

**Зміни вмісту загального кальцію,
активності лужної фосфатази
і γ -глутамілтрансферази в сироватці крові щурів
при експериментальному артеріосклерозі Менкеберга**

С целью моделирования артериосклероза Менкеберга крысы подвергали воздействию «острой» и «подострой» гиперadreналинемии и интоксикации моноиодацетатной кислотой. Изучение содержания общего кальция, активности щелочной фосфатазы и γ -глутамилтрансферазы в сыворотке крыс показало снижение содержания общего кальция через час после введения адреналина, его увеличение на 7-е сутки моноиодацетатной интоксикации, относительное увеличение активности костных изоферментов щелочной фосфатазы на 7-е сутки «подострых» гиперadreналинемии и моноиодацетатной интоксикации. Эти косвенные свидетельства изменения активности паратгормона позволяют предполагать, что нарушение кальциевого обмена может быть относительно самостоятельным звеном в патогенезе медиакальциноза артерий. Сдвиги в системе регуляции содержания внеклеточного кальция крови, направленные на его нормализацию, в условиях нарушения регуляции концентрации внутриклеточного кальция в гладкомышечных клетках (при повреждении) могут быть фактором, включающим метастатическую и усиливающую дистрофическую кальцификацию структур средней оболочки артерий.

Вступ

Особлива форма ураження артерій, яку вперше описав в 1903 р. Monckeberg [14], зустрічається так само часто, як і атеросклероз, та залишається практично не вивченою з точки зору походження і патогенетичної суті [2, 16]. Артеріосклероз Менкеберга - це розвиток у середній оболонці великих артерій явищ набряку, медіанекрозу, дегенерації еластичних структур з подальшим медіакальцинозом і склерозом [2, 5].

Аналіз механізмів патогенного впливу *in vivo* факторів, які використовуються при моделюванні артеріосклерозу Менкеберга (адреналін, моноиодацетат [2]) дозволяє висловити припущення про те, що розвиток цієї форми артеріосклерозу може бути зумовлено гострим масивним пошкодженням ендотелію [3] та гіперскороченням і ушкодженням гладеньком'язових клітин (ГМК) артерій під дією катехоламінів, а також гіперкальціємією за умов порушення функціонування механізмів регуляції концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$ у ГМК при пошкодженні судинної стінки (наприклад, при тканинній гіпоксії, дефіциті АТФ і супутньому гіпоксії негазовому ацидозі) [1, 8, 11, 12].

Ключовою особливістю артеріосклерозу Менкеберга є кальцифікація середньої оболонки артерій [2, 14, 16]. Згідно з загальноприйнятими

поглядами, процес патологічної кальцифікації тканини розвивається у вигляді дистрофічної кальцифікації, яка виникає на фоні нормального вмісту кальцію в крові, або за типом метастатичної кальцифікації при гіперкальціємії [15, 16].

Відсутність інформації про вміст загального кальцію в сироватці крові в процесі розвитку артеріосклерозу менкебергівського типу не дозволяє обговорювати участь метастатичної кальцифікації в його патогенезі. Тому, здається, вивчення вмісту загального кальцію в сироватці крові дослідних щурів у початковому періоді розвитку експериментального медіакальцинозу аорти надасть таку інформацію. Крім того, вивчення активності сироваткової лужної фосфатази (ЛФ) і γ -глутамілтрансферази (γ -ГТ) дозволить виявити порушення рівноваги в системі регуляції вмісту кальцію в крові. Відомо, що сироваткова ЛФ є сумішшю приблизно рівної кількості кісткових і печінкових ізоферментів [17]. Про збільшення активності печінкових ізоферментів ЛФ свідчить збільшення активності γ -глутамілтрансферази в сироватці [7, 18], а збільшення відношення «сироваткова ЛФ/ γ -ГТ» є доказом збільшення активності кісткових ізоферментів ЛФ [7]. Оскільки активність кісткових ізоферментів ЛФ у сироватці визначається активністю остеобластів (яку контролює паратгормон - ПТГ) [6, 7], одночасна реєстрація і аналіз змін активності сироваткової ЛФ і γ -ГТ дозволить опосередковано виявити зміни активності ПТГ і зіставити їх з вмістом загального кальцію в крові дослідних щурів.

