

Структурна організація ендотелію аорти за умов гіперхолестеринемії та впливу L-аргініну

При электронно-микроскопическом исследовании грудного отдела аорты кроликов показано, что в условиях экспериментальной гиперхолестеринемии наиболее уязвимым является эндотелий. Введение животным предшественника биосинтеза оксида азота L-аргинина на фоне гиперхолестеринемии приводит к активации функциональной деятельности эндотелия аорты. Об этом свидетельствует повышение у этих животных количества белоксинтезирующих структур (рибосом, полисом, канальцев эндоплазматической сети), секреторных гранул по сравнению с показателями у кроликов, находящимися только на атерогенной диете. В условиях стимуляции NO-синтетической активности эндотелия улучшаются и дилататорные реакции на ацетилхолин аортальных полосок.

Вступ

При атеросклерозі, артеріальній гіпертензії та інших патологічних станах порушуються функціональна активність та структурна цілісність ендотелію. Це в свою чергу призводить до порушення місцевих судинних реакцій, в яких беруть участь ендотеліозалежні гуморальні речовини [1, 3, 5, 7, 10]. Однак є дані, які свідчать, що введення попередника біосинтезу оксиду азоту (NO) L-аргініну може стимулювати синтетичну активність судинного ендотелію [11, 12]. Це спостерігається і за умов експериментальної гіперхолестеринемії [4, 6, 8, 9].

Мета нашої роботи - вивчення впливу тривалої стимуляції NO-синтетичної активності на структурну організацію ендотелію аорти за умов гіперхолестеринемії.

Методика

Проведено електронно-мікроскопічне дослідження ультраструктурної організації ендотелію грудного відділу аорти кролів. Тварини були поділені на три групи: I - інтактні тварини (контроль); II - тварини з експериментальною гіперхолестеринемією, яким через зонд вводили протягом 4 міс, розчинений в олії холестерин (0,2 г/кг); III - тварини, котрі знаходилися на атерогенній дієті та одержували кожну добу впродовж 4 міс L-аргінін (фірми "Sigma", США; 25 мг/кг, внутрішньовенно). Матеріал після подрібнення фіксували в 1 %-му розчині чотириокису осмію за Колфільдом протягом 2 год на холоді. Об'єкти обезводнювали в етанолі зростаючої концентрації, а також в ацетоні і заливали у суміш епону з аралдитом за загальноприйнятою

методикою [2]. Ультратонкі зрізи одержували на ультратомах LKD і Reichert, контрастували їх 2 %-м розчином ураніацетату на 70 %-му етанолі впродовж 15 хв і цитратом свинцю стільки ж часу, а потім вивчали в електронному мікроскопі EMB-100B і EMB-100BP.

Для тестування судинної реактивності на аортальних смужках використовували ацетилхолін (фірми "Sigma", США), що є ендотелійзалежним дилататором (10^{-6} моль/л). Судинні смужки масою 3-5 мг вміщували у термостатовану перфузійну камеру об'ємом 1 мл, де їх піддавали вихідному пасивному натягуванню силою 10-15 мН. Аортальні препарати перфузували нормальним розчином Кребса при 36,6-37 °С. Скорочувальну активність гладеньких м'язів аорти реєстрували за допомогою механоелектричного перетворювача 6MXIC у режимі, близькому до ізометричного. Зміни тонічного напруження гладеньких м'язів аорти вивчали за відношенням до заданого рівня їх активації (плато норадреналінової контрактури), що приймався за 100 %. Масову частку холестерину в крові визначали у вихідному стані та безпосередньо перед проведенням експерименту за методом Ілька.

Результати та їх обговорення

При електронно-мікроскопічному дослідженні оболонки грудного відділу аорти кролів у нормі було встановлено, що вони мають звичайну для таких клітин будову. В цитоплазмі знаходиться помітна кількість рибосом, мікропіноцитозних везикул, мітохондрій та інших клітинних структур. Виразно представлений комплекс Гольджі. Про ділення цих клітин свідчить наявність центріолей. Ядра ендотеліальних клітин витягнутої форми та містять переважно еухроматин, тобто, в основному, активно регулюють синтетичну функцію клітин. Аналіз аорти кролів після 4-місячної атерогенної дієти показав, що на великому відрізку судин ендотеліальний шар десквамований. У цих ділянках спостерігається скупчення зруйнованих колагенових волокон, фрагментів гладеньком'язових клітин, фібробластів, макрофагів і ліпідних включень. В ендотелії на ділянках, які залишилися, як правило, у всіх клітинах відмічаються пошкодження структурної організації. Ці клітини занадто скорочені, про що свідчить їх округла форма. Така ж форма у більшості ядер. Десквамовані ендотеліальні клітини, які виявлені у просвіті судин, за своєю формою та структурною організацією подібні до макрофагальних клітин.

