

І.Б. Кремінська, В.А.Левицький

## Вплив фізичних навантажень різної інтенсивності на атерогенез у щурів

*Алиментарная гиперхолестеринемия, интенсивные физические нагрузки и их сочетание сопровождаются уменьшением в плазме крови крыс содержания нитрит-аниона, что проявляется спазмом и атеросклеротическим повреждением бедренных артерий животных. Противоположный эффект имеет сочетание гиперхолестеринемии с умеренными физическими нагрузками. Оно ведет к увеличению содержания в плазме крови нитрит-аниона, в результате чего спазм исследуемых сосудов уменьшается, а их атеросклеротические изменения ограничиваются.*

### ВСТУП

Доведено, що першоосною деяких захворювань серцево-судинної системи є розвиток ендотеліальної дисфункції, а дослідження останніх років значно розширили уяву про її етіопатогенез [4, 11].

Крім тісних реципрокних зв'язків між компонентами крові та судинним ендотелієм, останньому належить провідна роль у підтриманні балансу важливих функцій судинної стінки [4, 14].

Ендотеліальні клітини продукують вазорелаксуючі фактори, до яких в першу чергу відносять оксид азоту (NO). Останній є нестійкою речовиною, яка зумовлює ендотеліальну дилатацію артерій у відповідь на дію ацетилхоліну, що вперше описано Furchgott і Zawadski [7]. NO синтезується із амінокислоти L-аргініну за участю ферменту ендотеліальної NO-синтази (eNOS). Активація цього ферменту залежить від внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію в ендотеліоцитах, є кальмодулін-залежною і потенціюється при наявності нікотинамід-аденін-динуклеотидфосфату (НАДФН) і 5,6,7,8-тетрагідробіоптерину (BH<sub>4</sub>). NO дифундує до гладеньком'язових клітин (ГМК) судинної стінки і зумовлює

їх розслаблення, активуючи розчинну гуанілатциклазу, що сприяє збільшенню вмісту циклічного 3,5-гуанозину монофосфату (цГМФ) [3, 7, 12]. Крім вазодилаторної, NO виконує цілу низку інших важливих функцій: модулює збільшення вмісту у крові вазоактивних медіаторів, пригнічує адгезію лейкоцитів [4, 7], бере участь у регуляції ремоделювання судинної стінки, пригнічує експресію прозапальних генів, адгезію та агрегацію тромбоцитів, міграцію і проліферацію ГМК [4]. NO – лабільна короткоживуча молекула з періодом напіврозпаду від 2 до 30 с [11, 12]. Надалі ця сполука трансформується в нітрит (NO<sub>2</sub>) і нітрат (NO<sub>3</sub>) і екскретується нирками.

Важливу роль у розвитку ендотеліальної дисфункції, що характеризується зміною вазоконстрикторної та вазодилаторної функцій судинного ендотелію, відіграє гіперхолестеринемія [4, 8, 9]. Проте нині залишається невисвітленим факт розвитку ендотеліальної дисфункції з ознаками порушення продукції вазоактивних ендотеліальних факторів і морфологічних проявів ураження стінки артеріальних судин при фізичних навантаженнях різної інтенсивності та, особливо, на фоні гіперхолестеринемії.

© І.Б. Кремінська, В.А.Левицький

Мета нашої роботи – дослідження вмісту нітрит-аніона й ендотеліну-1 у плазмі крові та локальні зміни стінки стегнових артерій тварин, які перебували на атерогенній дієті та зазнавали впливу фізичних навантажень різної інтенсивності.

## МЕТОДИКА

Моделювання гіперхолестеринемії проводили на 45 щурах-самцях, масою 250–300 г, які протягом 8 тиж перебували на атерогенній дієті, складовими компонентами якої були 1,5 г холестерину, 10 г свинячого жиру та 0,1 г жовчних кислот із розрахунку на 1 кг маси тіла [5]. Таку їжу вводили за допомогою зонду у стравохід щурів. Експериментальне моделювання фізичного навантаження високої та помірної інтенсивності (ФНВІ і ФНПІ) здійснювали на 24 щурах-самцях бігом у тредбані зі швидкістю 36 і 24 м/хв відповідно протягом 1 год щодобово тривалістю 2 міс [6]. Крім того, 30 щурів з гіперхолестеринемією зазнавали впливу ФНВІ і ФНПІ за вищезгаданою методикою, а 10 – склали контрольну групу. Утримання, догляд за тваринами і всі маніпуляції проводили відповідно до положенням “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985).