Методика

Дослідження проведені на 55 білих щурах масою 130-180 г за умов «гострого» і «підгострого» впливу адреналіном і моноіодацетатом (МІА). Розчин адреналіну вводили в дозі 50 мкг/кг при «гострому» впливі і протягом 6 діб - при «підгострому» - раз на добу. Розчин МІА вводили в дозі 25 мг/кг за умов «гострого» впливу. «Підгостру» інтоксикацію відтворювали за схемою: 1-ша доба - 25 мкг/кг, наступні 5 діб - по 10 мг/кг щодобово. Як розчинник використовували стерильний ізотонічний розчин натрію хлориду. Кінцевого значення рН розчину МІА (7,4) досягали за допомогою стерильного насиченого розчину гідрокарбонату натрію в фізіологічному розчині. Розчини вводили в черевну порожнину з дотриманням правил асептики.

Об'єктом дослідження служила сироватка інтактних і дослідних щурів. До I групи увійшли тварини, яким вводили адреналін, до II - тварини, яким вводили МІА, до III - інтактні тварини (контроль). Матеріал для дослідження брали через годину і добу після «гострого» і на 7-му добу «підгострого» впливу. Під поверхневим ефірним наркозом тварин декапітували, кров збирали в стерильну пробірку. Визначення вмісту загального кальцію в сироватці крові щурів робили за кольоровою реакцією з метилтимоловим голубим. Вивчення активності сироваткової ЛФ здійснювали за гідролізом п-нітрофенілфосфату [4]. Активність γ -ГТ в сироватці крові щурів виз-

начали за за-
глутаміл-4-ніт

Використову-
до них. Цифр
використанням

Результати та

«Гостра» гін-
активності сир-
дину після вв-
вірогідно змен-
тивності сиров-
виявило стати-
Через добу пі-
крові тварин.
В той же ча-
вмісту загальн-
ня. Цей прирі-
в сироватці до-
сприяє напруж-
клітинах (ендо-
ставництво
медіакальциноз-
вації скорочен-
руть участь і
вивільнюються
катехоламінів
скорочення д-
зовнішнього се-
активації скор-
залежно від д-
роль внутрішн-
техоламінами
адренорецептор
супроводжуєтьс-
як діацилглі-
вивільнювати

Цілком віро-
артерій при
мобілізують С
функціональног
витку декомпе-
еластичного ти-
свою чергу, м-
більш високу
тільки ГМК, а

начали за загальноприйнятим методом з використанням субстрату L- γ -глутаміл-4-нітроаніліду і гліцилгліцинового буферу [4].

Використовували набори реактивів «Roche» (Німеччина) і інструкції до них. Цифрові результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерія t Стюдента і таблиць вірогідності «Р» Фішера.

Результати та їх обговорення

«Гостра» гіперадреналінемія. Аналіз змін вмісту загального кальцію, активності сироваткової ЛФ і γ -ГТ показав (таблиця), що через годину після введення адреналіну в сироватці крові щурів статистично вірогідно зменшився вміст загального кальцію ($P < 0,05$). Порівняння активності сироваткової ЛФ і γ -ГТ у контрольній і дослідній групах не виявило статистично вірогідної різниці в даний термін дослідження. Через добу після введення адреналіну загальний кальцій у сироватці крові тварин контрольної і дослідної груп істотно не відрізнявся. В той же час відмічено статистично вірогідне ($P < 0,001$) збільшення вмісту загального кальцію відносно попереднього терміну спостереження. Цей приріст вмісту загального кальцію з метою його нормалізації в сироватці дослідних щурів, ми вважаємо, може бути фактором, який сприяє напруженню та декомпенсації механізмів регуляції $[Ca^{2+}]_i$ в клітинах (ендотеліоцити, ГМК) тих судин, які мають найбільше представництво α_1 -адренорецепторів і які є «мішенню» для медіакальцинозу. Дане припущення побудовано на тому, що в активації скорочення під впливом катехоламінів на α_1 -адренорецептори беруть участь іони Ca , які надходять з позаклітинного середовища і вивільнюються з внутрішньоклітинних депо. В тих випадках, коли дія катехоламінів на ГМК опосередкована α_2 -адренорецепторами, активація скорочення досягається тільки внаслідок надходження Ca^{2+} із зовнішнього середовища [9]. Участь внутрішньоклітинного кальцію в активації скорочення ГМК при дії катехоламінів суттєво відрізняється залежно від ділянки судинного русла. Саме у магістральних артеріях роль внутрішньоклітинного кальцію в активації скорочення ГМК катехоламінами значніша [9]. Нещодавно було з'ясовано, що серед α -адренорецепторів в артеріях переважає α_1 -субтип [13], активація якого супроводжується утворенням у клітинах таких вторинних посередників, як діацилгліцерол та інозитолтрифосфат. Останній здатний вивільнювати Ca^{2+} з внутрішньоклітинних депо [10].