У підендотеліальній зоні скупчується набрякла рідина, що містить білкові преципітати, в ендотеліальних клітинах - вакуолі зі схожим матриксом, що свідчить про транспорт її через ендотелій (рис. 1). У цій же зоні спостерігається деструкція еластичних мембран і колагенових волокон, розволокнення їх на окремі мікрофібрилярні та глобулярні структури. Частина гладеньком'язових клітин набрякла й має мікроклазматозні вирости, які складаються з деструктованих мікрофіламентів. Відокремлені від клітин вони також скупчуються під ендотелієм. Більша частина ендотеліальних клітин має плазматичну мембрану, яка локально пошкоджена (див. рис. 1). У цитоплазмі знахо-



Рис. 1. Фрагменти ендотелі пошкодження плазматичної підендотеліальній зоні (а), клітин (б), фрагментація та

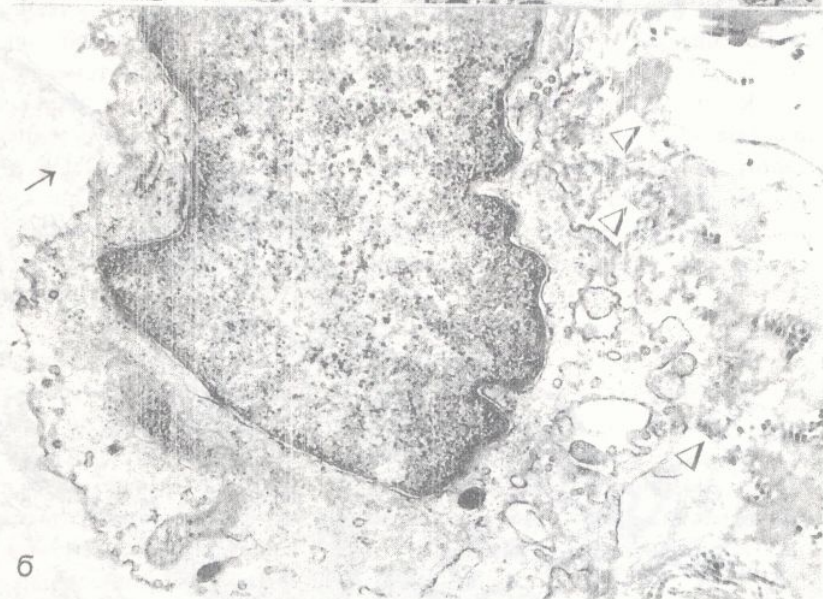
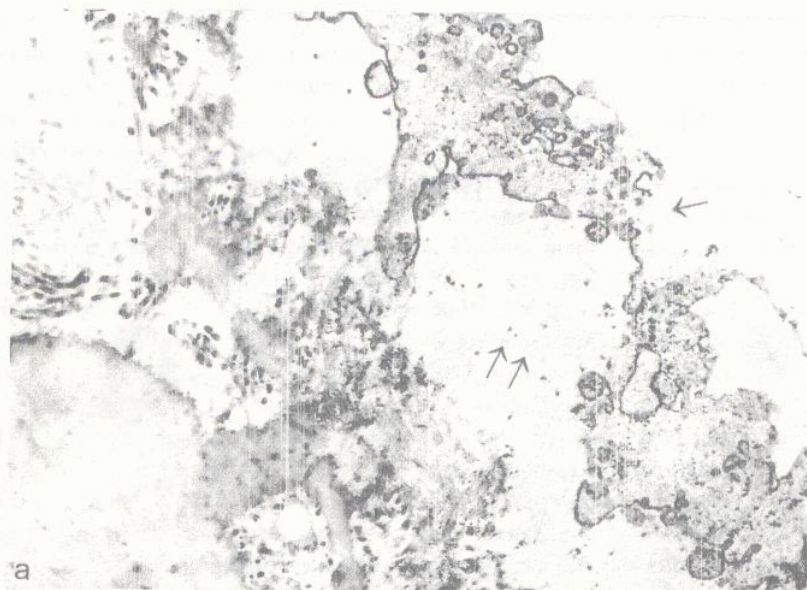