Вміст нітриту-аніона у плазмі крові визначали імуноферментним методом за допомогою набору реактивів (Україна). Для дослідження кров у щурів збирали з черевної аорти під нембуталовим наркозом натще. Структуру стегнових артерій вивчали на субмікроскопічному рівні за допомогою електронного мікроскопа.

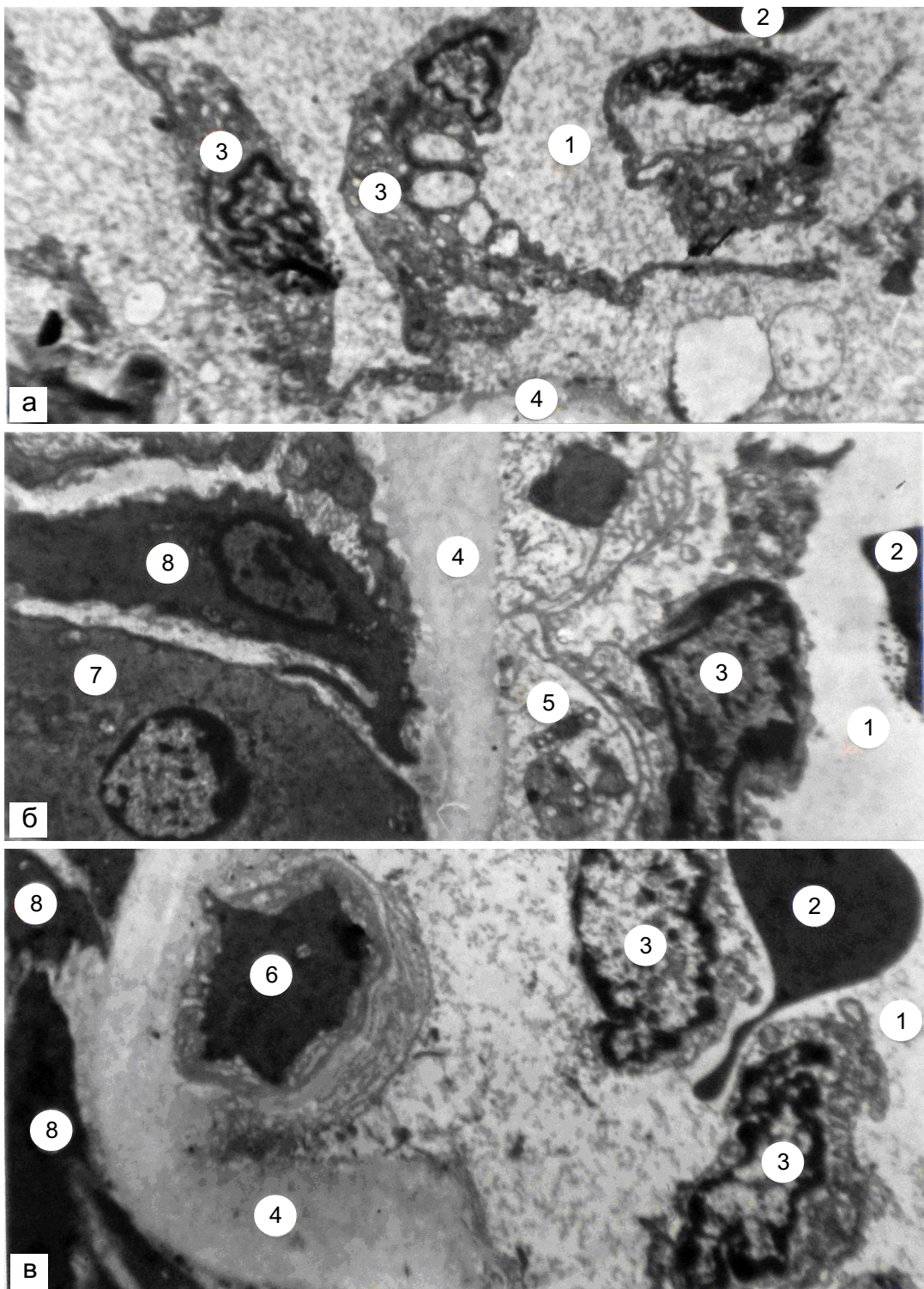
Для статистичної обробки отриманих цифрових результатів використовували сучасну комп’ютерну програму Statistica 5.0.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані нами результати свідчать, що у тварин з гіперхолестеринемією (вміст

