

В. Є. Досенко

## Баланс еластази та її інгібіторів у тканинах судин кролів різного віку на ранніх стадіях експериментального артеріосклерозу менкебергівського типу

*В експериментах по моделюванню артеріосклерозу менкебергівського типу у кроликів з допомогою введення токсических доз ергокальциферола (вітамін D<sub>2</sub>) встановлено, що существуют определенные возрастные отличия в значениях активности эластазы, содержания α<sub>1</sub>-ингибитора протеаз и α<sub>2</sub>-макроглобулина в ткани сосудов и в сыворотке крови взрослых и одномесячных животных. У одномесячных кроликов при моделировании артериосклероза в гомогенатах аорты наблюдается выраженное повышение эластазной активности и снижение содержания α<sub>1</sub>-ингибитора протеаз. У взрослых кроликов активность эластазы не изменяется, а концентрация α<sub>2</sub>-макроглобулина в тканях аорты снижается. В венозных сосудах, по сравнению с артериальными, выявляется более высокий антиэластазный потенциал, причем исходное содержание ингибиторов у взрослых животных выше, чем у одномесячных. Однако после воздействия витамина D<sub>2</sub> в венах одномесячных кроликов в отличие от взрослых наблюдается значительный прирост содержания α<sub>2</sub>-макроглобулина и α<sub>1</sub>-ингибитора протеаз. Активация протеолитических ферментов на ранних стадиях экспериментального артериосклероза, нарушение динамического равновесия в системе эластаза — ингибиторы может рассматриваться как важный патогенетический фактор в развитии медиакальциноза Менкеберга.*

### Вступ

Деструкція еластинових структур і кальцифікація артеріальної стінки традиційно розглядалися як найбільш характерні ознаки артеріосклерозу [5,7]. З відкриттям еластинових рецепторів [14] вивчення патогенетичного зв'язку еластолізу та кальцієвого гомеостазу набуває особливої актуальності. Згідно з запропонованою теорією, пептиди еластину, які утворюються при еластолітичній деградації еластинових волокон, взаємодіють із специфічними рецепторами на гладеньком'язових клітинах, моноцитах/макрофагах, фібробластах, ендотелії та призводять до модифікації іонного обміну в цих клітинах (збільшення надходження іонів Са, Na та зменшення входу К), синтезу оксиду азоту (NO) та інших ефектів [9, 11, 14]. Автори доводять, що при старінні відбувається «роз'єднання» («*uncoupled*») еластинових рецепторів з системою внутрішньоклітинних вторинних посередників (інозитолтрифосфатний шлях), яке спричинює порушення внутрішньоклітинного кальцієвого гомеостазу із подальшим підвищенням кількості цитоплазматичного та пов'язаного з міжклітинним матриксом кальцію. Це знов таки сприяє пошкодженню еластинових волокон, підвищує їх чутливість до дії еластази [15]. Контроль за активністю останньої здійснюється за допомогою білків-інгібіторів — α<sub>2</sub>-макроглобуліну та α<sub>1</sub>-інгібітора протеаз. Таким чином,

© В. Є. Досенко, 1999

складність взаємодії протеаз зумовлює наявність інгібіторів у крові. Умов моделювання цих процесів на тваринах доз ергокальциферола

### Методика

Досліди проводили на 12 статевозрілих кролях III — IV року життя. Артеріосклероз моделювали за допомогою ергокальциферола в дозі 50 000 ІУ/кг маси тіла щодня протягом 12 тижнів. Для біохімічних досліджень кров збирали за допомогою центрифугування сироватку після розділення на фракції.

Еластазу вимірювали за допомогою субстрату BAPNA (1 г білка в 100 мл розчину). Вміст α<sub>2</sub>-макроглобуліну (БАНН) визначали за допомогою сироватки кролика з високим вмістом білка в крові (Lowry). Отримані результати порівнювали з даними літератури [6].

### Результати

Порівнюючи результати досліджень в гомогенатах аорти кролів різного віку (табл. 1).

ЕА в гомогенатах аорти кролів I групи становила 39,1%. Однак у сумі обох інгібіторів

складність взаємовідносин еластази, еластину, пептидів еластину, інгібіторів протеаз зумовлює необхідність комплексного підходу до вирішення проблеми.

Метою нашого дослідження було вивчення активності еластази та вмісту її інгібіторів у тканинах судин і сироватці крові у кролів різних вікових груп за умов моделювання артеріосклерозу менкебергівського типу введенням токсичних доз ергокальциферолу.

