЗ України, завідувач кафедри фармакології і
медичної рецептури;

доктор медичних наук, доцент Березнякова Марина
Євгеніївна, Національний фармацевтичний університет МОЗ
України (м. Харків), професор кафедри клінічної
лабораторної діагностики.

Захист відбудеться 13 березня 2008 року об 11 годині на засіданні спеціалізованої
вченої ради Д 64. 600. 03 при Харківському національному медичному університеті (61022,
м.Харків, просп. Леніна, 4).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Харківського національного
медичного університету (61022, м.Харків, просп. Леніна, 4).

Автореферат розіслано 7 лютого 2008 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
канд. мед. наук, доцент

О.Ю.Степаненко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Висока поширеність та смертність від серцево-судинних недуг у високорозвинених країнах світу загалом і в Україні, зокрема, є однією з причин того, що проблема етіології та патогенезу склеротичних уражень кровоносних судин – основної причини таких небезпечних ускладнень, як інфаркт міокарда, інсульт, аневризма аорти та ін., – посідає одне з чільних місць серед наукових проблем як клінічної, так і експериментальної медицини.

Незважаючи на те що за останні кілька десятиріч смертність від артеріосклерозу істотно зменшилася, його ускладнення залишаються причиною №1 летальності серед жінок і чоловіків економічно розвинених країн світу. Навіть на тлі значних успіхів у боротьбі з цією недугою ішемічна хвороба серця, інсульт і ураження периферичних артерій є причиною 40-50% усіх смертей (Silbernagl S., Lang F., 2000; McPhee S.J. et al., 2003; Hansson G., 2005; Kumar V. et al., 2005; Porth C.M., 2005; Singh U., Jialal J., 2006).

В Україні серцево-судинні недуги, зумовлені артеріосклерозом, також посідають перше місце у структурі загальної смертності населення – на них припадає понад 60% усіх смертей (Медико-демографічний атлас України, 2003). Однак, на відміну від країн Заходу, в Україні, особливо в останні десятиріччя, відзначається тенденція до зростання показника смертності від артеріосклерозу, ця недуга починає виявляти себе у людей середнього і навіть молодого віку. Як наслідок - вкорочення тривалості життя в Україні в середньому на десять років, якщо порівнювати з країнами Європейського Союзу, і на п'ять – у порівнянні із середньоєвропейським рівнем (Коваленко В.М., Дорогой А.П., 2003).

Саме з урахуванням наведених вище тенденцій особливо актуальними є фундаментальні наукові дослідження, присвячені проблемі артеріосклерозу.

Вагомим внеском українських учених у розвиток зазначеної проблеми є започаткована Ю.В.Бицем понад 30 років тому енергодефіцитна теорія патогенезу артеріосклерозу (Быць Ю.В., 1973; Быць Ю.В. с соавт., 1999). Її автор та його послідовники отримали численні докази того, що у розвитку дистрофічно-склеротичних уражень кровоносних судин важливу роль відіграють порушення енергетичного обміну судинної стінки. Зокрема, доведено, що використання в експерименті інгібіторів енергетичного обміну закономірно спричиняє розвиток в артеріях уражень, відомих як артеріосклероз Менкеберга. Для них характерними є зміни у середній оболонці судинної стінки, а саме: медіанекроз, медіакальциноз і медіасклероз.

Нині ще не до кінця з'ясованим залишається питання про те, в який спосіб первинні розлади енергозабезпечення судинної стінки зумовлюють ушкодження її структур. Зважаючи

на універсальну роль пероксидного окиснення ліпідів як чинника ушкодження клітин, є підстави вважати, що порушення структурної цілісності судинної стінки за умов розвитку енергодефіциту можуть бути опосередковані активацією в судинах процесів вільнорадикального окиснення. Саме перевірка цієї гіпотези і присвячено роботу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт Харківського національного медичного університету МОЗ України. Вона є самостійним фрагментом у рамках наукового напрямку університету "Вивчення загальних закономірностей патологічних процесів і розробка способів їх корекції" та комплексної теми кафедри патологічної фізіології "Гематологічні механізми хронізації запалення", № держреєстрації 01064001639, 2006-2008 рр.

Мета дослідження: з'ясування ролі пероксидного окиснення ліпідів та порушень антиоксидантних систем у патогенезі уражень артеріальних і венозних судин, що виникають за умов первинних розладів енергетичного обміну.

Завдання:

1. Визначити інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантну активність тканин артерій і вен у динаміці інтоксикації моноіодацетатом.

2. Вивчити вплив ангіопротекторів з різними механізмами дії (антиоксидантів, блокаторів кальцієвих каналів, антикальциногенних препаратів) на інтенсивність ПОЛ та антиоксидантну активність артеріальної і венозної стінок за умов введення тваринам моноіодацетату.

3. Дослідити вплив зазначених вище ангіопротекторів на зміни, що є ознаками ранніх дистрофічних уражень судинної стінки при моноіодацетатній інтоксикації: набряк, збільшення об'єму інулінового простору, накопичення солей кальцію.

4. З'ясувати, чи існує зв'язок між впливом досліджуваних ангіопротекторів на ПОЛ і антиоксидантні системи судинної стінки, з одного боку, і на розвиток наведених вище ознак дистрофічних уражень судин – з другого.

5. Провести порівняльний аналіз ролі ПОЛ у виникненні і розвитку патологічних змін в артеріях і венах – типах судин, схильних (артерії) і стійких (вени) до дистрофічно-склеротичних уражень.

Об'єкт дослідження – механізми розвитку дистрофічно-склеротичних уражень кровоносних судин.

Предмет дослідження – участь процесів ПОЛ у розвитку уражень артерій і вен, зумовлених первинними порушеннями енергетичного обміну в судинній стінці.

