

Ангіопротекторна ефективність поєданого використання хлористого магнію та антиоксидантів в умовах тривалої гіперхолестеринемії

На експериментальній моделі алиментарного атеросклерозу у кроликів изучены ангиопротекторные возможности комплексного применения хлористого магния как блокатора кальциевых каналов и антиоксидантов (токоферола ацетата и аскорбиновой кислоты) в условиях длительной гиперхолестеринемии (ГХЕ). Установлено, что применение хлористого магния и токоферола на протяжении всего 8-месячного периода содержания животных на атерогенной диете оказывало выраженный ангиопротекторный эффект, предупреждая развитие выраженных структурных и функциональных изменений в стенке аорты. Эффективность применения указанного сочетания препаратов на фоне уже выраженных морфофункциональных изменений (в конце 4-го месяца ГХЕ) значительно снижалась, и к концу 8-го месяца содержания животных на атерогенной диете изменения структурных и функциональных свойств мало отличались от тех, которые были получены в контрольных исследованиях. Однако повышение антиоксидантной активности комплекса включением в него аскорбиновой кислоты существенно повышало ангиопротекторный эффект. Это проявлялось в способности комплекса не только оказывать защитное действие, но и вызывать частичную регрессию уже развившихся признаков атеросклеротического поражения.

Вступ

Результати досліджень останніх двох-трьох років свідчать про наявність чіткої зворотної залежності між вмістом магнію в крові та ризиком виникнення і тяжкістю перебігу ішемічної хвороби серця. На цій підставі було зроблено припущення про патогенетичну значимість гіпомангійемії в розвитку атеросклерозу [7]. Механізми проатерогенної дії дефіциту магнію в організмі до теперішнього часу не ясні, хоча відомо, що утримання щурів на дієті без магнію призводить до підвищення концентрації хіломікронів та ліпопротеїдів в плазмі крові [14], а відтворення алиментарної гіперхолестеринемії супроводжується розвитком гіпомангійемії [6]. Застосування магнію в цих умовах сприяє зменшенню вмісту холестерина, ліпопротеїдів низької щільності (ЛНЩ) та дуже низької щільності (ЛДНЩ) і підвищує вміст ліпопротеїдів високої щільності (ЛВЩ) в плазмі крові [8].

За механізмом дії магній віднесений з деякою пересторогою до класу ендогенних антагоністів кальцію, які мають, на відміну від відомих блокаторів повільних кальцієвих каналів, властивість впливати не тільки на трансмембранний струм кальцію, але й на його внутрішньоклітинний перерозподіл. Це і сприяло виникненню значного інтересу до магнію як до ангіопротекторного засобу [9, 15, 16]. Проте проведені нами раніше дослідження показали, що включення в дієту кроликів з тривалою алиментарною гіперхолестеринемією хлористого магнію, хоча і супроводжується закономірним гіполіпідемічним ефектом, має дуже помірну ангіопротекторну дію [4]. Значною мірою недостатня ангіопротекторна ефективність препаратів магнію може обумовлюватися їх впливом лише на окремі ланки механізму розвитку

атеросклерозу, перш за все — на проліферацію клітинних елементів судинної стінки, і слабо діють на пероксидацію ліпідів (ПОЛ), яка має самостійне значення в патогенезі цього процесу. Тому поєднання блокатора кальцієвих каналів фіноптину з антиоксидантом токоферолом значно сильніше впливало на найбільш важливі патогенетичні ланки механізму розвитку атеросклерозу — агрегацію тромбоцитів та активацію ПОЛ, ніж ізольоване застосування фіноптину [4]. Це й стало обґрунтуванням для детального вивчення ефективності ангіопротекторної дії комбінації хлористого магнію з антиоксидантами при гіперхолестеринемії, що відтворювалася тривалим утриманням кроликів на атерогенній дієті.