Цілком вірогідно, що збільшення входу позаклітинного Ca^{2+} у ГМК артерій при дії агоністів (катехоламіни та адреноміметики), які мобілізують Ca^{2+} з внутрішньоклітинних депо, сприяє зниженню функціонального резерву, перенавантаженню й більш швидкому розвитку декомпенсації в системах відновлення $[Ca^{2+}]_i$ в ГМК артерій еластичного типу порівняно з ГМК артерій інших типів і вен. Це, в свою чергу, може бути одним з важливих факторів, які визначають більш високу чутливість до пошкоджуючого впливу катехоламінів не тільки ГМК, але й ендотелію артерій еластичного типу порівняно з

Зміни вмісту загального кальцію, активності лужної фосфатази, γ -глутамілтрансферази в сироватці крові щурів при розвитку експериментального артеріосклерозу Менкеберга ($M \pm m$)

Умова досліджу	Загальний кальцій, ммоль/л	Лужна фосфатаза, ум.од.	γ -глу- тамілтрансфераза, ум. од.
До гіперадреналінемії (контроль, $n = 10$)	$2,09 \pm 0,19$	$899,9 \pm 53,6$	$2,30 \pm 0,30$
Гіперадреналінемія через			
1 год ($n = 10$)	$1,51 \pm 0,20^*$	$798,5 \pm 50,3$	$3,00 \pm 0,52$
1 добу ($n = 10$)	$2,38 \pm 0,10^{**}$	$790,0 \pm 51,8$	$8,30 \pm 2,18^{***}$
7 діб ($n = 8$)	$1,58 \pm 0,06^{*,***}$	$741,3 \pm 76,3$	$0,75 \pm 0,25^{***}$
До інтоксикації (контроль, $n = 10$)	$2,03 \pm 0,07$	$562,6 \pm 29,5$	$1,25 \pm 0,23$
Після моноіодацетат- ної інтоксикації через			
1 добу ($n = 8$)	$1,80 \pm 0,08$	$442,0 \pm 40,8^*$	$5,50 \pm 0,82^*$
7 діб ($n = 9$)	$2,45 \pm 0,07^{*,***}$	$845,0 \pm 54,7^{*,***}$	$1,88 \pm 0,48^{**}$

* вірогідність відносно до контролю, ** вірогідність відносно до попереднього терміну спостереження.

ендотелієм артерій м'язового типу та вен. Саме це ми спостерігали при моделюванні артеріосклерозу менкебергівського типу [3]. «Підгостра» гіперадреналінемія. Через добу після 6-добового введення адреналіну в сироватці крові дослідних тварин зменшувався вміст загального кальцію (вірогідно щодо контролю і попереднього терміну спостереження, $P < 0,01$) на фоні незмінної активності сироваткової ЛФ. Виявлене в організмі щурів з гіперадреналінемією зменшення вмісту загального кальцію, зменшення активності γ -ГТ (3-разове відносно до контролю) на фоні збереження активності ЛФ дозволяє припускати збільшення активності кісткових ізоферментів ЛФ і збільшення функціонування ПТГ. Гіпокальціємія в цьому випадку може бути наслідком посиленого виведення Ca^{2+} з крові, в т.ч. у тканини судинної стінки з пошкодженням її структур. Свідченням цього можуть бути виражені в середній оболонці аорти зміни ультраструктурної організації наводнення цитоплазми ГМК, деструктивні зміни органел, некротично змінені ГМК і ГМК-«павуки», стиснені розширеним і згущеним еластичним каркасом [3].