Методи дослідження: а) патофізіологічний експеримент - моделювання уражень кровоносних судин з використанням інгібітора енергетичного обміну – моноіодацетату; б)

порівняльні методи аналізу, що передбачають зіставлення вивчених показників у судинах схильних (артерії) і стійких (вени) до розвитку дистрофічно-склеротичних уражень; в) метод коригуючих впливів – введення тваринам ангіопротекторів (вітаміну Е, ніфедипіну, ЕГДК) для проведення патофізіологічного аналізу ролі ПОЛ у розвитку уражень судинної стінки, зумовлених дією моноіодацетату; г) біохімічні методи визначення вмісту проміжних (гідропероксиди ліпідів) та кінцевих (основи Шиффа) продуктів ПОЛ в тканинах артерій і вен експериментальних тварин з метою оцінки інтенсивності вільнорадикальних процесів як чинників ушкодження судинної стінки; г) біохімічні дослідження активності антиоксидантних ферментів (глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази, каталази), що обмежують процеси ПОЛ у тканинах кровоносних судин і у такий спосіб запобігають розвиткові ушкоджень судинної стінки; д) фізико-хімічні методи дослідження вмісту води та об'єму інулінового простору як показників, що характеризують ранні дистрофічні зміни в судинній стінці; е) спектрофотометричне визначення вмісту загального кальцію у тканинах артерій і вен з метою кількісної характеристики процесу кальцифікації їхніх структур; є) статистичні методи обробки цифрових даних.

Наукова новизна одержаних результатів

1. Уперше досліджено динаміку змін показників ПОЛ і антиоксидантної активності артеріальної і венозної стінки за умов інтоксикації моноіодацетатом. Показано, що введення тваринам моноіодацетату спричиняє істотне збільшення інтенсивності ПОЛ та зменшення активності антиоксидантних систем у стінках як артеріальних, так і венозних судин. Виявлена активація ПОЛ пов'язана з первинним пригніченням антиоксидантних систем, зумовленим порушеннями енергетичного обміну в судинній стінці, що виникають під впливом моноіодацетату.

2. Уперше як інструмент аналізу механізмів розвитку уражень судин, зумовлених первинними розладами енергетичного обміну, використано фармакологічні агенти з різними механізмами ангіопротекторної дії (антиоксиданти, блокатори кальцієвих каналів, антикальциногенні препарати).

3. Уперше показано, що антиоксидант вітамін Е, який зменшує інтенсивність ПОЛ в тканинах кровоносних судин при моноіодацетатній інтоксикації, не впливає на показники, що характеризують ранні дистрофічні зміни судинної стінки (набряк, кальцифікацію). Натомість блокатор кальцієвих каналів – ніфедипін та антикальциногенний препарат – ЕГДК, не впливаючи на показники ПОЛ, істотно зменшують набряк судинної стінки (ніфедипін) та вміст кальцію в тканинах артерій і вен (ЕГДК). Це свідчить про те, що активація ПОЛ при інтоксикації моноіодацетатом не є провідним механізмом розвитку дистрофічних змін у судинній стінці.

4. У роботі вперше показано, що за умов інтоксикації моноіодацетатом у венах – судинах, стійких до різних видів дистрофічно-склеротичних уражень (холестеролових, катехоламінових, D-гіпервітамінозних),– рівень активації ПОЛ і пригнічення антиоксидантних систем є вищим, ніж в артеріях - судинах, дуже чутливих до розвитку склерозу. Це дає підстави вважати, що схильність венозної стінки до розвитку енергодефіцитних уражень є такою ж високою, як і артеріальних судин.

Практичне значення одержаних результатів. Наведені в роботі експериментальні дані про значну активацію процесів ПОЛ у тканинах кровеносних судин за умов інтоксикації моноіодацетатом розширюють наукові уявлення про механізми розвитку дистрофічно-склеротичних уражень судинної стінки.

Отримані результати свідчать про те, що ангіопротектори з різними механізмами дії по-різному впливають на інтенсивність ПОЛ і антиоксидантну активність судин, з одного боку, і прояви дистрофічних змін у судинній стінці – з другого. Цю обставину слід брати до уваги, коли йдеться про вибір ефективних фармакологічних засобів захисту кровеносних судин при кожному конкретному виді її ушкодження.

Одержані в роботі дані можуть бути використані при розробці нових підходів і способів фармакологічної корекції дистрофічно-склеротичних уражень кровеносних судин, підвищення стійкості артерій і вен до дії різних патогенних чинників.

Результати наукових досліджень, викладених у дисертації, впроваджено в навчальний процес на кафедрах патофізіології Харківського і Кримського медичних університетів, Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава), кафедрі фізіології і патофізіології Сумського державного університету, кафедрі гістології з цитологією і ембріологією Донецького національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Матеріали виконаних експериментальних досліджень, наведені в дисертаційній роботі, є особистим внеском автора у проблему, що вивчається. Особисто автором проведено патентно-інформаційний пошук, сформульовано мету і завдання дослідження, обґрунтовано схему експериментальних робіт та відповідне методичне забезпечення. Автор самостійно виконав експериментальні дослідження, провів статистичну обробку, науковий аналіз та узагальнення одержаних результатів, оформлення останніх у вигляді таблиць, діаграм і графіків, сформулював та опублікував основні положення дисертації і висновки.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації повідомлено і обговорено на науково-практичній конференції "Актуальні питання патофізіології" (Сімферополь-Ялта, 2006), науковій конференції "Данилевські читання 2007" (Харків, 2007), VI читаннях ім. В.В.Підвисоцького, присвячених 150-річчю з дня народження (Одеса, 2007),

Міжнародній науково-практичній конференції студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів "Актуальні питання експериментальної та клінічної медицини" (Суми, 2007), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених "Медична наука – 2007" (Полтава, 2007).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових робіт, з них 4 статті у фахових виданнях, що входять до переліку ВАК України, решта – у матеріалах конференцій. 6 наукових робіт опубліковано за одноосібною участю автора.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, трьох підрозділів з викладеними результатами власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел у кількості 300 (39 праць авторів з України та країн СНД та 261 робота іноземних авторів). Роботу викладено на 157 сторінках, вона містить 17 таблиць і 20 рисунків, які займають 25 повних сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ

Матеріали і методи дослідження. Досліди виконано на 84 кролях обох статей віком 6-8 місяців, масою 1800-2300 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію. З метою відтворення первинних розладів енергетичного обміну і ранніх дистрофічних змін судинної стінки тваринам вводили монойодацетат (МЙА) – класичний інгібітор гліколітичних і окисних процесів (Lundsgaard E., 1930; Нейфах С.А. з співавт., 1962; Уебб Л., 1966; Лаборі А., 1970). У дослідженнях Ю.В.Биця (1973, 1999) було доведено, що двотижнева МЙА-інтоксикація закономірно супроводжується істотними змінами енергетичного обміну судинної стінки, які виявляють себе падінням інтенсивності гліколізу і пентозного циклу, розладами клітинного дихання, зменшенням вмісту макроергічних сполук (АТФ, креатинфосфату). Зазначені зміни спричиняють розвиток дистрофічно-склеротичних уражень артеріальної стінки з ознаками, характерними для артеріосклерозу Менкеберга.

У наших дослідженнях введення кролям МЙА здійснювали щодоби внутрішньовенно (у крайову вену вуха) з розрахунку 10 мг/кг протягом 3, 7 і 14 діб. Відповідну кількість речовини розчиняли в ізотонічному розчині NaCl (10 мг на 1 мл), рН доводили до 7,4 насиченим розчином NaHCO₃ або 0,1 н розчином NaOH.

Для визначення ролі ПОЛ у патогенезі уражень судинної стінки, зумовлених МЙА, нами застосовано засоби ангіопротекторної дії з різними механізмами впливу на кровonosні судини: а) жиророзчинний антиоксидант – вітамін Е (токоферолу ацетат); б) блокатор

кальцієвих каналів - ніфедипін; в) антикальциногенний препарат – етан-1-гідрокси-1,1-дифосфонову кислоту (ЕГДК).

У роботі здійснювали щоденне протягом 14 діб поєднане введення тваринам:

- 1) МЙА (10 мг/кг, внутрішньовенно) та вітаміну Е (10% олійний розчин токоферолу ацетату з розрахунку 50 мг/кг у шлунок через зонд за 2 години до введення МЙА);
- 2) МЙА і ніфедипіну (30 мг/кг у шлунок через зонд за 30 хвилин до введення МЙА);
- 3) МЙА та ЕГДК (130 мг/кг у шлунок через зонд за 2 години до введення МЙА).

Через 24 години після останнього введення препаратів тварин забивали, відтворюючи повітряну емболію.

Для оцінки ПОЛ у стінках артерій і вен було обрано дві групи показників: 1) ті, що характеризують інтенсивність реакцій вільнорадикального окиснення, - вміст гідропероксидів ліпідів (проміжних продуктів ПОЛ) і основ Шиффа (кінцевих продуктів); 2) ті, що відображають стан антиоксидантних систем судинної стінки, - глутатіонпероксидазна, супероксиддисмутазна і каталазна активності тканин артерій і вен. Для кількісної оцінки дистрофічних змін, що виникають у судинах за умов МЙА-інтоксикації нами використано методики визначення об'єму інулінового простору та вмісту води і кальцію у тканинах судин.

Вміст загальних ліпідів у тканинах кровоносних судин визначали за методом Folch J. та співавт. (1957) у модифікації Bligh E.G. і Dyer W.J. (1975). Визначення *вмісту гідропероксидів ліпідів* проводили спектрофотометрично за характерним для дієнових кон'югатів УФ-спектром поглинання розчину ліпідів у метанол-гексані (5:1) за довжини хвилі 232-234 нм (Bolland J.L., Koch J.P., 1945). *Вміст основ Шиффа* визначали спектрофлюорометрично (максимум збудження флюоресценції – 360 нм, максимум випромінення – 420-440 нм) (Csallany A.S., Ayal K.L., 1976).

Визначення *супероксиддисмутазної (СОД) активності* проводили спектрофотометрично (довжина хвилі 540 нм) за відсотком інгібування відновлення нітротетразолію синього (Fried R., 1975). *Каталазну (КТ) активність* визначали спектрофотометрично (довжина хвилі 410 нм) за здатністю цього ферменту гальмувати утворення з солями молібдену стійкого забарвленого комплексу (Королюк М.А. та співавт., 1988). Визначення *глутатіонпероксидазної (ГП) активності* проводили за методом Pinto В.Е. і Bartley W. (1969) у модифікації Кругликової Г.А. і Штутман Ц.М. (1976). Як субстрат окиснення використовували пероксид водню. Активність ГП оцінювали за різницею між кількістю відновленого глутатіону в досліджуваній та контрольній (без H₂O₂) пробах (Sedlak J., Lindsay R.H., 1968). Розрахунок ферментної активності проводили на одиницю маси *загального білка*, вміст якого в тканинах визначали за методом Lowry О.Н. (1973).

Вміст води визначали, фіксуючи зміну ваги зразка тканини при його повному висушуванні до постійної ваги в сушильній шафі при температурі 105°C. Визначення *об'єму інулінового простору* проводили дифеніламіновим методом (Браун А.Д., 1937; Виноградова Н.А., 1967). Вміст *загального кальцію* визначали спектрофотометрично в атомно-абсорбційному режимі при довжині хвилі 422,2 нм.

Матеріал статистично опрацьовано з використанням параметричних (Урбах В.Ю., 1985) і непараметричних (критерій Вілкоксона-Манна-Уїтні, точний метод Фішера) критеріїв статистики (Гублер В.Е., Генкін А.А., 1973).