Рис. 1. Фрагменти ендотеліальних клітин аорти кроля після атерогенної дієти: а - локальне пошкодження плазматичної мембрани ендотеліоцитів (↑), скупчення набряклої рідини в підендотеліальній зоні (↑↑). Зб.: 15000; б - вакуолярні утворення в цитоплазмі ендотеліальних клітин (↑), фрагментація та зруйнування колагенових та еластичних волокон (Δ). Зб.: 15000.

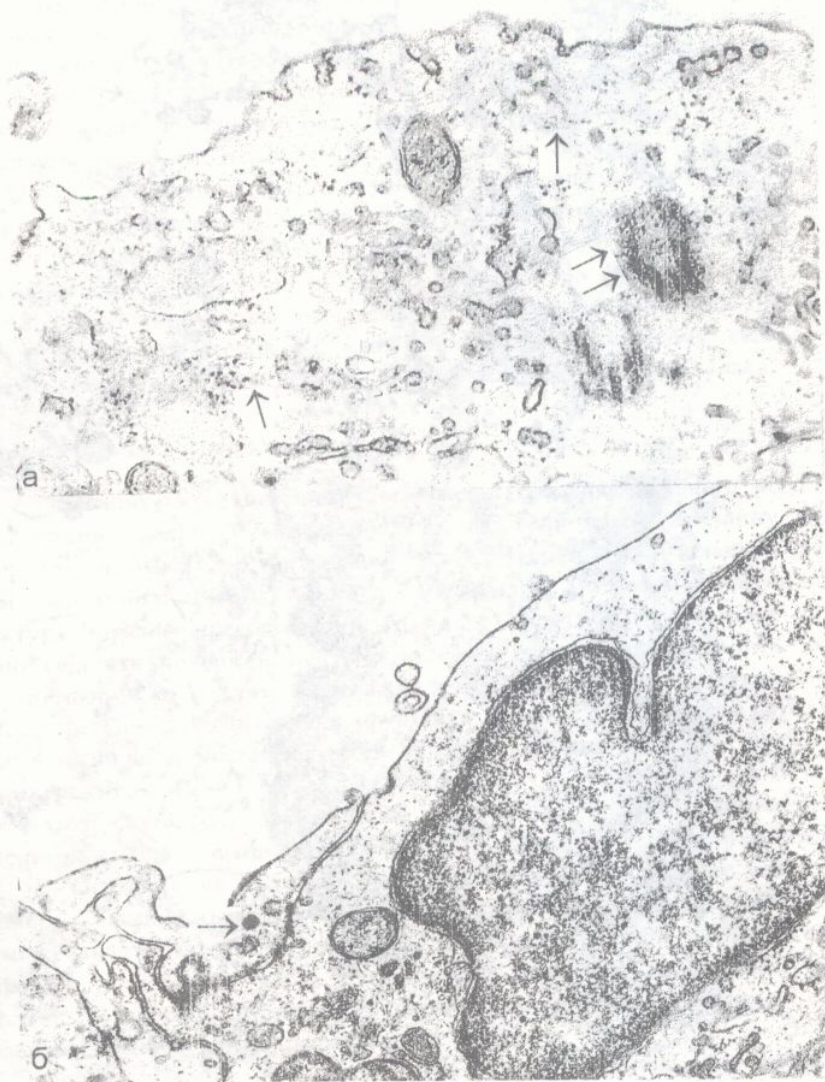


Рис. 2. Фрагменти ендотеліальних клітин внутрішньої оболонки аорти кроля після атерогенної дієти та введення L-аргініну: а - підвищена кількість рибосом (↑), центріолі в цитоплазмі ендотеліальних клітин (⇈). Зб.: 26000; б - добре збережені ендотеліальні клітини, електроннощільні включення (↑). Зб.: 20000.

дяться вакуолярні утвори рідини, а також як розширені структури крист, матриксу лексу Гольджі фрагменти ядерної оболонки, в діпростір.