«Гостра» моноіодацетатна інтоксикація. Через добу після введення МІА вміст загального кальцію в сироватці крові дослідних тварин не відрізняється від контролю. Виявлено зниження активності сироваткової ЛФ ($P < 0,001$), збільшення активності γ -ГТ ($P < 0,02$), які свідчать про збільшення вмісту в крові печінкових, а не кісткових ізоферментів ЛФ. У свою чергу, це може бути опосередкованим доказом зниження

активності в регулюються «Підгостра» в сироватці кальцію ($P < 0$) на фоні нормативності сироватки кістковий бового введення ПТГ. Остання інтоксикації організмі щурів кої тканинно первинно зумовлені ти у позаклітинній в описаній взаємодії ПТГ чутливості пацієнтів у жіночій чутливості збільшена кількість як недостатня

Отже, виявлені підвищення (і ПТГ) дозволяють (зі збільшенням) відносно самої незміненості артеріосклерозу

Висновки

Виявлені при зміні вмісту системи його в ранньому періоді артеріосклерозу

O.V.Goldobina

CHANGES OF CALCIUM AND γ -GLUTAMYL TRANSFERASE IN RATS' SERUM

Experiments on the effect of monoiodoacetate on the concentration of calcium in serum at Monodiodoacetate induced reduction of hyperepinephrine

активності в сироватці кісткових ізоферментів ЛФ, які безпосередньо регулюються ПТГ.

«Підгостра» моноіодацетатна інтоксикація. На 7-му добу дії МІА в сироватці крові дослідних тварин збільшується вміст загального кальцію ($P < 0,05$), підвищується активність сироваткової ЛФ ($P < 0,001$) на фоні нормалізації активності γ -ГТ. Збільшення відношення «активність сироваткової ЛФ/активність γ -ГТ» свідчить про зростання частки кісткових ізоферментів ЛФ у сироватці крові щурів після 6-добового введення МІА і, відповідно, про посилення функціонування ПТГ. Останнє є дещо несподіваним через те, що при підгострій МІА-інтоксикації (неодноразове введення достатньо великих доз МІА) в організмі щурів можливий розвиток негазового ацидозу внаслідок важкої тканинної гіпоксії [2, 8], при якому збільшення Ca^{2+} у крові первинно зумовлено включенням механізмів корекції надлишка кислоти у позаклітинній рідині [8]. Можливо, збільшення активності ПТГ в описаній ситуації спричинене й порушенням інтимних процесів взаємодії ПТГ з його рецепторами на клітинах-мішенях або зміною чутливості паратироцитів до сигналу (Ca^{2+}). У такому разі при зниженні чутливості паратироцитів до кальцієвого сигналу навіть збільшена концентрація Ca^{2+} в позаклітинній рідині може сприйматися як недостатня.

Отже, виявлені нами після 6-добового введення МІА непрямі ознаки підвищення в сироватці крові активності кісткових ізоферментів ЛФ (і ПТГ) дозволяють припустити, що посилення функціонування ПТГ (зі збільшенням входу Ca^{2+} в клітини судинної стінки) може бути відносно самостійною ланкою порушення кальцієвого обміну в патогенезі артеріосклерозу менкебергівського типу.

Висновки

Виявлені при гострій і підгострій дії адреналіну і моноіодацетату зміни вмісту загального кальцію в сироватці крові щурів і зсуви в системі його регуляції, ймовірно, можуть мати патогенетичне значення в ранньому періоді розвитку медіакальцинозу - основного прояву артеріосклерозу менкебергівського типу.

O.V.Goldobina

CHANGES OF COMMON CALCIUM LEVEL, ALKALINE PHOSPHATASE AND γ -CLUTAMYLTRANSFERASE ACTIVITIES IN RATS' SERUM AT MONCKEBERGS MEDIAL CALCIFIC SCLEROSIS MODELMENT

Experiments on rats (singl-action, six-days' hyperepinephrinemia and monoiodacetatic acid intoxication) were performed to study the calcium concentration, alkaline phosphatase and γ -glutamyltransferase activitis in serum at Monckeberg's medial calcific sclerosis modelment. It is established reduction serum level of calcium in an hour past singl-acting hyperepinephrinemia, increase it's level after six-days'-monoiodacetatic

intoxication, increase of «serum alkaline phosphatase activity/ γ -glutamyltransferase activity» (as indirect evidences the bone isozyme of alkaline phosphatase and parathyroid hormone activity increase [7]) after six-days' hyperpinephrinemia and monoiodoacetic acid intoxication. Probably, these changes in serum calcium metabolism and system its regulation may play pathogenetic role in early period Monckeberg's arteriosclerosis.