Результати дослідження та їхній аналіз. *1. Інтенсивність ПОЛ та антиоксидантна ферментна активність стінок артерій і вен у динаміці моноіодацетатної інтоксикації.*

Серед універсальних механізмів ушкодження клітин чільне місце посідає ПОЛ – реакції вільнорадикального окиснення ненасичених жирових кислот, що входять до складу фосфоліпідів клітинних мембран. Про інтенсивність цього процесу може свідчити вміст проміжних (гідропероксиди ліпідів – ГПЛ) і кінцевих (шиффові основи – ШО) продуктів ПОЛ у тканинах кровоносних судин.

У виконаних нами дослідженнях простежено динаміку змін цих показників у стінках артерій і вен за умов розвитку МЙА-інтоксикації. Показано, що вже через 3 доби від початку експерименту у всіх вивчених судинах реєструється істотне зростання рівня ГПЛ. Так, вміст цих сполук збільшувався у грудній аорті на 13,2%, черевній аорті – на 17,8%, у легеневій артерії – на 35,1%, у задній порожнистій вені – на 59,4%. Рівень ШО у цих судинах також зростав, але, на відміну від показника ГПЛ, розбіжності з контролем були статистично не достовірними ($p > 0,05$).

Через 7 діб МЙА-інтоксикації збільшення вмісту ГПЛ становило (якщо порівнювати з контролем) у грудній аорті 41,3%, черевній аорті – 57,5%, легеневій артерії – 130,6%, задній порожнистій вені – 194,2%. Водночас статистичної достовірності набули і зміни вмісту ШО у всіх вивчених судинах. Так, зростання цього показника склало в грудній аорті 35,6%, черевній аорті – 42,4%, легеневій артерії – 109,9%, задній порожнистій вені – 138,8%.

Нарешті, двотижневий строк експерименту характеризувався максимальним зростанням вивчених показників як в артеріальних, так і венозних судинах. Вміст ГПЛ збільшувався в грудній аорті у 2,2 рази, черевній аорті - у 2,5 рази, легеневій артерії – майже в 4 рази, задній порожнистій вені – у 6 разів проти контрольних величин. Зростання показника ШО становило в грудній аорті 2,2 рази, черевній аорті - 2,4 рази, легеневій артерії – 3.4 рази, задній порожнистій вені – приблизно 5 разів.

Таким чином, введення тваринам МЙА з самого початку супроводжується активацією ПОЛ, про що свідчить накопичення його проміжних і кінцевих продуктів у стінках

артеріальних і венозних судин. При цьому статистично достовірні зміни вмісту ГПЛ починають виявлятися дещо раніше (через 3 доби), якщо порівнювати з показником ШО (через 7 діб).

За рівнем зростання цих показників вивчені судини можна розділити на три групи: 1) грудна і черевна аорти (найменший ступінь збільшення); 2) легенева артерія (середній ступінь); 3) задня порожниста вена (максимальне збільшення). Це може свідчити про те, що за умов отруєння моноіодацетатом інтенсифікація ПОЛ у венозних судинах відбувається у значно більшій мірі, ніж в артеріальних.

Вивчення антиоксидантної ферментної активності показало, що вже через 3 доби від початку введення тваринам МЙА з'являються ознаки антиоксидантної недостатності, зокрема реєструється статистично достовірне зменшення ГП-активності стінок артеріальних і венозних судин. Так, падіння активності цього ферменту становило в грудній аорті 20,2%, черевній аорті – 20,1%, легеневій артерії – 25,9%, задній порожнистій вені – 26,9%. Що стосується двох інших антиоксидантних ферментів – СОД і КТ, то зміни їхньої активності у ці строки експерименту не виходили за рамки випадкових відхилень ($p > 0,05$).

Через 7 діб МЙА-інтоксикації відзначали дальше падіння активності ГП в стінках вивчених артерій і вен: у грудній аорті воно складало 44,1%, у черевній аорті – 47,6%, у легеневій артерії – 47,5%, у задній порожнистій вені – 53,7% (при порівнянні з контролем). Крім того, у ці строки експерименту достовірно зменшувалася й активність ще одного антиоксидантного ферменту – СОД - у всіх вивчених судинах: у грудній аорті – на 25,9%, черевній аорті – на 33,9%, легеневій артерії – на 33,4%, задній порожнистій вені – на 31,9%. Найстійкішою до дії отрути виявилася КТ. Тільки в одній судині – задній порожнистій вені – її активність істотно зменшувалася (на 33,3%), а в стінках артерій відхилення показника від норми були статистично не достовірними.

Для двотижневого строку експерименту було характерним значне падіння активності всіх вивчених антиоксидантних ферментів у всіх кровоносних судинах. Так, активність ГП зменшувалася в грудній і черевній аорті, а також в легеневій артерії майже в 4 рази, а в задній порожнистій вені – приблизно в 5 разів. Падіння активності СОД становило в грудній і черевній аорті майже 2 рази, легеневій артерії – 2,4 рази, задній порожнистій вені – приблизно 6 разів. І, нарешті, активність КТ зменшувалася в грудній і черевній аорті майже на 40%, у легеневій артерії – більш ніж у 2 рази, у задній порожнистій вені – у 3 рази.

Таким чином, результати проведених досліджень показали, що введення тваринам МЙА веде до зменшення активності усіх вивчених антиоксидантних ферментів. Проте, тут виявляє себе певна закономірність, яка полягає в тому, що “найчутливішим” до МЙА-інтоксикації ферментом є ГП, активність якої падає вже через 3 доби від початку

експерименту. Через 7 діб починає зменшуватися СОД (у всіх судинах) і КТ (тільки у венах) активність, а через 14 діб – активність КТ в усіх вивчених артеріях.

2. Вплив ангіопротекторів з різними механізмами дії на інтенсивність ПОЛ та антиоксидантну ферментну активність у стінках кровоносних судин за умов моноіодацетатної інтоксикації.