загального холестерину у порівнянні з контролем є вищим на 69 %) рівень нітрит-аніона у плазмі крові знижується в 1,4 раза ( $P < 0,001$ ). Вміст нітрит-аніона у крові контрольних щурів становив  $17,21 \text{ мкмоль/л} \pm 0,47 \text{ мкмоль/л}$ . У разі гіперхолестеринемії він знизився до  $12,26 \text{ мкмоль/л} \pm 0,51 \text{ мкмоль/л}$  ( $P < 0,001$ ). Як встановлено [3, 11, 12] вільний холестерин підсилює транскрипцію гена кавеоліну-білка, який зв’язується з молекулами eNOS і інактивує їх. Ще одним можливим інгібуючим механізмом впливу підвищеного вмісту холестерину на eNOS є збільшення вмісту в крові асиметричного диметиларгініну та безпосередній ушкоджуючий вплив ліпопротеїнів низької щільності на ендотелій судин. Під їх впливом знижується рівень експресії гена eNOS, внаслідок чого порушується синтез NO [8].

Значне зниження вмісту у плазмі крові вазодилатаційного фактора при гіперхолестеринемії є свідченням ушкодження ендотеліоцитів кровоносних судин із порушенням їх функції. При електронно-мікроскопічному дослідженні стегнових артерій спостерігається виражений спазм цих судин, набряк і вакуолізація ендотеліоцитів, зміни форми і конфігурації їх ядер, ушкодження плазмолем, підсилення мікропіноцитозної активності, адгезія на їх поверхні клітин лейкоцитарного ряду, тромбоцитів. Відбувається десквамація окремих ендотеліоцитів (рисунок, а), а в субендотелії накопичуються моно- та міоінтимоцити, цитоплазма яких переповнюється холестерином та його ефірами, внаслідок чого вони нагадують піну (пінисті клітини) та позаклітинні депозити холестерину. Спостерігається локальний набряк та розшарування внутрішньої еластичної мембрани судинної стінки. У м’язовій оболонці виявляються нормальні та видозмінені “темні” міоцити. Останні є потенційними міоінтимоцитами, які мігрують в субендотелій та проявляють фагоцитарні властивості.



Ультраструктурні зміни стінки стегнової артерії при гіперхолестеринемії (а), фізичному навантаженні високої інтенсивності (б) та їх поєднанні (в): 1 – просвіт артерії, 2 – еритроцит, 3 – ендотеліоцит, 4 – внутрішня еластична мембрана, 5 – субендотеліальне накопичення пінистих клітин та ліпопротеїнів, 6 – міоінтимоцит в субендотелії, 7 – “світлі” міоцити, 8 – “темні” міоцити. Зб. 4800

Як стверджують літературні джерела, суттєвий вплив на стан ендотелію судин і рівень вазоактивних факторів крові мають різні види фізичних навантажень, а саме, високої чи помірної інтенсивності, динамічні чи статичні [1, 2, 10, 13]. Ми дослідили вплив ФНВІ і ФНПІ на вміст нітрит-аніона, який бере участь у регуляції судинного тонусу.