### Методика

Досліди проведені на 10 статевозрілих кролях породи шиншила ( $288,0 \text{ г} \pm 97,02 \text{ г}$ ) та 12 статевонезрілих одномісячних кролях ( $773,75 \text{ г} \pm 35,95 \text{ г}$ ). Усіх тварин розділили на чотири групи: I — контрольні дорослі кролі; II — дослідні дорослі кролі; III — контрольні одномісячні кролі та IV — дослідні одномісячні кролі. Артеріосклероз менкебергівського типу моделювали одноразовим введенням ергокальциферолу (вітамін  $D_2$ ) з розрахунку  $100\,000 \text{ ОД} / \text{кг}$  для дорослих тварин і  $50\,000 \text{ ОД} / \text{кг}$  для статевонезрілих кролів — більш чутливих до токсичної дії вітаміну [2]. Тварин забивали через 24 год після введення препарату за допомогою повітряної емболії. Після видалення судин (аорти та задньої порожнистої вени) через торакоабдомінальний розтин їх негайно занурювали в  $0,05 \text{ моль} / \text{л}$  Трис-НСL буфер (рН 7,4) при  $4^\circ\text{C}$ . Смужки судин гомогенізували в  $0,05 \text{ моль} / \text{л}$  Трис-НСL буфері (рН 7,4) з  $0,25\%$ -м розчином неіонного детергенту Тритон Х-100 при  $4^\circ\text{C}$ , використовуючи гомогенізатор скло—скло. Гомогенати центрифугували 10 хв при  $6000 \text{ об} / \text{хв}$  і супернатант використовували для біохімічного аналізу. Кров забирали з крайової вени вуха та отримували сироватку центрифугуванням при  $3000 \text{ об} / \text{хв}$  протягом 15 хв.

Еластазну активність (ЕА) визначали за гідролізом специфічного хромогенного субстрату  $\text{Suc}-(\text{Ala})_3\text{-p-NA}$  та виражали в мікромолях p-NA за 1 год на 1 г білка в тканинах судин та в мікромолях p-NA за 1 год в 1 л у сироватці крові. Вміст  $\alpha_2\text{-M}$  та  $\alpha_1\text{-III}$  визначали з використанням N-бензоїл-DL-аргінін-p-NA (БАПНА); загальну протеолітичну активність нейтральних протеїназ — за інтенсивністю гідролізу протамін сульфату та виражали в мікромолях аргініну за 1 год на 1 г білка в тканинах судин та в мілімолях аргініну за 1 год в 1 л у сироватці крові [3, 4]. Кількість білка в гомогенатах тканин визначали за методом Lowry [13].

Отримані результати обробляли математично на ПК IBM 486 DX2 з використанням програм Sigma Plot 5.0, Excel 7.0; визначали вірогідність різниці середніх величин за критерієм t Стьюдента та  $\lambda$ -критерієм Колмогорова—Смірнова [6].

### Результати та їх обговорення

Порівнюючи вихідні значення показників еластолізу, загального протеолізу в гомогенатах аорти дорослих та одномісячних кролів, можна констатувати істотну різницю, яка перш за все торкається активності еластази, ПРА та  $\alpha_1\text{-III}$  (табл. 1).

ЕА в гомогенатах аорти кролів III групи перевищує значення цього показника в I групі на  $56,5\%$ , ПРА — на  $67,7\%$ ,  $\alpha_1\text{-III}$  — в 3,9 раза, а  $\alpha_2\text{-M}$  — на  $39,1\%$ . Однак інтегративний показник стану еластолітичної системи — відношення суми обох інгібіторів до еластази приблизно однаковий в групах інтактних кролів

**Таблиця 1.** Еластазна, протамінрозщеплююча активність, вміст  $\alpha_2$ -макроглобуліну та  $\alpha_1$ -інгібітора протеаз у гомогенатах аорти кролів та задньої порожнистої вени та відношення суми обох інгібіторів до еластази за умов моделювання артеріосклерозу менкебергівського типу