Порушення діяльності антиоксидантних систем і активація процесів ПОЛ, виявлені нами в артеріях і венах під час розвитку МЙА-інтоксикації, можуть бути важливим патогенетичним механізмом дистрофічно-склеротичних уражень судинної стінки. Для визначення ролі цих чинників у розвитку ушкодження судин нами застосовано фармакологічні препарати з різними механізмами дії: вітамін Е, ніфедипін, ЕГДК. Насамперед стояло завдання визначити вплив цих агентів на інтенсивність ПОЛ і антиоксидантну ферментну активність тканин артерій і вен у тварин з МЙА-інтоксикацією.

Дані, наведені в табл. 1 і 2, свідчать про те, що вітамін Е істотно зменшує вміст ГПЛ і ШО у стінках артерій і вен у тварин, яким вводили МЙА. Так, падіння вмісту ГПЛ у грудній і черевній аорті становило 23-24%, у легеневій артерії – 31,7%, у задній порожнистій вені – 22%. Слід, однак, зазначити, що повна нормалізація показників ПОЛ не наставала – вони й надалі залишалися далекими від рівня, характерного для судин інтактних тварин. Що стосується двох інших ангіопротекторів – ніфедипіну і ЕГДК, то вони істотно не впливали на вміст ГПЛ і ШО в артеріальних і венозних стінках тварин з МЙА-інтоксикацією ($p > 0,05$).

Таблиця 1. Вміст гідропероксидів ліпідів у стінках кровоносних судин кролів за умов поєднаного введення тваринам моноіодацетату та одного з ангіопротекторів (вітаміну Е, ніфедипіну, ЕГДК) протягом 14 діб (нмоль /мг ліпідів; $M \pm m$, $n=6$)

	Інтактні тварини	МЙА (контроль)	МЙА + ангіопротектор		
			Вітамін Е	Ніфедипін	ЕГДК
Грудна аорта	14,42±0,4	34,2±1,1 [▲]	26,3±1,3 ^{▲*}	31,8±1,3 [▲]	33,2±1,4 [▲]
Черевна аорта	14,0±0,8	37,1±0,8 [▲]	28,4±1,7 ^{▲*}	33,6±1,5 [▲]	36,0±1,5 [▲]
Легенева артерія	12,2±0,7	49,2±0,8 [▲]	33,6±1,8 ^{▲*}	46,0±1,5 [▲]	48,2±2,1 [▲]
Задня порожниста вена	8,4±0,6	51,8±1,0 [▲]	40,4±1,9 ^{▲*}	48,7±2,0 [▲]	50,2±2,2 [▲]

Примітка: * - $p < 0,05$ – статистично достовірні розбіжності відносно контролю; ▲ - $p < 0,05$ – відносно інтактних тварин

Вивчення впливу вітаміну Е, ніфедипіну та ЕГДК на антиоксидантну ферментну активність кровоносних судин показало, що жоден з них істотно не впливає на пригнічену моноіодацетатом активність ГП, СОД і КТ.

3. Характеристика деяких ознак моноіодацетатних уражень кровоносних судин за умов застосування фармакологічних агентів ангіопротекторної дії.

Таблиця 2. Вміст основ Шиффа в стінках кровоносних судин кролів за умов поєднаного введення тваринам моноіодацетату та одного з ангіопротекторів (вітаміну Е, ніфедипіну, ЕГДК) протягом 14 діб (відн. одиниць /мг ліпідів; $M \pm m$, $n=6$)

	Інтактні тварини	МІА (контроль)	МІА + ангіопротектор		
			Вітамін Е	Ніфедипін	ЕГДК
Грудна аорта	4,8±0,3	11,2±0,5 [▲]	8,0±0,3 ^{▲*}	10,6±0,6 [▲]	10,9±0,7 [▲]
Черевна аорта	4,6±0,2	11,7±0,5 [▲]	8,4±0,3 ^{▲*}	10,9±0,7 [▲]	11,4±0,7 [▲]
Легенева артерія	3,8±0,4	13,8±0,6 [▲]	10,2±0,7 ^{▲*}	12,5±0,6 [▲]	13,0±0,7 [▲]
Задня порожниста вена	2,6±0,4	14,1±0,7 [▲]	10,7±0,7 ^{▲*}	13,0±0,8 [▲]	13,5±0,6 [▲]

Примітка: Див. табл. 1.

Серед багатьох ознак, що характеризують розвиток МІА-уражень кровоносних судин, нами обрано три кількісні показники, які є відображенням ранніх дистрофічних змін судинної стінки – набряку, ушкодження клітин і кальцифікації. Такими показниками є вміст води в препаратах артерій і вен, об'єм інулінового простору (ОІП) і вміст загального кальцію у тканинах судин.

У виконаних нами дослідженнях було встановлено, що введення тваринам МІА протягом двох тижнів веде до статистично достовірного збільшення вмісту води у тканинах усіх вивчених судин. Так, у стінці грудної аорти вміст води зростав на 5,2%, черевної аорти – на 4,7%, легеневої артерії – на 5,1%, задньої порожнистої вени – на 5%, якщо порівнювати з інтактними тваринами.

При поєднаному введенні МІА і вітаміну Е відзначали достовірне зменшення вмісту води тільки в тканинах грудної аорти (на 2,8% проти значень, характерних для тварин з МІА-інтоксикацією), а в інших судинах – черевній аорті, легеневій артерії і задній порожнистій вені – цей показник не змінювався ($p > 0,05$). Ніфедипін і ЕГДК також істотно не впливали на вміст води в стінках артерій і вен, що свідчило про нездатність цих препаратів усувати одну з ранніх ознак МІА-уражень – набряк судинної стінки.

Для МІА-інтоксикації було характерним істотне збільшення ОІП у всіх вивчених артеріях і венах: у грудній аорті – на 22,2%, черевній аорті – на 23,8%, легеневій артерії – на 26,7%, задній порожнистій вені – на 17,2%, якщо порівнювати з інтактними тваринами (рис. 1).