O.O.Boromolets National Medical University,
Kiev Department of Pathophysiology

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. - М.: Мир. - 1994. - 517 с.
2. Быць Ю.В. Роль нарушений метаболизма сосудистой стенки в процессе ее склерозирования: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - К. - 1973. - 44 с.
3. Голдобина Е.В., Стеченко Л.А., Быць Ю.В. Ультраструктурные изменения эндотелия магистральных сосудов при острой и подострой гипердреналинемии // Доп. НАН Украины. - 1996. - № 9. - С. 147-152.
4. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н. Методы клинической биохимии. - В кн.: Лабораторные методы исследования в клинике. - М.: Медицина. - 1987. - 368 с.
5. Самохин П.А., Романенко В.А., Салмина О.С. Идиопатический артериальный кальциноз у детей и легочный гигантоклеточный эластоз // Арх. патологии. - 1990. - 52, № 12. - С. 24-28.
6. Таппермен Дж., Таппермен Х. Обмен кальция. - В кн.: Физиология обмена веществ и эндокринной системы. - М.: Мир, 1989. - 609 с.
7. Фишер П.М. Щелочная фосфатаза, повышение активности. - В кн.: «Трудный диагноз» / Под ред. Тейлора Р.Б. - М.: Медицина, 1992. - Т. 2. - С. 540-547.
8. Хруска К. Почки и гомеостаз в норме и при патологии. - М.: Медицина, 1987. - 448 с.
9. Шуба М.Ф., Кочемасова Н.Г. Физиология сосудистых гладких мышц. - К.: Наук. думка, 1988. - 252 с.
10. Berridge M.J. Inositol triphosphate and diacylglycerol as second messengers // Biochem. J. - 1984. - 220. - P. 345.
11. Fischer J.A., Blum J.W., Born W., Dambacher M.A., Dempster D.W. Regulation of parathyroid hormone secretion in vitro and in vivo // Calcified Tissue Int. - 1982. - 34, № 4. - P. 313-316.
12. Hargis G., Bowser E., Kukreja S. et al. Parathyroid hormone and calcitonin secretion. Responses to calcium and to β -adrenergic, α -adrenergic and parasympathetic influences // In: Horm. Control Calcium Metab. Proc. 7 Int. Conf. Calcium Regul. Horm. (7 Parathyroid Conf), Estes Park, Colo, Sept. 5-9, 1980. - Amsterdam, 1980. - P. 344.
13. Iton H., Kato K., Taniguchi K., Raifer S.J. Different respons to catecholamine in canine arteries and veins // Pathophysiology. - 1994. - 1. - P. 373.
14. Monckeberg J.G. Uber die reine Mediaverkalkund der Extremitatenarterien und ihr Verhalten zur Arteriosklerose // Arch. path. Anat. u Physiol. - 1903. - 171, № 17. - P. 141-167.
15. Schoen F.J. Calcification: Pathology, mechanisms, and strategies of prevention // J.Biomed. Mater. Res. - 1988. - 22, № 1a. - P. 215.
16. Schoen F.J. Monckeberg's arteriosclerosis (medial calcific sclerosis). - In: Robbins Pathologic basis of disease / 5th Edition. - 1994. - P. 484.
17. Wolf P.L. Interpretation of increased and decreased serum alkaline phosphatase. - In: Clinical enzymology / Ed. J.C.Griffiths. - New York: Masson, 1979. - P. 111-121.
18. Posen S., Doherty E. Serum alkaline phosphatase in clinical medicine // Adv.Clin.Chem. - 1981. - P. 163-245.

Нац. мед. ун-т ім. О.О.Богомольця,
Київ

Матеріал надійшов
до редакції 15.09.97

Оцінка дії нових радіопротективних препаратів на імунний статус

Проведені експериментальні дослідження з метою оцінки впливу нових радіопротективних препаратів на імунний статус мишей. Встановлено, що нові препарати підвищують рівень імунітету, що виражається в збільшенні кількості лейкоцитів, підвищенні активності фагоцитозу, збільшенні кількості антитіл до чужорідних антигенів.

Вступ

Характер харчування та накопичення та відомих, що за певний чинник має вплив на рівень енергії, активності [8]. Нині розроблено нові добавки радіопротективні властиві висока енергетичний рівень енергії приділяли уваги. Метою нашої роботи є оцінка нових харчових добавок каротинового, шкідливого з шипши групи В) за до

Методика

Дослідження проводили на мишах. Тварин розподілили на дві групи. Тварини дослідної групи щодобово, протягом 14 днів (ППР): м'ясо-кістковий екстракт з рівнем забрудження 100 мкг/кг, ли шури II гру