Методика

Досліди провадили на кроликах, умовно поділених на такі 5 груп: 1-у (контрольну) групу складала 10 нормальних тварин; у 2-у групу ввійшли 16 тварин, які утримувалися на стандартній атерогенній дієті (0,2 г холестерину на 1 кг маси тварини кожний день) на протязі 8 міс; 7 тварин, які складала 3-ю групу, на протязі всього 8-місячного періоду утримання на атерогенній дієті одержували рег ос хлористий магній (0,2 г) та ацетат токоферолу (10 мг) із розрахунку на 1 кг маси тварини; у 4-й групі 8 тваринам препарати починали давати через 4 міс утримання на атерогенній дієті і продовжували її на протязі наступних 4 міс; 5-у групу утворили 8 тварин, котрим розширений ангіопротекторний комплекс (хлористий магній і ацетат токоферолу в наведених дозах, а також аскорбінову кислоту — 0,5 мг/кг) застосовували на протязі 6 міс після 8-місячної атерогенної дієти. Таким чином, тварини всіх чотирьох експериментальних груп утримувалися на атерогенній дієті на протязі 8 міс, а різні схеми застосування ангіопротекторних препаратів дозволили оцінити їх можливості в попередженні виникнення (3-я група), прогресування (4-а група) та індукування зворотнього розвитку атеросклерозу (5-а група).

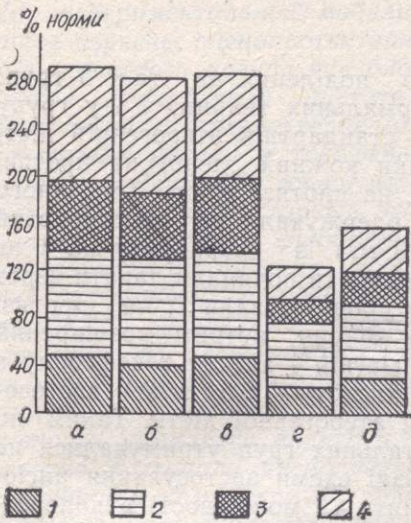
В усіх тварин вміст холестерину в крові визначали у вихідному стані і безпосередньо перед проведенням гострого дослідження. Функціональні властивості стінки грудної аорти досліджувалися за змінами тонічної напруги ізольованих кільцевих сегментів, які були розміщені в термостатованій камері та перфузувалися оксигенованим розчином Кребса. Для тестування судинної реактивності використовували такі фармакологічні речовини: норадреналін, мезатон, ацетилхолін, нітроглицерин (1 мкмоль/л), а також хлористий калій (60 ммоль/л). Ці речовини мають різні точки прикладення і дозволяють оцінювати окремі етапи судинних реакцій. Для морфологічних досліджень серійні зрізи судинної стінки зафарбовували за допомогою загальногістологічних методів (гематоксиліном та еозіном, за методом ван Гізон) та визначали в них вміст холестерину (за методом Schultz) і ліпідів (методом фарбування суданом III і суданом IV). Увесь отриманий цифровий матеріал оброблений статистично зі застосуванням критерію t Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

Утримання кроликів на атерогенній дієті на протязі 8 міс призводило до значної гіперхолестеринемії (загальна концентрація холестерину у крові збільшилася від $(2,5 \pm 0,3)$ до $(35 \pm 4,0)$ ммоль/л, що супроводжувалося розвитком значних морфофункціональних змін судинної стінки. У грудному відділі аорти виникало тяжке ураження — численні зливні фіброзні бляшки займали до 80 % її поверхні, товщина інтими досягала 75 % загальної товщини стінки. Функціональні зміни виявлялися різким достовірним ($P < 0,001$) зниженням чутливості практично до всіх тестуючих впливів (малюнок). Більш як на 50 % зменшилося середнє значення показника реакції судинної стінки на гіперкалієвий розчин, що свідчить про зниження чутливості скорочувального апарату клітин гладеньких м'язів до кальцієвої активації. Цим, мабуть,