У тварин за умов гіперліпідемії акція розслаблення під впливом 10^{-6} моль/л) смужок дилатор ацетилхолін (контролі $70\% \pm 9,1\%$ вільного холестерину крові підвищилася від $2,3 \pm 0,5$ до $3,5 \pm 0,5$).

Електронно-мікроскопічне дослідження кролів, які одночасно з гіперліпідемією казав, що структурна організація ендотелію у цих тварин після атерогенної дієти, не погіршується без ендотеліальних змін. Відзначається висока функціональна активність. Свідченням цього є підтримка ендоплазматичної сітки та інших структур між ендотеліальними клітинами, що в підендотеліальній просторі мають щільний контакт. Набрякла рідина з цієї групи істотно краще збережена в смужках.

Електронно-мікроскопічне дослідження експериментальної гіперліпідемії. Підтверджує це і при введенні смужок на ацетилхолін на фоні гіперхолестеролемії. Діяльності ендотелію (синтезу білоксинтезуючих структур ендотеліальної сітки), секреторної активності, які знаходилися тільки в ендотеліальних клітинах.

Таким чином, стимулювання ендотелію за допомогою попереднього введення до активації його функції може бути використано за умов тривалої експериментальної гіперліпідемії.

дяться вакуолярні утворення, як результат транспорту набряклої рідини, а також як розширення ендоплазматичного ретикулума та де-струкції крист, матриксу мітохондрій (див. рис. 1). Диктіосоми комплексу Гольджі фрагментовані. Ядра мають різну глибину інвагінації ядерної оболонки, в деяких ділянках розширено перинуклеарний простір.

У тварин за умов гіперхолестеринемії майже втричі зменшилася реакція розслаблення попередньо активованих норадреналіном (10^{-6} моль/л) смужок грудного відділу аорти на ендотеліязалежний дилататор ацетилхолін (10^{-6} моль/л) і становила $25 \% \pm 5 \%$ (у контролі $70 \% \pm 9,1 \%$). Доцільно відзначити, що концентрація загального холестерину крові у кролів після 4-місячної атерогенної дієти підвищилася від $2,3 \pm 0,05$ до $25,0$ ммоль/л $\pm 1,2$ ммоль/л.

Електронно-мікроскопічний аналіз внутрішньої оболонки аорти кролів, які одночасно з атерогенною дієтою отримували L-аргінін, показав, що структурна організація її гетероморфна. Більша частина ендотелію у цих тварин на відміну від тих, що знаходилися тільки на атерогенній дієті, не пошкоджена. Лише деякі ділянки аорти залишаються без ендотеліальної вистилки, тоді як у збереженому ендотелії відмічається висока функціональна активність структурних компонентів. Свідченням цього є підвищена кількість рибосом, каналців шорсткої ендоплазматичної сітки, диктіосом комплексу Гольджі, електроннощільних структур мікропіноцитозних везикул (рис. 2, а). Ядра ендотеліальних клітин витягнутої форми (див.рис. 2,б). Слід відзначити, що в підендотеліальній зоні виявляються імунокомпетентні клітини, які мають щільний контакт з ендотеліоцитами через базальну мембрану. Набрякла рідина з цієї зони виводиться в просвіт судин. У тварин цієї групи істотно кращою була реакція на ацетилхолін на аортальних смужках.

Електронно-мікроскопічне дослідження аорти показало, що за умов експериментальної гіперхолестеринемії найбільш уразливим є ендотелій. Підтверджує це і пригнічення ендотеліязалежних реакцій аортальних смужок на ацетилхолін. У той же час, введення тваринам L-аргініну на фоні гіперхолестеринемії призводить до активації функціональної діяльності ендотелію аорти. Свідченням цього є підвищення кількості білоксинтезуючих структур (рибосом, полісом, каналців ендоплазматичної сітки), секреторних гранул порівняно з показниками у кролів, які знаходилися тільки на атерогенній дієті.

Таким чином, стимуляція NO-синтетичної активності ендотелію за допомогою попередника біосинтезу оксиду азоту L-аргініну призводить до активації його функціональної діяльності. L-аргінін, на наш погляд, може бути використаний для корекції порушень судинної реактивності за умов тривалої експериментальної гіперхолестеринемії.

