

На правах рукопису

Сикало Ніна Володимирівна

ЗМІНИ СУДИННОЇ РЕАКТИВНОСТІ ПРИ СТАРІННІ,
РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗУ І
ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

І4.03.04 - нормальна фізіологія

А в т о р е ф е р а т

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук



AB 35.075

Робота виконана в Інституті геронтології АМН України

Наукові керівники

доктор медичних наук
академік НАН і АМН України, професор
ФРОЛЬКІС Володимир Веніамінович

доктор медичних наук
КУЛЬЧИЦЬКИЙ Олег Констянтиневич

Офіційні опоненти

доктор біологічних наук,
професор АЛЕКСЄВА Ірина Миколаївна

доктор медичних наук
НЕЩЕРЕТ Олександр Павлович

Провідна організація

Інститут кардіології
ім. акад. Н.Д. Стражеско АМН України

Захист відбудеться " _____ " _____ 1996 року
на засіданні спеціалізованої Вченої ради Д50.15.01 при Інституті
геронтології АМН України: 254114, Київ-114, вул. Вишгородська, 67.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Інституту
геронтології АМН України.

Автореферат розісланий " 18 " травня 1996 року.

Вчений секретар
спеціалізованої Вченої ради
кандидат медичних наук

ЛННБ ім. В. Стефаніка
АН України

Потапенко Р.І.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. В останні десятиріччя досягнуті вагомі успіхи у вивченні механізмів регуляції судинного тону́су, ролі у цьому транспорту кальцію, гуанозинмонофосфату, ендотелію (Базилук О.В., Берштейн С.А., 1989; Сагач В.Ф. та ін., 1994; Шуба М.Ф. та ін., 1994; Soloviev A.I. et al., 1991). Проте вікові зміни регуляції судинного тону́су не привернули ще належної уваги дослідників. Разом з тим, як відомо, зрушення судинного тону́су можуть бути однією з причин порушення функції кровообігу при старінні та розвитку вікової патології. Відомо, що при старінні істотно змінюється характер вазоактивних реакцій на різні фізіологічно активні речовини (ФАР). При цьому оцінка реакцій судин на різні ФАР з віком є неоднозначною - одні автори виявляють підвищення констрикторної активності судинної стінки, інші - не знаходять ніяких вікових відмінностей у розвитку вазоактивних реакцій (Фролькіс В.В. та ін., 1984; Koga T. et al., 1988; Toda N., 1991). Зміни судинної реактивності є однією з причин зрушень судинного тону́су, вони створюють передумови для розвитку патології (Фролькіс В.В. та ін., 1984; Фролькіс В.В., 1989; Winkelmann B.R. et al., 1992; Feingold K.R., 1992). Разом з тим, неясно, що є першопричиною, "пусковим" механізмом прогресування вікових порушень гемодинаміки. Враховуючи дані останніх досліджень (Фролькіс В.В. та ін., 1993; Nagao T., Vanhoutte P.M., 1991; Soloviev A.I. et al., 1993), можна припустити, що велика роль у вікових зрушеннях гемодинаміки належить змінам місцевих механізмів регуляції, пошкодженню мембран клітин і пов'язаному з цим порушенню їх функцій.

Останнім часом особливе значення у регуляції судинного тону́су і його порушень при старінні і розвитку патології надається ендотелію, оскільки багато ФАР справляють свій модулюючий вплив на судини, діючи не прямо на гладенькі м'язи (ГМ), а через ендотелій. Крім того, ендотеліоцитами синтезується цілий ряд ФАР як вазодилататорної, так і вазоконстрикторної дії (Сагач В.Ф. та ін., 1994; Soloviev A.I. et al., 1991; Moncada S. et al., 1991). Встановлено, що при старінні пошкоджується ендотелій, порушується його функція, змінюється синтез і баланс факторів ендотеліальної природи (Фролькіс В.В. та ін., 1993; Moritoki H. et al., 1986; Shirasaki Y. et al., 1988), що приводить до розвитку різних патологічних процесів. Разом з тим, до цього часу не було виявлено, як змінюється реактивність ГМ судин при цьому, як змінюється внесок різних механізмів у формування вазоактивної реакції при дії

різних чинників.