обумовлювалося і послаблення реакцій судинної стінки на констрикторні впливи, опосередковані рецепторами,— на мезатон (на 60 %) та норадреналін (на 50 %). Ще більшою мірою пригнічувалися дилаторні судинні реакції, незалежні від ендотелію — на нітроглицерин (на 70 %) і залежні від ендотелію реакції — на ацетилхолін (на 78 %), що свідчить про зменшення стимульованого вивільнення ендотеліального фактору релаксації та зниження чутливості до нього клітин гладеньких м'язів судинної стінки (див. малюнок).

Застосування хлористого магнію і ацетата токоферолу на протязі всього періоду утримання тварин на дієті значно зменшило виразність гіперхолестеринемії (концентрація холестерину в крові підвищилася тільки до $15,2$ ммоль/л $\pm 2,1$ ммоль/л). Це поєднувалося зі значно менш помітним порушенням морфофункціональних властивостей стінки судин, ніж в кон-



Характер реакції (% норми) на норадреналін (а), мезатон (б), хлористий магній (в), нітроглицерин (г) ізольованих кільцевих сегментів грудної аорти кроликів:

1— після 8 міс утримання на атерогенній дієті; 2— які на протязі 8 міс атерогенної дієти отримували хлористий магній та токоферол ацетат; 3— які через 4 міс після початку атерогенної дієти на протязі останніх 4 міс отримували хлористий магній та токоферол ацетат; 4— які після атерогенної дієти, на протязі 6 міс отримували хлористий магній, токоферол ацетат та аскорбінову кислоту.

трольних дослідженнях. Характер ураження відповідав ліпосклеротичній стадії атеросклерозу з поодинокими ділянками атероматозного розпаду та кальцінозу. Товщина бляшок не перевищувала 30—40 % загальної товщини стінки. Значною мірою зберігалася і функціональна активність досліджених сегментів: реакція на гіперкалієвий розчин була знижена відносно нормального рівня тільки на 11 % (тобто була на 90 % більше, ніж в контрольних дослідах), реакції на мезатон і норадреналін перевищували контрольні значення відповідно на 127 % та 90 % ($P < 0,001$). Зберігалася також здатність судинних полосок розвивати дилаторні реакції на прямі впливи (реакція на нітроглицерин перевищувала контрольне значення на 112 %) та на ендотелій-залежні (відповідь на ацетилхолін була на 153 % вищою контрольної, $P < 0,001$).

Ці результати свідчать про те, що профілактичне застосування хлористого магнію та ацетата токоферолу сприяє збереженню метаболізму ліпідів, структури судинної стінки і функціональних властивостей клітин гладеньких м'язів та, особливо, ендотелію в умовах тривалого та важкого навантаження організму холестерином.

У дослідженнях, в яких препарати почали застосовувати з кінця 4-го місяця атерогенної дієти на тлі вже розвинутих виразних морфофункціональних зрушень (3-я група тварин), захисний ефект препаратів виявився значно меншим. Так, концентрація холестерину в крові у цих тварин була майже такою, як і у контрольних: ($35,0 \pm 4,5$) ммоль/л, характер структурних змін стінки (значний фібросклероз з атероматозним розпадом, різке потовщення інтими) також відповідає результатам досліджень контрольних тварин. Не спостерігався і скільки-небудь захисний ефект відносно функціональних властивостей стінки грудної аорти — фактично до того ж значення, що і у тварин контрольної групи, доходили значення показника реактивності судинної стінки до всіх тестуючих впливів.