Встановлено, що ФНВІ, які є нефізіологічними для експериментальних тварин, призводять до змін ліпідного спектра крові (вміст загального холестерину зростає у порівнянні з контролем на 61,4 %) та вираженої ендотеліальної дисфункції, що підтверджується зменшенням вмісту в плазмі крові нітрит-аніона ( $13,62 \text{ мкмоль/л} \pm 0,09 \text{ мкмоль/л}$ ;  $P < 0,001$ ). Механізм зниження його в крові є аналогічним, як і при гіперхолестеринемії [3, 8, 11, 12]. ФНПІ, які є більш фізіологічними для рухової активності тварин, незначно впливають на зміни функціонального стану судинної ендотелію. Все ж деяке збільшення вмісту нітрит-аніона ( $18,4 \text{ мкмоль/л} \pm 0,11 \text{ мкмоль/л}$ ;  $P < 0,05$ ), що є позитивним явищем. Субмікроскопічне дослідження структури стенових артерій при ФНВІ підтвердило наявність ушкоджень інтими, внутрішньої еластичної мембрани судинної стінки, відповідних змін у м'язовій оболонці, які є подібними до ушкоджень, характерних для ГХЕ (див. рисунок, б). На протипагу ФНВІ, ФНПІ призводять до антиатерогенних змін і забезпечують збереження структури судинної стінки, характерної для інтактних тварин.

Отже, ФНВІ супроводжуються зниженням вмісту нітрит-аніона та виступають у ролі ушкоджуючого чинника стінки кровоносних судин. Навпаки, при ФНПІ вазодилаторна функція ендотелію не порушується і структурні зміни судинної стінки є відсутніми.

Особливо небезпечним фактором ушкоджуючого впливу на судинний ендотелій є поєднання гіперхолестеринемії і фізичних навантажень високої інтенсивності, що підтверджується даними наступної серії

наших досліджень. ФНВІ на фоні аліментарної гіперхолестеринемії призводять до максимального зниження вмісту нітрит-аніона. Його вміст у плазмі крові у порівнянні з контролем зменшується в 1,8 раза ( $P < 0,001$ ), а у порівнянні з чистою гіперхолестеринемією і ФНВІ – у 1,3 і 1,45 раза відповідно. Поєднання цих впливів сприяє більш вираженій стимулювальній дії на атерогенез судин, ніж кожний із них зокрема, адже вміст загального холестерину у порівнянні з контролем збільшується на 81,9 % і є вищим на 7,4 і 12,7 % відповідно від окремо взятих гіперхолестеринемії та ФНВІ.

При електронно-мікроскопічному дослідженні стінок стенових артерій виявилось значне ушкодження їх ендотеліальної виселки, внутрішньої еластичної мембрани та м'язової оболонки (див. рисунок, в). Утворюються множинні атеросклеротичні бляшки, в основі яких перебувають пінисті клітини моно- і міоцитарного походження та позаклітинні відкладення холестерину та його ефірів. Можна припустити, що значно активуються адгезивні й агрегаційні процеси. У просвіті судин поблизу стінок виявляються агрегати тромбоцитів, лейкоцитів, еритроцитарні складжі. Підсилюється діapedез формених елементів крові.

Таким чином, поєднання гіперхолестеринемії та ФНВІ призводить до виражених структурних ушкоджень стінки стенових артерій і порушення рівня ендотеліозалежних факторів, що підтверджує розвиток вираженого ступеня ендотеліальної дисфункції із значним порушенням регуляції тонусу судин і прогресуванням атеросклеротичних змін кровоносних судин.

При помірних фізичних навантаженнях на фоні аліментарної гіперхолестеринемії у порівнянні з інтенсивними фізичними навантаженнями та гіперхолестеринемією, вміст загального холестерину у крові знижується більше ніж в 1,5 раза, а вміст нітрит-аніона хоч і є меншим у 1,1 раза у порівнянні з контролем, у порівнянні з ФНВІ

на фоні гіперхолестеринемії підвищується в 1,6 раза ( $P < 0,001$ ). При електронно-мікроскопічному дослідженні стегнових артерій за таких умов виявляються незначні локальні ушкодження її внутрішньої оболонки.

Отже, фізичні навантаження в помірно-му режимі навіть при гіперхолестеринемії значною мірою запобігають розвитку ендотеліальної дисфункції, чим стабілізують атеросклеротичні ушкодження судин. Позитивним у цьому процесі є не лише підвищення вмісту нітрит-аніона, а і збільшення синтезу ліпопротеїнів високої щільності, які мають антиатерогенні властивості. Крім того, при помірних фізичних навантаженнях створюються сприятливі умови для аеробного окислення жирів у жирових депо, гідроліз яких за таких умов підсилюється [2].