У відповідності з сучасними уявленнями, існує нерозривний зв'язок між старінням і розвитком атеросклерозу, розвитком дисліпопротеїнемії та атеросклерозом (Фролькіс В.В. та ін., 1994). Встановлено, що вікові зміни концентрації та співвідношення різних фракцій ліпопротеїнів у крові приводять до формування дисліпопротеїнемії, а останні, у свою чергу, приводять до розвитку атеросклерозу (Фролькіс В.В. та ін., 1994; Новікова С.М., 1995). Разом з тим, останнім часом з'явилися одиначні роботи, де говориться про прямий вплив ліпопротеїнів (ЛП) крові на судини (Ведерніков Ю.П. та ін., 1988). Це представляє значний інтерес у зв'язку з тим, що зміна співвідношення різних фракцій ЛП у крові є важливим механізмом розвитку атеросклерозу. Тому уявлялось доцільним вивчення вікових особливостей дилататорної дії різних класів ЛП на судинну реактивність, встановлення механізму цих змін при атеросклерозі.

Відомо, що захворювання на цукровий діабет дуже часто супроводжується істотним пошкодженням судинної стінки; більше ніж у 50% людей, хворих на діабет, виявляється артеріальна гіпертензія (Єфімов А.С. та ін., 1983; Епштейн О.В., Булат О.В., 1988). Разом з тим, цукровий діабет належить до ряду вікових патологій. Тому вважалось доцільним вивчення змін реактивності судинних ГМ при дії деяких ФАР у дорослих і старих тварин при моделюванні у них цукрового діабету.

Отже, при розвитку таких вікових патологій, як атеросклероз, цукровий діабет, артеріальна гіпертензія та ін. істотно пошкоджується судинна стінка, її ендотеліальний шар (Christoph S. et al., 1992; Winkelmann B.R. et al., 1992; Feingold K.R. et al., 1992), змінюється характер вазоактивних реакцій на різні ФАР, що циркулюють у крові. Знання конкретних механізмів їх дії на гладеньком'язові клітини (ГМК) судин, їх змін у старості може сприяти пошуку речовин, які здатні корегувати реактивність судин у залежності від наявних порушень. Тому встановлення вікових особливостей змін судинної реактивності, вивчення механізмів її порушень у старості та при моделюванні вікової патології має важливе теоретичне і практичне значення.

Мета дослідження. Вивчити відмінності реакцій судин на різні ФАР та механізми їх дії в процесі старіння, при розвитку експериментального атеросклерозу і цукрового діабету. Встановити роль ендотелію у механізмах формування змін вазоактивних реакцій зрушень судинної реактивності у старості та при моделюванні вікової патології.

Завдання дослідження.

1. Вивчити вікові особливості реакції судин на ФАР: норадреналін

(НА), ацетилхолін (АХ), карбохолін (КХ), нітропрусид натрію, інсулін і проаналізувати роль ендотелію у механізмах їх впливу на судини.

2. Встановити відмінності реакції судин на ФАР констрикторної та дилітаторної дії у тварин різного віку при розвитку у них експериментального атеросклерозу.

3. Вивчити вплив ЛП різної густини, що вилучені з крові дорослих і старих тварин, а також тварин з експериментальним атеросклерозом і крові людей похилого віку з атеросклерозом, на ГМК судин шурів різного віку.

4. Вивчити вікові особливості реакції судин шурів на ФАР при моделюванні у них цукрового діабету.

Наукова новизна роботи. У роботі показано, що у старості вазо-констрикторні реакції переважають над вазодилітаторними. Встановлено, що послаблення вазодилітаторних реакцій зумовлене порушенням функції ендотелію судин, який здатен синтезувати ендотеліальні розслаблюючі фактори (ЕРФ). Показано, що механізм розслаблення судинних ГМ з віком не порушується, проте змінюються шляхи реалізації судиннорозширюючого ефекту різних регуляторних чинників.