Приймаючи до уваги досить низьку ефективність застосованих препаратів для попередження прогресування атеросклерозу на тлі вже розвинутого процесу, ми посилили антиоксидантний потенціал комплексу аскорбіновою кислотою. Виходячи з даних літератури, сама по собі аскорбінова кислота не має антиоксидантних властивостей, але значно підвищує ефективність ацетата токоферолу [3]. Ангіопротекторні властивості цього комплексу препаратів були вивчені при його щоденному застосуванні на протязі 6 міс після 8-місячної атерогеної дієти. Отримані результати свідчать про практично повну нормалізацію вмісту холестерину в крові через 6 міс застосування цього комплексу препаратів та про значне зменшення ураження стінки аорти, що по поширенню та глибині наближувалося до спостережогого після 2 міс атерогеної дієти. Повністю зникали всі ознаки ліпоїдозу, зменшувалася товщина інтими, піддавалися значній регресії фібросклеротичні бляшки. Спостерігалось також виразне відновлення функціональних властивостей судинної стінки, особливо її гладеньких м'язів: значення показника реакції на гіперкалієвий розчин збільшилося на 90 % ($P < 0,001$), і досягло 90 % контрольного. Приблизно в тому ж діапазоні відновлювалися реакції на мезатон і норадреналін. Здатність судинних сегментів розвивати прямі та ендотеліязалежні дилататорні реакції залишалася значно зниженою. Так, відповідь на нітроглицерин зросла тільки на 37 % ($P < 0,02$) в порівнянні з контрольною і залишалася на 60 % нижчою від нормальної, а реакція на ацетилхолін збільшилася в середньому на 33 % ($P < 0,05$) і була значно (на 70 %) меншою від норми.

Здатність магнію чинити пригнічуючий вплив на динаміку атеросклеротичного процесу може обумовлюватися кількома механізмами. Як ендогенний антагоніст кальцію, магній здатний пригнічувати проліферацію клітинних елементів інтими, тобто саме той процес, що лежить в основі ініціації атеросклерозу. Це пояснює встановлене нами зниження ефективності застосування магнію, якщо воно почато на тлі вже розвинутого процесу [10]. Магній також здатний зменшувати інтенсивність взаємодії судинної стінки з тромбоцитами, як пригнічуючи агрегаційний потенціал останніх [14], так і стимулюючи проліферацію ендотеліальних клітин [5] і вивільнення з них простагліну [12]. Крім того, відновлення вмісту магнію або попередження виникнення його дефіциту в умовах гіперхолестеринемії сприяє нормалізації метаболізму ліпідів [8]. У той же час магній не впливає, а за деякими даними, може навіть стимулювати перекисні процеси. Це істотно знижує його ефективність як ангіопротекторного засобу, і поєднання магнію з антиоксидантами, як показали проведені дослідження, здатне не тільки попередити виникнення, але й викликати часткову регресію атеросклерозу. Антиоксиданти і, особливо, токоферол посилюють антитромбогенні властивості судинної стінки, підвищують її здатність утворювати простаглілін [11], пригнічують адгезію, агрегацію та прискорюють дезагрегацію тромбоцитів [1], зменшують вміст у крові найбільш атерогенної різновидності ліпопротеїдів — ЛП (а), зменшують міру модифікованості ліпопротеїдів [2].

Висновок

Поєднання препаратів магнію та антиоксидантів має значні ангіопротекторні властивості, які характеризуються попередженням розвитку атеросклеротичних проявів в умовах тривалої гіперхолестеринемії і значною регресією вже розвинутих морфофункціональних змін стінки судин.

THE ANGIOPROTECTIVE EFFICACY OF THE COMBINED
APPLICATION OF MAGNESIUM CHLORIDE AND ANTIOXIDANTS
DURING PROLONGED HYPERCHOLESTEROLEMIA

The angioprotective efficacy of combined application of magnesium chloride and antioxidants during prolonged hypercholesterolemia has been investigated on the experimental model of atherosclerosis in rabbits. The application of magnesium chloride and acetate tocopherol from the very beginning of the atherogenic diet is shown to exert a pronounced angioprotective effect preventing the development of structural and functional changes in the aorta wall. If the treatment is initiated against the background of the well developed atherosclerotic symptoms, its efficacy is less pronounced but remains still on a quite high level. These data indicate that combination of magnesium chloride and antioxidants has not only protective action but can also induce partial regression of the developed atherosclerotic changes.