Показник	Дорослі кролі		Одномісячні кролі	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Аорта				
Еластазна активність, мкмоль р-NA · год <sup>-1</sup> · л <sup>-1</sup> білка	2,37±0,15	2,00±0,17	3,71±0,28	10,52±0,88*
Протамінрозщеплююча активність, мкмоль arg-год <sup>-1</sup> · л <sup>-1</sup> білка	148,92±6,65	159,84±13,98	249,72±20,79	681,43±49,38*
$\alpha_2$ -макроглобулін, мг/г білка	10,78±0,67	6,74±0,37*	15,0±1,79	19,3±1,62
$\alpha_1$ -інгібітор протеаз, мг/г білка	0,90±0,10	0,99±0,11	3,5±0,10	1,9±0,21*
Коефіцієнт інгібітори/еластаза, ум. од.	4,93	3,87	4,99	2,02
Задня порожниста вена				
Еластазна активність, мкмоль р-NA · год <sup>-1</sup> · л <sup>-1</sup> білка	0,76±0,08	2,08±0,85	0,61±0,04	4,53±1,57
Протамінрозщеплююча активність, мкмоль arg-год <sup>-1</sup> · л <sup>-1</sup> білка	104,76±11,67	149,28±11,51*	188,64±2,85	725,40±139,8*
$\alpha_2$ -макроглобулін, мг/г білка	26,12±2,0	37,02±6,25	15,2±0,81	42,6±5,63*
$\alpha_1$ -інгібітор протеаз, мг/г білка	2,43±0,04	2,07±0,24	1,63±0,09	7,39±0,47*
Коефіцієнт інгібітори/еластаза ум. од.	37,6	18,8	27,6	11,0

Примітка. Тут і в табл. 2 \* P < 0,05 за t критерієм, \*\* P < 0,05 за  $\lambda$ -критерієм.

різного віку і становить 4,93 в I групі і 4,99 у III групі. Таким чином, більш висока активність протеолітичних ферментів в аорті одномісячних кролів контролюється адекватним вмістом інгібіторів протеаз.

Інтوکсикація вітаміном D<sub>2</sub> викликає вже через добу значні зміни в еластолітичній системі аорти одномісячних кролів, та, деякою мірою, у дорослих. Багаторазове підвищення ЕА, ПРА та різкі зміни в системі інгібіторів у тварин IV групи контрастують з невиразними змінами в аорті дорослих тварин. Так, якщо ЕА в гомогенатах аорти статевонезрілих тварин підвищувалося в 2,8 раза (P < 0,01), ПРА — в 2,7 раза (P < 0,001), а вміст  $\alpha_1$ -ІІІ знижувався до 54,3 % від контролю, то в II групі вірогідним порівняно з нормою було тільки зменшення концентрації  $\alpha_2$ -М (6,74 ± 0,37; 10,78 мг/г білка ± 0,67 мг/г білка відповідно). Суттєво відрізнялось і співвідношення інгібітори/еластаза в обох вікових групах після впливу вітаміну D<sub>2</sub> — значно більшою мірою воно знижувалося в IV групі порівняно з II групою (2,02 та 3,87 відповідно).

Так само як і в артеріях, показники еластолізу та загального протеолізу в гомогенатах вен кролів різного віку суттєво відрізнялися між собою. Вихідна ЕА знаходилася на нижній межі чутливості методу в венах кролів як I, так і III груп, ПРА у венах одномісячних кролів на 80 % перевищувала відповідний показник у дорослих тварин, вміст обох інгібіторів у I групі значно перевищував такий у венах тварин III групи:  $\alpha_2$ -М — на 72 %,  $\alpha_1$ -ІІІ — на 49 %. Як було

викладено вище, концентрація обох вміст в аорті до співвідношенні і у венах дорослих. Зазначимо, що і значення аналог кролів та в 5,5 р

При моделюванні системи венозних еластази, нейтра обох вікових гру значно різнилися 2,7 раза (2,08 ±  $\alpha_1$ -ІІІ залишався ЕА в 7,4 раза підвищилася в 3, концентрація обо (P < 0,001) (див. одномісячних кро мірою, ніж у вен

Виходячи з судинах є більш що активація пр еластолізу у венах

Показники є віку, на відміну мабуть, можна п онтогенезі завер

За умов вил кролів порівняно

**Таблиця 2.** Еластазна активність, вміст  $\alpha_2$ -макроглобуліну та  $\alpha_1$ -інгібітора протеаз у гомогенатах аорти кролів різного віку та відношення суми обох інгібіторів до еластази за умов моделювання артеріосклерозу менкебергівського типу

Показник
Еластазна активність, мкмоль р-NA · год <sup>-1</sup> · л <sup>-1</sup> білка
Протамінрозщеплююча активність, мкмоль arg-год <sup>-1</sup> · л <sup>-1</sup> білка
$\alpha_2$ -макроглобулін, мг/г білка
$\alpha_1$ -інгібітор протеаз, мг/г білка
Коефіцієнт інгібітори/еластаза ум. од.