## ВИСНОВКИ

Гіперхолестеринемія та інтенсивні фізичні навантаження, а особливо їх поєднання, супроводжуються значним зниженням вмісту нітрит-аніона та вираженим атеросклеротичним ушкодженням стінки стегнових артерій. Помірні фізичні навантаження, навпаки, підвищують вміст нітрит-аніона, завдяки чому попереджається розвиток атеросклерозу досліджуваних артерій.

**I.B. Kreminska, V.A. Levytsky**

### INFLUENCE OF THE PHYSICAL LOADINGS OF DIFFERENT INTENSITY ON AN ATHEROGENESIS IN THE RATS

Alimentary hypercholesterolemia, as well as the intensive physical loadings are accompanied diminishing of level of nitrite-anion as compared to the control group of animals. Combination of the intensive physical loadings and hypercholesterolemia results in maximal lowering level of nitrite-anion and more expressed atherosclerotic damage of wall of arteries of experimental rats, and the moderate physical loadings at hypercholesterolemia render an opposite effect.

*Ivano-Francivsk State Medical University, Ivano-Francivsk, Ukraine*

*Івано-Франків. мед. ун-т*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аронов Д.М., Бубнова М.Г., Перова Н.В. и др. Влияние максимальной и субмаксимальной физических нагрузок на алиментарную дислипидению // Тер. архив. – 1993. – № 3. – С. 57–62.
2. Бубнова М.Г., Аронов Д.М., Перова Н.В. и др. Физические нагрузки и атеросклероз: динамические нагрузки высокой интенсивности как фактор, индуцирующий экзогенную дислипидемию // Кардиология. – 2003. – № 3. – С. 43–49.
3. Затеишиков Д. А., Манушкина Л. О., Кудряшова О. Ю. и др. Полиморфизм генов NO-синтетазы и рецептора ангиотензина-2 1-го типа и эндотелиальный гемостаз у больных ишемической болезнью сердца // Там же. – 2000. – № 11. – С. 28–32.
4. Малая Л. Т., Корж Л. Т., Балковая Л. Б. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы. – Харьков: Торсинг, 2000. – С. 79–134.
5. Одушко Н.П. Ранние различия в составе эфиров холестерина в печени и сыворотке крови под влиянием атерогенной диеты // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1982. – №4. – С. 90–93.
6. Талько В.И. Морфологические изменения сократительных структур сердца и стенок магистральных сосудов при физических нагрузках // Врачеб. дело. – 1989. – №6. – С. 55–58.
7. Транхтенберг Исаак. Молекула века: эволюция представлений // Зеркало недели. – 2003. – №35. – С. 14.
8. Фролькіс В. В., Кульчицький О. К., Новикова С. М. та ін. Зміни концентрації ліпопротеїнів, ендотеліну-1 та NO<sub>2</sub> плазми крові при експериментальній гіперхолестеринемії у кролів різного віку // Журн. АМН України. – 2000. – №3. – С. 575–581.
9. Araujo F.B., Barbosa D.S., Hsin C.Y. et al. Evaluation of oxidative stress in patients with hyperlipidemia // Atherosclerosis. – 1996. – 117, №2. – P.61–71.
10. Frellin C., Ladoux A. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis // Ann Endocrinol (Paris). – 2000. – № 61. – P.70–74.
11. Quyyumi A.A. Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease // Amer. J. Med. – 1998. – №105. – P.32S–39S.
12. Liorens S., Nava E. Cardiovascular diseases and the nitric oxide pathway // Curr Vascular. Pharmacol. – 2003. – 1, №3. – P. 35–46.
13. Murohara T., Witzensbicher B., Spyridopoulos I. et al. Role of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Endothelial Cell Migration // Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. – 1999. – №19. – P.1156–1161.
14. Setty S., Tune J.D., Downey H.F. Nitric oxide contributes to oxygen demand-supply balance in hypoperfused right ventricle // Cardiovascular. Res. – 2004. – №64. – P.431–436.

*Матеріал надійшов до редакції 12.07.2007*