Введення вітаміну Е тваринам з МІА-інтоксикацією зменшує ОІП у тканинах грудної аорти на 5,3%, черевної аорти – на 7,4%, легеневої артерії – на 4,1%, тимчасом як у задній порожнистій вені цей показник не змінюється. Застосування ніфедипіну веде до істотного

падіння ОПП як в артеріях, так і венах кролів з МЙА-інтоксикацією. Так, під впливом цього препарату зменшення ОПП становило в грудній аорті 8,2%, черевній аорті – 9,6%, легеневій артерії – 6,5%, задній порожнистій вені – 7,7% проти показників "монойодацетатних" тварин. І нарешті, введення ЕГДК не справляло жодного впливу на збільшені в умовах МЙА-інтоксикації показники ОПП артеріальних і венозних судин.

Слід зазначити, що ні вітамін Е, ні ніфедипін повністю не усували зумовлені монойодацетатом зміни ОПП: цей показник хоча і зменшувався, але залишався значно вищим за рівень, характерний для інтактних тварин.

Крім того, порівняння впливу вітаміну Е і ніфедипіну на вміст води та ОПП у кровоносних судинах дає підстави стверджувати, що збільшення ОПП, яке ми спостерігаємо за умов МЙА-інтоксикації, відображає не тільки величину набряку судинної стінки, а й порушення бар'єрних властивостей мембран, тобто розвиток ушкодження клітин. Такий висновок випливає з того, що вітамін Е майже, а ніфедипін зовсім, не впливає на вміст води в судинах піддослідних тварин, а отже, зменшення ОПП, що його зумовлюють ці препарати, пов'язане зі зменшенням ушкодження клітинних елементів судинної стінки, тобто з цитопротекторною дією антиоксидантів і блокаторів кальцієвих каналів.

Ще однією ознакою ранніх дистрофічних змін у судинній стінці є зростання вмісту загального кальцію у тканинах артерій і вен. Як показали наші досліді, двотижнева інтоксикація монойодацетатом спричиняє значне збільшення цього показника у всіх вивчених судинах (рис. 1). Так, у грудній аорті і задній порожнистій вені він збільшувався приблизно в 4,8 рази, а в черевній аорті і легеневій артерії – майже в 4,2 рази, якщо порівнювати з інтактними тваринами.

Введення тваринам з МЙА-інтоксикацією вітаміну Е істотно не впливає на цей показник. При використанні ніфедипіну відзначали тенденцію до зниження вмісту кальцію як в артеріях (на 14-18%), так і в венах (на 26%), хоча, через строкатість індивідуальних даних, відмінності між групами піддослідних (МЙА + ніфедипін) і контрольних (МЙА) тварин не досягали рівня статистичної достовірності ($0,1 > p > 0,05$).

Серед вивчених ангіопротекторів одна тільки ЕГДК чинила істотний вплив на вміст кальцію в артеріальній і венозній стінці тварин з МЙА-інтоксикацією. При застосуванні цього препарату зазначений показник зменшувався в грудній аорті на 26,2%, черевній аорті – на 25,3% ($0,1 > p > 0,05$), легеневій артерії – на 36,3%, задній порожнистій вені – на 44,7% проти відповідних показників "монойодацетатних" тварин. Попри такий ефект ЕГДК повної нормалізації вмісту кальцію у судинах не відбувалося, і цей показник залишався у 3-3,5 рази вищим за рівень, характерний для інтактних тварин.

Таким чином, введення тваринам МЙА протягом 14 діб спричиняє зростання в тканинах кровоносних судин вмісту проміжних (ГПЛ) і кінцевих (ШО) продуктів ПОЛ, зменшення активності антиоксидантних ферментів (ГП, СОД, КТ), збільшення вмісту води, ОПП і вмісту загального кальцію. Направленість змін усіх вивчених показників була однаковою як в артеріях, так і у венах.

Роль первинних порушень енергетичного обміну у розвитку ранніх дистрофічних змін судинної стінки (аналіз і узагальнення результатів дослідження).

Застосований вперше Ю.В.Бицем (1973) принцип "біохімічного ушкодження" судинної стінки виявився зручним для аналізу патогенетичних механізмів артеріосклерозу Менкеберга. Це пояснюється тим, що на відміну від багатьох інших агентів, що їх застосовують в експериментальному моделюванні судинних уражень, механізми первинної ушкоджувальної дії МЙА добре вивчені.

Дослідження впливу МЙА на метаболізм судинної стінки показало, що ця отрута пригнічує процеси генерування і використання енергії в тканинах артерій і вен, зменшує забезпеченість судин високоенергетичними сполуками, порушує перебіг реакцій гліколізу, клітинного дихання, окисного фосфорування, пентозного циклу (Быць Ю.В., 1973; Быць Ю.В. с соавт., 1999).

З урахуванням того, що розлади енергопостачання кровоносних судин під впливом МЙА мають первинний характер і виникають раніше структурних змін судинної стінки, було визнано важливу патогенетичну роль порушень енергетичного обміну у виникненні і розвитку дистрофічно-склеротичних уражень судин, індукованих моноиодацетатом.

Звичайно, постає питання, у який спосіб первинні порушення енергозабезпечення судинної стінки ведуть до ушкодження клітин (медіанекрозу) і кальцифікації (медіакальцинозу), тобто до появи ранніх дистрофічних змін артеріальних судин.

Враховуючи те, що патогенетичну основу ушкодження клітин узагалі складають універсальні молекулярні механізми, нашу увагу було зосереджено на ролі двох провідних – ПОЛ (оксидативного стресу) і перевантаження клітин кальцієм – у розвитку уражень судин, зумовлених енергодефіцитом.

Результати власних досліджень і аналіз даних інших авторів (Гарбузова В.Ю., 2004; Наумко Р.Ф., 2005) дають підстави для висновку про існування загальних механізмів розвитку ранніх дистрофічних змін судинної стінки, що виникають під впливом різних ушкоджувальних чинників (МЙА, гіпервітамінозу D, гіперадреналінемії). Такими механізмами, зокрема, є порушення енергетичного обміну, оксидативний стрес (інтенсифікація ПОЛ) і перевантаження клітин кальцієм. Зазначені явища тісно пов'язані між

собою (*circulus vitiosus*) і визначають необоротний характер артеріосклеротичного процесу (рис. 2).