вність, вміст  $\alpha_2$ -макро-  
ркти кролів та задньої  
в до еластази за умов

Одномісячні кролі	
Контроль	Дослід
3,71±0,28	10,52±0,88*
19,72±20,79	681,43±49,38*
15,0±1,79	19,3±1,62
3,5±0,10	1,9±0,21*
4,99	2,02
0,61±0,04	4,53±1,57
88,64±2,85	725,40±139,8*
15,2±0,81	42,6±5,63*
1,63±0,09	7,39±0,47*
27,6	11,0

0,05 за  $\lambda$ -критерієм.

і. Таким чином, більш  
омісячних кролів конт-

добу значні зміни в  
якою мірою, у дорос-  
в системі інгібіторів у  
аорті дорослих тварин.  
арин підвищувалося в  
т  $\alpha_1$ -ІІІ знижувався до  
з нормою було тільки  
їлка ± 0,67 мг/г білка  
ітори/еластаза в обох  
ою мірою воно знижу-  
повідно).

агального протеолізу в  
я між собою. Вихідна  
х кролів як І, так і ІІІ  
вищувала відповідний  
рупі значно перевищу-  
ІІ — на 49%. Як було

викладено вище, в артеріальних судинах спостерігалася протилежна картина — концентрація обох інгібіторів у одномісячних кролів значно перевищувала їх вміст в аорті дорослих тварин. Ці особливості знаходять відображення і в співвідношенні інгібітори/еластаза у інтактних кролів, яке було значно вищим у венах дорослих тварин порівняно з статевонезрілими (37,6; 27,6 відповідно). Зазначимо, що інгібіторний потенціал венозних судин багаторазово перевищує значення аналогічного показника артеріальних судин — у 7,6 раза у дорослих кролів та в 5,5' раза у одномісячних.

При моделюванні артеріосклерозу за допомогою вітаміну D<sub>2</sub> в еластолітичній системі венозних судин відбувалися певні зміни, які виражались активацією еластази, нейтральних протеїназ та коливанням вмісту інгібіторів. Ці зміни в обох вікових групах мали односпрямований характер, але кількісні показники значно різнилися. Так, ЕА в гомогенатах вен кролів ІІ групи підвищувалося в 2,7 раза (2,08 ± 0,85, P > 0,05), ПРА — на 42,5% (P < 0,05), вміст  $\alpha_2$ -М та  $\alpha_1$ -ІІІ залишався в межах норми. У венах одномісячних кролів (ІV група) підйом ЕА в 7,4 раза також виявився невірогідним (4,53 ± 1,57, P > 0,05), ПРА підвищилася в 3,8 раза (P < 0,05). Істотно збільшилася порівняно з контролем концентрація обох інгібіторів:  $\alpha_2$ -М — в 2,8 раза (P < 0,025),  $\alpha_1$ -ІІІ — в 4,5 раза (P < 0,001) (див. табл. 1). Незважаючи на цей підйом вмісту інгібіторів у венах одномісячних кролів коефіцієнт інгібітори/еластаза знижувався значно більшою мірою, ніж у венах дорослих тварин (11,0, 18,8 відповідно).

Виходячи з того, що зміни загальної протеолітичної активності в венозних судинах є більш показовими, ніж ЕА та вміст її інгібіторів, слід передбачити, що активація протеолізу в цьому випадку має неспецифічний характер, тобто еластоліз у венах не набуває того значення, яке він має в артеріальних судинах.

Показники еластолітичної системи в сироватці крові інтактних кролів різного віку, на відміну від таких у тканинах, майже не відрізнялися (табл. 2). Це, мабуть, можна пояснити тим, що протеолітичні системи сироватки кролів в онтогенезі завершують своє формування раніше, ніж тканини.