STRUCTURAL ORGANISATION OF ENDOTHELIUM
OF AORTA IN HYPERCHOLESTEROLEMIA AND AT EFFECT OF L-ARGININE

Electronmicroscopic investigation of the rat thoracic aorta revealed endothelium to be most vulnerable to the damage in experimental hypercholesterolemia. Administration of precursor of nitric oxide L-arginine against the background of hypercholesterolemia resulted in activation of functional activity of the endothelium of aorta. This notion is supported by an increase of the quantity of protein-synthesizing structures (ribosomes, polisomes, canaliculi of endoplasmic network), secretory granules vs rabbits on atherogenic diet. At stimulation of NO-synthase activity of endothelium the dilatatory reactions of aortal strips to acetylcholine are improved.

A.A. Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine,
A.A. Bogomolets National Medical University, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Братусь В.В., Талаева Т.В., Исаечкина И.М. и др. Характер и механизмы изменений реактивности сосудистой стенки в условиях длительной гиперхолестеринемии // Патол. физиология и эксперим. терапия. - 1991. - № 5. - С. 17-20.
2. Каруну В.Я. Электронная микроскопия. - К.: Вища школа, 1984. - 208 с.
3. Сагач В.Ф., Соловйов А.І., Базилук О.В. та ін. Ендотеліальні судинні реакції у кроликів під час тривалої експериментальної гіперхолестеринемії // Фізіол. журн. - 1994. - 40, № 2. - С. 73-82.
4. Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н. Влияние L-аргинина на активные миогенные реакции сосудистых гладких мышц при гиперхолестеринемии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1995. - 119, № 2. - С. 118-120.
5. Талаева Т.В., Тараненко В.М., Исаечкина И.М. и др. Динамика изменений функциональных характеристик эндотелия и гладкомышечных клеток сосудов в условиях длительной гиперхолестеринемии // Физиол. журн. СССР. - 1990. - 76, № 8. - С. 1055-1060.
6. Ткаченко М.М. Скорочувальні реакції судинних гладеньких м'язів за умов гіперхолестеринемії та змін функціональної активності ендотелію // Фізіол. журн. - 1997. - 43, № 1-2. - С. 57-63.
7. Ткаченко М.М. Оксид азоту та судинна регуляція // Журн. АМН України. - 1997. - 3, № 2. - С. 241-254.
8. Cooke J.P., Dzau J., Creager A. Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is corrected by L-arginine // Basic. Res. Cardiol. - 1991. - 86, Suppl. 2. - P. 173-181.
9. Girerd X.J., Hirsch A.T., Cooke J.P. et al. L-Arginine augments endothelium-dependent vasodilation in cholesterol-fed rabbits // Circulat. Res. - 1990. - 67, № 6. - P. 1301-1308.
10. Gryglewski R.J., Chlopicki S., Swies J., Niezabitowski P. Prostacyclin, nitric oxide, and atherosclerosis // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1995. - 748, Jan. - P. 194-206.
11. Sakuma I., Stuehr D.J., Gross S.S. et al. Identification of arginine as a precursor of endothelium-derived relaxing factor // Proc. Nat. Acad. Sci. (USA). - 1988. - 85, № 22. - P. 8664-8667.
12. Schmidt H.H.H.W., Nau H., Wittfoht W. et al. Arginine is a physiological precursor of endothelium-derived nitric oxide // Eur. J. Pharmacol. - 1988. - 154, № 2. - P. 213-216.

Ін-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України,
Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 10.06.98.

І.М.Маньковська, М.М.Середенко
О.М.Харламова, В.О.Бистрюков

Антиоксидантна дія та
за умов гострої гіпоксії

Установлено, що профірина предупреждает ипп (по содержанию малоно тканях печени, головной вернуты воздействию ской гипоксии. Механизм на связан с торможением лактатацидоза, устранение мембран (по активности которых выст Установлена также воз на снижения активности (по содержанию восстановительных и глутат тяжелой гипоксии.

Вступ

Амінокислота таурин, з і, головним чином, пов'язано з встановлено інгібуючу ліпідів (ПОЛ), активуючи фізичному навантаженню різних тканинах і тка [20], легенях [14], спинами було показано, і зогенно введений таурин утворення кінцевих п бітуровою кислотою (у нинах серця, головного рин впливав і на перет печінки [13]. Виявлено зниження продукції с відновлення глутатіону шування фосфоліпідів ханізмом може бути п бранної Na^+ , K^+ -АТФ гіпоксії [13]. Висловляти протекторну (а тивність транспортної