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуальної наукової проблеми – патогенезу уражень кровоносних судин, зумовлених первинними порушеннями енергетичного обміну судинної стінки. За допомогою фармакологічних агентів з різними механізмами ангіопротекторної дії (антиоксидантів, блокаторів кальцієвих каналів, антикальциногенних препаратів) встановлено, що в розвитку ранніх дистрофічних змін, які виникають в артеріях і венах за умов інтоксикації моноіодацетатом, важливу роль відіграють активація пероксидного окиснення ліпідів і кальцієві механізми ушкодження судинної стінки.

1. Введення тваринам моноіодацетату (10 мг/кг) протягом 14 днів призводить до збільшення вмісту проміжних (гідропероксиди ліпідів) та кінцевих (основи Шиффа) продуктів пероксидного окиснення ліпідів, зменшення антиоксидантної ферментної (глутатіонпероксидазної, супероксиддисмутазної, каталазної) активності у стінках артеріальних і венозних судин. Водночас у судинах виникають ознаки ранніх дистрофічних змін – збільшується вміст води, об'єм інулінового простору, вміст загального кальцію.

2. За умов моноіодацетатної інтоксикації венозні судини виявляють не менш високу чутливість до ушкодження, ніж артерії. Про це свідчить навіть більша, ніж в артеріях, інтенсифікація пероксидного окиснення ліпідів і вищий ступінь пригнічення активності антиоксидантних ферментів.

3. Застосування антиоксиданту вітаміну Е (токоферолу ацетату, 50 мг/кг) викликає зменшення (але не нормалізацію) вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів і не впливає на знижену активність антиоксидантних ферментів в артеріальних і венозних стінках кролів з моноіодацетатною інтоксикацією. Вітамін Е також зменшує вміст води в стінці грудної аорти, об'єм інулінового простору в артеріях (а не венах) і не впливає на вміст загального кальцію в кровоносних судинах тварин, що отримували моноіодацетат.

4. Блокатор кальцієвих каналів ніфедипін (30 мг/кг) істотно не змінює показники пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантної ферментної активності в стінках артерій і вен тварин з моноіодацетатною інтоксикацією. Водночас він зменшує об'єм інулінового простору в тканинах артерій і вен, не впливаючи на вміст води і загального кальцію.

5. При поєднаному введенні з моноіодацетатом антикальциногенний препарат етан-1-гідрокси-1,1-дифосфонова кислота (ЕГДК, 130 мг/кг) не чинить впливу на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів, показники вмісту води і об'єму інулінового простору артеріальних і венозних судин.

Ангіопротекторний ефект ЕГДК за умов інтоксикації моноіодацетатом виявляє себе тільки істотним зменшенням вмісту загального кальцію у стінках судин.

6. Жоден з трьох вивчених ангіопротекторів (вітамін Е, ніфедипін, ЕГДК) повністю не усував ознак ранніх дистрофічних змін судинної стінки, зумовлених моноіодацетатом. Це може свідчити про те, що за умов моноіодацетатної інтоксикації пероксидні і кальцієві механізми розвитку ранніх дистрофічних змін судинної стінки відіграють меншу роль, ніж в інших експериментальних моделях уражень судин (D-гіпервітамінозних, адреналінових). Очевидно, активація цих механізмів при інтоксикації моноіодацетатом має вторинний характер і пов'язана з первинними порушеннями енергетичного обміну в клітинах.

8. Розлади енергозабезпечення, оксидаційний стрес і перевантаження клітин кальцієм є універсальними механізмами розвитку ранніх дистрофічних змін судинної стінки за умов впливу різних ушкоджувальних агентів. Зазначені патогенетичні механізми тісно пов'язані між собою утворенням "зачарованих" кіл (circulus vitiosus), що надає рис неспецифічності і визначає необоротний характер артеріосклеротичного процесу.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ

1. Клименко М.О., Атаман Ю.О. Атеросклероз як запалення // Експериментальна та клінічна медицина. - 2007.- № 4.- С. 4-12 (здобувачеві належать 50% роботи, а саме: збір і аналіз літературних джерел за темою роботи).
2. Атаман Ю.О. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантна ферментна активність артеріальної і венозної стінки в динаміці інтоксикації моноіодацетатом // Фізіол. журн.- 2007.- Т.53 №4.- С. 49-53.
3. Атаман Ю.О. Вплив ангіопротекторів на антиоксидантну ферментну активність судинної стінки за умов інтоксикації моноіодацетатом // Вісник Української медичної стоматологічної академії: Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2007.- Т.7, вип. 3.- С. 160-163.
4. Атаман Ю.О. Характеристика ранніх ознак моноіодацетатних уражень кровоносних судин за умов застосування фармакологічних агентів ангіопротекторної дії // Вісник Української медичної стоматологічної академії: Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2007.- Т.7, вип. 4.- С. 238-241.
5. Атаман Ю.О. Антиоксидантна ферментна активність стінок кровоносних судин кролів за умов індукованих моноіодацетатом порушень вуглеводного обміну // Матеріали наукової конференції "Данилевські читання 2007".- Харків, 2007.- С. 18-19.

6. Атаман Ю.О. Особливості пероксидного окиснення ліпідів у тканинах артерій і вен за умов первинних порушень енергозабезпечення судинної стінки // Бюлетень VI читань ім. В.В.Підвисоцького, присвячених 150-річчю з дня народження.- Одеса, 2007.- С. 4-5.
7. Атаман О.В., Гарбузова В.Ю., Наумко Р.Ф., Атаман Ю.О. Аналіз закономірностей патогенезу артеріосклерозу Менкеберга за допомогою ангіопротекторів // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. Труды Крымского гос. мед. ун-та.- Симферополь, 2006.- Т.142, Ч.III.- С. 198-199 (здобувачеві належать 25% роботи, а саме: дані про вплив ангіопротекторів на розвиток уражень судин, зумовлених моноіодацетатом).
8. Атаман Ю.О. Метаболічні отрути як чинники розвитку дистрофічних і склеротичних змін у серці і кровоносних судинах // Матеріали Міжнародної наук.-практ. конф. студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів "Актуальні питання експериментальної та клінічної медицини", 25-26 квітня 2007 р., Ч 2. – Суми: Вид-во СумДУ, 2007.- С. 3-4.