За умов впливу токсичних доз вітаміну D<sub>2</sub> ЕА в сироватці крові дорослих кролів порівняно з контролем знижувалося (10,0 ± 1,58; 16,74 ± 0,84; P < 0,05),

**Таблиця 2.** Еластазна, протамінозщеплююча активність, вміст  $\alpha_2$ -макроглобуліну та  $\alpha_1$ -інгібітора протеаз у сироватці крові кролів та відношення суми обох інгібіторів до еластази за умов моделювання артеріосклерозу менкебергівського типу

Показник	Дорослі кролі		Одномісячні кролі	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Еластазна активність, мкмоль р-NA · год <sup>-1</sup> · л <sup>-1</sup> білка	16,74±0,84	10,0±1,58*	16,76±2,55	25,69±4,88**
Протамінозщеплююча активність, ммоль arg · год <sup>-1</sup> · л <sup>-1</sup> білка	2,17±0,08	2,06±0,14	2,23±0,07	3,07±0,40**
$\alpha_2$ -макроглобулін, г/л білка	2,49±0,12	1,50±0,14*	2,39±0,10	1,93±0,12*
$\alpha_1$ -інгібітор протеаз, г/л білка	1,11±0,04	0,88±0,06*	1,25±0,04	1,02±0,04
Коефіцієнт інгібітори/еластаза, ум. од	214,5	238,0	217,2	114,8

вміст обох інгібіторів також вірогідно зменшувався —  $\alpha_2$ -М на 40% ( $P < 0,05$ ),  $\alpha_1$ -ІІІ на 20,7% ( $P < 0,05$ ). У IV групі тварин спостерігалися дещо інші зміни: підвищувалась ЕА на 53,3% ( $P < 0,05$  за критерієм  $\lambda$ ) та ПРА — на 37,7% ( $P < 0,05$  за критерієм  $\lambda$ ). Вміст обох інгібіторів зменшувався —  $\alpha_2$ -М на 19,2% ( $P < 0,05$ ),  $\alpha_1$ -ІІІ на 18,4% ( $P < 0,05$ ). При цьому відношення інгібітори/еластази в сироватці крові одномісячних кролів зменшувалося до 114,8 (у контролі — 217,2), тоді як антиеластазний потенціал сироватки дорослих кролів навіть збільшувався і становив 238,0 (у контролі — 214,5).

Зіставляючи показники еластолізу у тканині та сироватці в усіх групах тварин, можна помітити, що направленість змін активності протеаз, вмісту інгібіторів у сироватці та тканинах судин, як правило, не збігається. Цей факт може свідчити про те, що сироватка та тканини артерій і вен мають власні джерела постачання як ензимів, так і інгібіторів протеаз.

Таким чином, отримані результати свідчать про більш високу реактивність еластолітичної системи тканин артерій і вен статевонезрілих кролів порівняно з дорослими за умов інтоксикації ергокальциферолом. Незважаючи на введення одномісячним кролям половинної дози препарату (50 000 ОД/кг) реакція на цей пошкоджуючий фактор була значно сильнішою саме в них. Можливо, більш високий рівень кальцієво-фосфатного обміну в молодому віці і, як наслідок, більша чутливість до дії вітаміну  $D_2$  пояснює цю бурхливу активацію протеолітичних ферментів. Безперечно, що за таких умов порушення рівноваги між протеазами та інгібіторами може підвищувати вразливість судин молодих тварин до дії пошкоджуючих агентів. Неконтрольований, раптовий підйом активності еластази в аорті може спричинювати руйнування еластинних структур, утворення великої кількості пептидів еластину (продуктів протеолізу), які опосередковано — через свої клітинні рецептори — підвищують вміст цитоплазматичного кальцію, сприяють вивільненню лізосомальних ферментів і вільних радикалів з мононуклеарів, стимулюють хемотаксис моноцитів, міграцію гладеньком'язових клітин і фібробластів [11, 14, 17]. Стосовно останніх також доведено, що пептиди еластину мають активність фактора росту фібробластів [10]. Тісний зв'язок між еластолітичною системою та обміном кальцію призводить до формування *circulus vitiosus* за умов патології: збільшення концентрації  $Ca^{2+}$  → пошкодження клітин → активація протеолітичних ферментів, в тому числі еластази → активація еластолізу → утворення пептидів еластину → підвищення концентрації цитоплазматичного кальцію... і т.д. Звичайно, це хибне коло може починатись і з активації еластази за умов дії не вітаміну  $D_2$ , а іншого ангіосклеротичного агенту. Щільний зв'язок між еластолізом та кальцієвим гомеостазом підтверджується ще тим, що блокатори кальцієвих каналів здатні пригнічувати еластазну активність нейтрофільних лейкоцитів [12].