У старості та при розвитку експериментального атеросклерозу послаблюється судиннорозширюючий ефект ЛП. Виявлено, що при старінні у більшій мірі послаблюється вазодилітаторний ефект ЛП високої густини (ЛПВГ), тоді як при атеросклерозі виразніше зменшується реакція судин на ЛП низької та дуже низької густини (ЛПНГ та ЛПДНГ, відповідно). Важливо відзначити, що при експериментальному атеросклерозі спостерігається такий же тип змін судинної реактивності, як і при старінні - посилення реакції судин на констрикторні речовини, послаблення - на дилітаторні, у тому числі зменшення чутливості судинної стінки старих тварин до ЛП. Оскільки ЛП відіграють важливу роль у розвитку атеросклерозу, виявлена здатність їх справляти судиннорозширюючу дію і послаблення цієї здатності з віком додає нові уявлення про механізми атерогенезу. Тобто можна сказати, що розвиток атеросклерозу визначається не тільки участю ЛП у пошкодженні судинної стінки, але й віковим послабленням їх вазодилітаторної дії, що може обумовлювати підвищення констрикторної активності судинної стінки і приводить до зрушень судинного тонуусу.

Виявлено, що при експериментальному стрептозотоциновому цукровому діабеті вазодилітаторна реакція судин на інсулін зменшується у дорослих тварин і збільшується у старих у порівнянні з відповідним контролем. Це може бути проявом адаптаційних механізмів, які можуть спосте-

рігатися у старих щурів в умовах вікової нестачі інсуліну.

Практична значимість дослідження. Дослідження вікових змін судинних реакцій, аналіз механізмів дії ендотелій-залежних та ендотелій-незалежних вазодилітаторів обґрунтовує доцільність використання у клініці речовин, які здатні впливати на функцію ендотелію, модулюючого судинні реакції, здатні відновлювати мембрани ендотеліальних клітин.

Виявлені механізми порушень регуляції судинної реактивності при розвитку експериментального атеросклерозу та при моделюванні цукрового діабету можуть сприяти розвитку нових уявлень про можливі шляхи впливу, профілактики та лікування вікової патології.

Апробація роботи. Матеріали дисертаційної роботи доповідались і обговорювались на XIV з'їзді Українського фізіологічного товариства ім. І.П. Павлова (Київ, 1994), на симпозиумі "Біологічні механізми старіння" (Харків, 1994), на II Національному конгресі геронтологів та геріатрів України (Київ, 1995), на засіданнях відділу біології старіння Інституту геронтології АМН України (1993, 1994), на засіданнях лабораторії фізіології Інституту геронтології АМН України (1990-1996).

Структура та об'єм дисертації. Дисертація викладена на 134 сторінках машинописного тексту і складається із вступу, огляду літератури, опису методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, заключення та висновків. Список використаних літературних джерел містить 285 найменувань. У дисертації 7 таблиць та 17 рисунків.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 11 робіт.

Основні положення, що виносяться на захист.

1. При старінні змінюється реакція ГМК судин на ФАР - посилюються вазоконстрикторні реакції і послаблюються вазодилітаторні. Послаблення вазодилітаторних реакцій пов'язане з порушенням функції ендотелію, який приймає участь у їх здійсненні. При цьому сам механізм розслаблення ГМ судин, який реалізується, як відомо, через цГМФ і блокаду шляхів надходження кальцію, з віком не змінюється.

2. При старінні і розвитку експериментального атеросклерозу змінюється дія ЛП різної густини на ГМК судин. При старінні у більшій мірі послаблюється вазодилітаторний ефект ЛПВГ, а при експериментальному атеросклерозі - ЛПНГ та ЛПДНГ. Поряд з цим зменшується чутливість самої судинної стінки до всіх фракцій ЛП.

3. При експериментальному атеросклерозі у дорослих і старих кролів різко посилюються вазоконстрикторні реакції і послаблюються вазодилітаторні, що зумовлене порушенням функції ендотелію. У старих тварин ці зміни більше виражені.

4. При експериментальному цукровому діабеті у дорослих і старих щурів показники, які характеризують процеси скорочення і розслаблення ГМ судин, змінюються по-різному: у дорослих тварин з діабетом збільшується реакція судин на НА і зменшується їх розслаблення на інсулін, тоді як у старих, навпаки, у дослідних тварин реакція на НА була меншою у порівнянні з контролем, а на інсулін - більшою.