The Ukrainian Research Institute of Cardiology,
Ministry of Public Health of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Закревская А. Л., Михайлова И. А. Механизмы нарушений тромбоцитарнососудистого гемостаза.— Л.: Наука, 1988.— 320 с.
2. Левченко В. А., Герелюк И. П., Середюк Н. Н. и др. Влияние α -токоферола в сочетании с финоптином на содержание гидроперекисей липидов в липопротеидах и функциональную активность тромбоцитов у больных со стабильной стенокардией напряжения // Кардиология.— 1989.— 29, № 6.— С. 25—27.
3. Морозкина Т. С., Гринько И. В., Суколинский В. Н. и др. Эффективность совместного применения липидо- и водорастворимых биоантиоксидантов // Вопр. питания.— 1989.— № 3.— С. 56—60.
4. Тараненко В. М., Тишкин С. М., Талаева Т. В., и др. Эффективность защиты сосудистой стенки от атеросклеротического повреждения различными кальциевыми антагонистами // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1991.— № 1.— С. 5—7.
5. Banai S., Haggroth L., Epstein S., Casscells W. Influence of extracellular magnesium on capillary endothelial cell proliferation and migration // Circ. Res.— 1990.— 67, N 3.— P. 645—659.
6. Chaudhary R. R. Blood cholesterol and serum magnesium-inverse correlation in health and disease // Ind. Med. J.— 1987.— 81, N 8.— P. 140—143.
7. Feldstedt M., Boesgaard S., Bouchelouche P. et al. Magnesium substitution in acute ischemic heart syndromes // Europ. Heart. J.— 1991.— 12, N 11.— P. 1215—1218.
8. Fernandes J. S. Magnesium and dyslipemia—a clinical approach // Proc. Int. Symp. on Atherosclerosis.— Lissabon, 1991.— P. 32—33.
9. Gold M. E., Buga G. M., Wood K. S. et al. Antagonistic modulatory role of magnesium and calcium on release of endothelium-derived relaxing factor and smooth muscle tone // Circ. Res.— 1990.— 66, N 2.— P. 355—366.
10. Jackson C. L., Bush R. C., Bowyer D. E. Mechanism of antiatherogenic action of calcium antagonists // Atherosclerosis.— 1989.— 80, N 1.— P. 17—26.
11. Jandak J., Steiner M., Richardson P. D. α -tocopherol, an effective inhibitor of platelet adhesion // Blood.— 1989.— 73, N 1.— P. 141—149.
12. Nadler J. L., Goodson S., Rude R. V. Evidence that prostacyclin mediates the vascular action of magnesium in humans // Hypertension.— 9, N 4.— P. 379—383.
13. Noma A., Maeda S., Okuno M. et al. Reduction of serum Lipoprotein (a) levels in hyperlipidemic patients with α -tocopherol nicotinate // Atherosclerosis.— 1990.— 84, N 2.— P. 213—217.
14. Rayssiguier Y., Gueux E., Durlach U. et al. Effect of magnesium deficiency on post-heparin lipase activity and tissue lipoprotein lipase in the rat // Lipids.— 26, N 3.— P. 182—186.
15. Sjogren A., Edvinsson L., Ottosson A. Vasomotor responses of isolated human coronary arteries to magnesium, nitroglycerin and verapamil; a comparison with coronary arteries from cat and rat // Acta Pharmacol. and Toxicol.— 1986.— 59, N 3.— P. 195—203.
16. Vigorito C., Giordano A., Ferrato P. et al. Hemodynamic effects of magnesium sulfate on the normal human heart // Amer. J. Cardiol.— 1991.— 67, N 16.— P. 1435—1437.