Отримані результати не зовсім узгоджуються з відомими даними [1] щодо енергетичного забезпечення судинної стінки артерій кролів різного віку, згідно з якими вища інтенсивність енергообміну в одномісячних кролів поступово зменшується в дорослих і стає ще меншою у старих тварин. Саме такими фактами цей та інші автори пояснюють більшу вразливість артерій старих тварин до дії ангіосклеротичних агентів. Якщо еластолітична система судин дійсно має значення в патогенезі артеріосклерозу, то в її реакціях на пошкоджуючі агенти у тварин молодого віку повинні бути риси пристосувального характеру, які б

могли забезпечувати вацією протеолітичного склерозу в аорті сама активність а можливості ривихідний вміст тенденція до пна нашу думку, судин у статевон патогенезі артер в працях японск вати підвищенн ментальному хо теріосклеротичн молодому віці. місяцях життя, ноз (ІДАК). Во тичного та еласт невою гіпертензі захворювання н уроджену непов фікацією. Існую ня порушень ка та гіперпаратир судин, особливе для з'ясування

Зіставленн дає змогу зрозу них судин до д кальциноз дуже над еластазою т ження в багатор таза у венах по резистентність нами результат ної системи вен послаблюється, дорослих кролі

Таким чи загальні виснов віку наявно пр те, що в одномі знаходиться на протеазний поте контроль за ак одномісячних к

$\alpha_2$ -М на 40% ( $P < 0,05$ ), зрігалися дещо інші зміни:  $\alpha_1$  та ПРА — на 37,7% зменшувався —  $\alpha_2$ -М на 19,2%. Відношення інгібітори/еластази зросло до 114,8 (у контролі — 100). У дорослих кролів навіть у сироватці в усіх групах активності протеаз, вмісту кальцію, не збігається. Цей факт артерій і вен мають власні протеази.

Більш високу реактивність в дорослих кролів порівняно з молодими. Незважаючи на введення кальцію (50 000 ОД/кг) реакція на кальцій не має в них. Можливо, більш високу реактивність в молодому віці і, як наслідок, більш швидку активацію протеолітичних ферментів порушення рівноваги між активністю судин молодих тварин та в старшому віці. Трапляється підвищення активності еластичних структур, утворення кальцієвих солей (кальцієвий протеоліз), які опосередковують вміст цитоплазматичних ферментів і вільних кальцієвих іонів, міграцію глікоцитів. Стосовно останніх також фактора росту фібробластів та кальцієвим обміном кальцію призводить до збільшення концентрації еластичних ферментів, в тому числі пептидів еластину → підвищення активності т.д. Звичайно, це хибне висновок, що не вітаміну  $D_2$ , а іншого фактора, кальцієвим гомеостазом та кальцієвим гомеостазом кальцієвих каналів здатні глікоцитів [12].

Відомими даними [1] щодо кролів різного віку, згідно з дослідженнями кролів поступово змінюються. Саме такими фактами артерій старих тварин до дії кальцію судин дійсно має значення кальцієві пошкоджуючі агенти у старшого характеру, які б

могли забезпечувати резистентність судин. Складно побачити за потужною активацією протеолітичних ферментів, яка спостерігалася при моделюванні артеріосклерозу в аорті одномісячних кролів, якісь захисні механізми. Але, мабуть, не сама активність еластази, або іншої протеази зумовлює певний розвиток подій, а можливість регулювати її активність у конкретній тканині. Більш високий вихідний вміст  $\alpha_1$ -ІІІ у тканинах артеріальних судин одномісячних кролів та тенденція до підвищення в них концентрації  $\alpha_2$ -М після введення вітаміну  $D_2$ , на нашу думку, може деяким чином пояснювати меншу вразливість артеріальних судин у статевонезрілих кролів. Проблематичність питання про роль еластази в патогенезі артеріосклерозу та неоднозначність відповіді на нього підкреслюється в працях японських авторів, згідно з якими еластаза може навіть перешкоджувати підвищенню вмісту кальцію та кальцифікації різних органів при експериментальному холестериновому атеросклерозі [18, 19]. Взагалі, вираженість артеріосклеротичного процесу, інтенсивність кальцифікації незрівнянно менша в молодому віці. Винятком з цього правила є летальне захворювання на перших місяцях життя, описане під назвою ідіопатичний дитячий артеріальний кальциноз (ІДАК). Воно проявляється генералізованою кальцифікацією артерій еластичного та еластично-м'язового типу, множинними інфарктами міокарда, легеневою гіпертензією та гострою серцево-судинною недостатністю [8, 16]. Етіологія захворювання не з'ясована, а ведучою ланкою в патогенезі ІДАК вважають уроджену неповноцінність еластичних структур артерій з подальшою їх кальцифікацією. Існують також гіпотези про значення в патогенезі цього захворювання порушень кальцієво-фосфорного обміну, дисбалансу в організмі вітаміну D та гіперпаратиреозу [8]. Отже, вивчення еластолітичної системи артеріальних судин, особливо вмісту  $\alpha_2$ -М, при ІДАК, на нашу думку, може бути корисним для з'ясування патогенезу цього захворювання.