5. Порушення місцевих механізмів регуляції реактивності судин обумовлює функціонально-метаболічні зрушення у ГМК судин, зміни судинної реактивності у старості та при розвитку вікової патології.

Особистий внесок дисертанта у розробку наукових результатів, що вносяться на захист. Автором дисертаційної роботи особисто розроблено програму та методологію досліджень, виконано усі фізіологічні та біохімічні методики, самостійно проведено обчислення та аналіз усього отриманого матеріалу, сформульовані положення та висновки роботи.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведені на дорослих (8-10 міс) та старих (24-26 міс) щурах лінії Вістар і на дорослих (1,0-1,5 року) та старих (4-5 років) кролях породи Шиншила. Тварини утримувались в умовах віварію Інституту геронтології АМН України.

Скоротливу здатність ізольованого сегменту грудинної аорти тварин досліджували за модифікованою методикою Sjolín et al. (1978). Розрахунки змін тонічної напруги ГМ ізольованих сегментів грудинної аорти тварин проводились як в абсолютних одиницях (мН) - сила скорочення, так і у відносних - для вазодилататорних реакцій - у % від заданого рівня активованих НА сегментів. Для вивчення судинної реактивності використовували ЛП, вилучені з крові щурів різного віку, з крові кролів з експериментальним атеросклерозом, а також з крові практично здорових і хворих на атеросклероз людей похилого віку. Різні фракції ЛП (ЛПВГ, ЛПНГ, ЛПДНГ) отримували методом препаративного ультрацентрифугування у градієнті щільності NaBr (Клімов А.Н. та ін., 1980). В одержаних ЛП визначали вміст білку (Markwell M. et al., 1978), загального холестерину (Кейтс М., 1975), фосфоліпідів (Svanborg A., Svenerholm L., 1961) після попередньої їх екстракції (Markwell M. et al., 1975).

Експериментальний атеросклероз у кролів моделювали за допомогою тривалого навантаження холестерином. Холестерин вводили тваринам за допомогою зонду кожний день на протязі 3-х місяців з розрахунку 0,25 г холестерину на 1 кг ваги тварини у 10%-ному розчині олії.

Експериментальний інсулін-залежний цукровий діабет у дорослих і

старих щурів викликали шляхом внутрішньочеревного введення стрептозо-тоцину у дозі 60 мг\кг живої ваги (Титюк Т.Г. та ін., 1990). Рівень глюкози у крові визначали за кольоровою реакцією з орто-толуїдином (Колб В.Г., Камишников В.С., 1976).

Вірогідність результатів досліджень оцінювали за t-критерієм Ст'юдента.

ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ РОБОТИ

Вікові особливості впливу деяких вазоактивних речовин на судини.

Для співставлення вікових особливостей вазоактивних реакцій були використані вазоконстрикторні та вазодилаторні речовини - НА, АХ, КХ, інсулін, дія яких на ГМК судин реалізується через ендотелій-залежні та ендотелій-незалежні механізми. Особливе значення має вивчення реакції судин на нітропрусид натрію, оскільки останній, на відміну від АХ, КХ, є ендотелій-незалежним агентом і здатний відщеплювати NO, який прямо діє на ГМ судин. Усе це дало можливість детально проаналізувати особливості зміни механізмів скорочення і розслаблення ГМ судин при старінні і розвитку зчеплених із ним патологій.

Проведені дослідження показали, що чутливість ізольованих сегментів грудинної аорти дорослих і старих щурів до НА не відрізняється і складає 10 нмоль, а амплітуда скорочення вірогідно більша у старих тварин у порівнянні з дорослими (Рис. 1).

Відомо, що дія НА на судини не опосередкована ендотелієм. Разом з тим, після видалення ендотелію амплітуда скорочення судинних препаратів на НА зменшувалась як у дорослих, так і у старих щурів. Це може пояснюватись послабленням синтезу фосфоінозитулу, який приймає участь у реалізації процесу скорочення судинних ГМ при дії НА, а утворення фосфоінозитулу, у свою чергу, активується ендотеліном, який синтезується ендотелієм. Після видалення ендотелію, природньо, зменшується утворення ендотеліну. Проте вазоконстрикторна реакція на НА після видалення ендотелію залишається все одно вірогідно більшою у старих щурів у порівнянні з дорослими.