АНОТАЦІЯ

Атаман Ю.О. Роль пероксидного окиснення ліпідів у розвитку уражень артерій і вен, зумовлених первинними порушеннями енергетичного обміну. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за фахом 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Харківський національний медичний університет МОЗ України, Харків, 2008.

За допомогою антиоксидантів, блокаторів кальцієвих каналів, антикальциногенних препаратів досліджено роль пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і кальцію у розвитку ранніх дистрофічних змін у стінках артерій і вен за умов введення кролям моноіодацетату (МІА). Показано, що МІА-інтоксикація (10 мг/кг протягом 14 днів) призводить до збільшення вмісту продуктів ПОЛ, зменшення активності антиоксидантних ферментів (глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази, каталази), збільшення вмісту води, загального кальцію, об'єму інулінового простору у стінках артерій і вен. Вітамін Е, ніфедипін і бісфосфонати повністю не усувають змін цих показників. Зроблено висновок про те, що активація ПОЛ при МІА-інтоксикації має вторинний характер і пов'язана з первинними порушеннями енергетичного обміну в клітинах.

Ключові слова: пероксидне окиснення ліпідів, артерії, вени, артеріосклероз Менкеберга, моноіодацетат, ангіопротектори, антиоксиданти.

АННОТАЦИЯ

Атаман Ю.А. Роль перекисного окисления липидов в развитии поражений артерий и вен, обусловленных первичными нарушениями энергетического обмена. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Харьковский национальный медицинский университет МЗ Украины, Харьков, 2008.

С помощью антиоксидантов, блокаторов кальциевых каналов, антикальциногенных препаратов исследована роль перекисного окисления липидов (ПОЛ) и кальция в развитии ранних дистрофических изменений в артериальной и венозной стенке в условиях введения кроликам ингибитора энергетического обмена моноиодацетата (МЙА).

Показано, что МЙА-интоксикация (10 мг/кг в течение 14 дней) вызывает увеличение содержания промежуточных (гидроперекиси липидов) и конечных (основания Шиффа) продуктов ПОЛ, уменьшение активности антиоксидантных ферментов (глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы, каталазы), увеличение содержания воды, общего кальция, объема инулинового пространства в стенке артерий и вен.

При сочетанном введении МЙА и ангиопротекторов (в течение 14 дней) установлено, что витамин Е (50 мг/кг) уменьшает содержание продуктов ПОЛ, воды и объем инулинового пространства в артериальных и венозных сосудах животных с МЙА-интоксикацией и не влияет на сниженную активность антиоксидантных ферментов, а также содержание общего кальция в сосудистой стенке. Нифедипин (30 мг/кг) уменьшает объем инулинового пространства в тканях артерий и вен, существенно не влияя на показатели ПОЛ, антиоксидантной ферментативной активности, содержание воды и кальция в сосудах подопытных животных. Этан-1-гидрокси-1,1-дифосфоновая кислота (130 мг/кг) уменьшает содержание кальция в сосудистой стенке и не оказывает влияния на все остальные показатели.

Ни один из трех изученных ангиопротекторов полностью не устраняет признаков ранних дистрофических изменений сосудистой стенки (отек, повреждение клеток, кальцификацию), вызванных МЙА. Это может свидетельствовать о том, что при МЙА-интоксикации перекисные и кальциевые механизмы развития дистрофически-склеротических поражений сосудистой стенки играют меньшую роль, чем в условиях воспроизведения артериосклероза с помощью высоких доз витамина Д и адреналина. Очевидно, активация ПОЛ при МЙА-интоксикации имеет вторичный характер и связана с первичными нарушениями энергетического обмена в клетках.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, артерии, вены, артериосклероз Менкеберга, моноиодацетат, ангиопротекторы, антиоксиданты.

SUMMARY

Ataman J.A. The role of lipid peroxidation in the development of arteries and veins lesions induced by primary disturbances of energy metabolism. - A manuscript.

Dissertation for awarding scientific degree of the candidate of medical sciences in speciality 14.03.04 - pathological physiology. - Kharkov National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Kharkov, 2008.

Using antioxidants, calcium channel blockers and anticalcinogenic drugs, the role of lipid peroxidation and calcium in pathogenesis of the early dystrophic changes typical for monoiodacetate-induced arteries and veins lesions was investigated. The monoiodacetate intoxication in rabbits (10 mg/kg within 14 days) was shown to cause the increase in the content of lipid peroxidation products, the reduction of activities of the antioxidative enzymes (glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase), the increase in water and general calcium content as well as the extension of inulin space volume in both arterial and venous wall. Vitamin E, nifedipine and bisphosphonates were unable to normalize these parameters in monoiodacetate-exposed animals. It was concluded, that activation of lipid peroxidation in arteries and veins occurred secondary with respect to primary disturbances of energy metabolism in the cells.

Key words: lipid peroxidation, arteries, veins, Monckeberg's arteriosclerosis, monoiodacetate, angioprotectors, antioxidants.

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГП	– глутатіонпероксидаза
ГПЛ	– гідропероксиди ліпідів
ЕГДК	– етан-1-гідрокси-1,1-дифосфонова кислота
КТ	– каталаза
МЙА	- моноіодацетат
ОП	- об'єм інулінового простору
ПОЛ	– пероксидне окиснення ліпідів
СОД	– супероксиддисмутаза
ШО	– шиффові основи