Зіставлення змін в еластолітичній системі артерій і вен кролів різного віку дає змогу зрозуміти один з можливих механізмів активної резистентності венозних судин до дії ангіосклеротичних агентів (як відомо атеросклероз і медіакальциноз дуже рідко зустрічаються у венах). Значно вищий рівень контролю над еластазою та іншими протеазами в венозних судинах, який знаходить вираження в багаторазовому переважанні коефіцієнта відношення інгібітори/еластаза у венах порівняно з артеріями може частково пояснювати феноменальну резистентність вен до дії пошкоджуючих факторів [2]. Аналізуючи отримані нами результати, приходимо до висновку, що з віком мобільність антиеластазної системи вен зменшується, здатність до активного синтезу інгібіторів протеаз послаблюється, але, незважаючи на це, вміст інгібіторів у венозних судинах дорослих кролів зберігається на достатньо високому рівні.

Таким чином, результати проведених досліджень дозволяють зробити загальні висновки: 1) особливості еластолітичної системи судин у кролів різного віку наявно проявляються за умов експериментальної патології та свідчать про те, що в одномісячних кролів здатність до активації протеолітичних ферментів знаходиться на значно вищому рівні, ніж у дорослих тварин; 2) потужний антипротеазний потенціал венозних судин дозволяє підтримувати на надійному рівні контроль за активністю еластази та інших ферментів як у дорослих, так і одномісячних кролів.

Складний характер змін у системі еластази — інгібітори при гіпервітамінозі D<sub>2</sub>, неоднозначність отриманих результатів зумовлює необхідність проведення додаткових досліджень, зокрема на старих тваринах, для з'ясування характеру та механізмів неоднакової чутливості тварин різного віку до дії пошкоджуючих агентів.

V. E. Dosenko

**BALANCE OF ELASTASE AND IT INHIBITORS IN VESSEL TISSUES OF DIFFERENT AGED RABBITS IN EARLY STAGES OF EXPERIMENTAL MÖNCKEBERG'S ARTERIOSCLEROSIS**

The role of the elastolytic system in pathogenesis of vascular diseases was investigated on adult and one-month old rabbits in experimental ergocalciferol-induced mediocalcinosis depending on age aspect. The obtained results indicate that elastase activity was increased in aortic homogenates of one-month old rabbits but not in adult animals. The level of  $\alpha_1$ -proteinase inhibitor is reduced in one-month old rabbits, and decrease of the  $\alpha_2$ -macroglobulin content in arterial walls occurs in adults. A higher level of antielastase proteins in both groups of animals in venous vessels is determined. After effect of ergocalciferol in the veins of one-month old rabbits, differs from the adults, a significant increase of the inhibitor content is observed. The presented results confirm the importance of balance between elastase and its inhibitors in pathogenesis of arteriosclerosis.

*A. A. Bogomolets National Medical University, Kiev,  
Ministry of Public Health of Ukraine*

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Атаман А.В. Энергообеспечение артерий и вен в связи с их разной устойчивостью к действию повреждающих факторов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — К., 1991. — 40 с.
2. Быць Ю.В., Атаман А.В. Различия окислительной способности ткани артерий и вен и их возможная связь с развитием ангиосклеротических поражений. — В кн.: Актуальные проблемы современной физиологии. — К.: Наук. думка, 1986. — С.157-158.
3. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. — К.: Здоров'я, 1988. — 198с.
4. Веремеенко К.Н., Кизим А.И., Терентьев А.Г. Определение активности эластазы и ее ингибиторов в сыворотке крови с помощью хромогенных субстратов // Лаб. дело. — 1991. — № 1. — С. 58-61.
5. Вихерт А.М., Седов К.Р., Соколова Р.И. Кальциноз артерий. — М.: Медицина, 1970. — 152 с.
6. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. — М.: Медицина, 1978. — 296 с.
7. Мясников А.Л. Атеросклероз (Происхождение, клинические формы, лечение). — М.: Медгиз, 1960. — 444 с.
8. Самохин П.А., Романенко В.А., Салмина О.С. Идиопатический артериальный кальциноз у детей и лёгочный гигантоклеточный эластолиз // Архив патологии. — 1990. — 52, № 12. — С. 24-28.
9. Faury G., Ristori M.T., Verdetti J. et al. Effect of elastin peptides on vascular tone // J. Vascul. Res. — 1995. — Vol. 32, №2. — P. 112-119.
10. Ghuysen-Itard A.F., Robert L., Jacob M.P. Effet des peptides d'elastine sur la proliferation cellulaire // CR Acad. Sci. Ser. III Sci. Vie. — 1992. — 315. — P. 473-478.

11. Jacob M.P. characterisat №4. — P.
12. Khalfi F., on leukocyt // Pharm
13. Lowry O. phenol re
14. Robert L. Symposium
15. Saulnier J. normal ind to elastolys
16. Schiffman Arterienve Fallbericht №1. — P.
17. Senior R. Peptides /
18. Yasui M., liver, kidn by choleste
19. Yasui M., increase in rich diet /

*Нац. мед. ун-т  
М-ва охорон*

інгібітори при гіпервітамінозі  
включає необхідність проведення  
нах, для з'сування характеру  
ого віку до дії пошкоджуючих

## FACTORS IN VESSEL TISSUES AT EARLY STAGES OF ARTERIOSCLEROSIS

vascular diseases was investigated  
experimental ergocalciferol-induced  
aged results indicate that elastase  
one-month old rabbits but not in  
reduced in one-month old rabbits,  
arterial walls occurs in adults. A  
study of animals in venous vessels is  
study of one-month old rabbits, differs  
content is observed. The presented  
of elastase and its inhibitors in

іев,

зи с их разной устойчивостью к  
д-ра мед. наук. — К., 1991. —

способности ткани артерий и вен  
ских поражений. — В кн.: Акту-  
Наук. думка, 1986. — С.157-158.  
Протеолиз в норме и при патоло-

деление активности эластазы и  
омогенных субстратов // Лаб.

ноз артерий. — М.: Медицина,

познавания патологических про-

нические формы, лечение). —

патический артериальный каль-  
олиз // Архив патологии. —

elastin peptides on vascular tone  
112-119.

des peptides d'elastine sur la  
vie. — 1992. — 315. — P. 473-

11. *Jacob M.P., Wei S.M., Ghuysen-Itard A. et al.* Elastine et arteriosclerose: dosage et caracterisation des peptides d'elastine du sang // C. r. SOC. biol. — 1992. — 186, №4. — P. 342-348.
12. *Khalfi F., Gressier B., Brunet C., Dine T. et al.* Effects of calcium antagonist diltiazem on leukocyte elastase and on reactive oxygen species production in human neutrophils // Pharmacol. Res. — 1996. — 33, №2. — P. 117-122.
13. *Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. et al.* Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — 193. — P. 265-275.
14. *Robert L., Jacob M.P., Fulop T.* Elastin in blood vessels // Ciba Foundation Symposium. — 1995. — 192. — P. 286-303.
15. *Saulnier J.M., Hauck M., Fulop T.Jr., Wallach J.M.* Human aortic elastin from normal individuals and atherosclerotic patients: lipid and cation contents; susceptibility to elastolysis // Clin. Chim. Acta. — 1991. — 200, №2-3. — P. 129-136.
16. *Schiffmann J.H., Wessel A., Bruck W., Speer C.P.* Idiopathische infantile Arterienverkalkung. Eine seltene kardiovaskulare Erkrankung unklarer Aetiologie-Fallbericht und Literaturubersicht // Monatsschr. Kinderheilkd — 1992. — 140, №1. — P. 27-33.
17. *Senior R.M., Griffin G.L., Mecham R.P.* Chemotactic Activity of Elastin-derived Peptides // J. Clin. Invest. — 1980. — 66, №4. — P. 859-862.
18. *Yasui M., Yano I., Ota K., Oshima A.* Scavenger effect of elastase on calcifications in liver, kidney and central nervous system tissues of rabbits with atherosclerosis induced by cholesterol-rich diet // J. Int. Med. Res. — 1989. — 17, №4. — P. 350-357.
19. *Yasui M., Yano I., Yoshida H. et al.* The inhibitory effect of elastase on calcium increase in brain and spinal cord of rabbits with atherosclerosis induced by cholesterol-rich diet // No To Shinkei. — 1989. — 41, №8. — P. 781-787.

Нац. мед. ун-т ім. акад. О. О. Богомольця  
М-ва охорони здоров'я України, Київ

Матеріал надійшов  
до редакції 18.09.97