Судинорозширююча дія АХ опосередкована ендотелієм і реалізується завдяки виділенню ендотеліоцитами ЕРФ, що являє собою оксид азоту (NO) і діє на ГМК судин, викликаючи їх розслаблення (Furchgott R.F., 1984; Ignarro L.J., Kadavitz P.J., 1985). Проведені дослідження показали, що у дорослих щурів АХ викликає дозозалежне розслаблення попередньо акти-

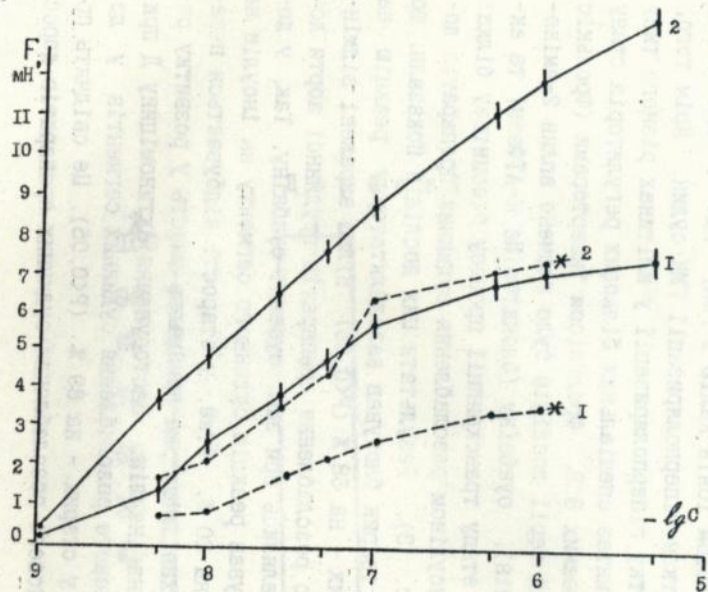


Рис. 1. Дія норадреналіну на реактивність гладеньких м'язів ізольованого сегменту грудинної аорти дорослих /1/ і старих /2/ щурів з інтактним /суцільна лінія/ і видаленим /втрихова лінія/ ендотелієм.

По осі абсцис - концентрація норадреналіну /-lg C, моль/л/;
по осі ординат - сила скорочення судинного сегменту /F, мН/.

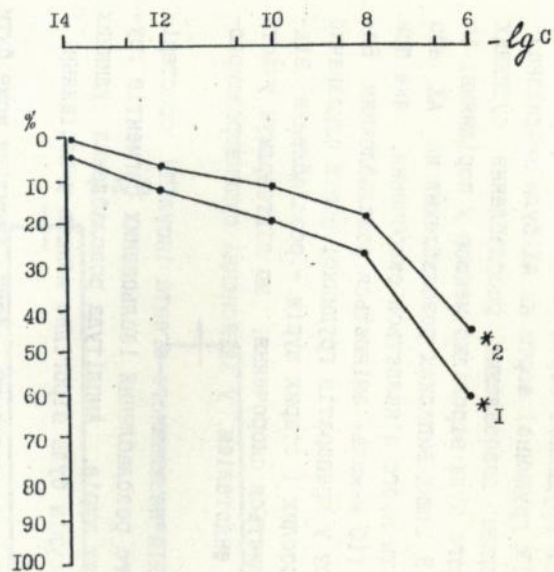


Рис. 2. Дія ацетилхоліну на реактивність гладеньких м'язів активованого норадреналіном ізольованого сегменту грудинної аорти дорослих /1/ і старих /2/ щурів.

По осі абсцис - концентрація ацетилхоліну /-lg C, моль/л/;
по осі ординат - розслаблення судинного сегменту в % від вихідного рівня НА-контрактури, який приймався за 100 %.

зованих НА кільцевих препаратів грудинної аорти (Рис. 2).

У старих тварин реакції ГМ грудинної аорти на АХ були неоднозначні. В одних випадках АХ викликав дозозалежне розслаблення судинних препаратів, проте амплітуда його була вірогідно меншою у порівнянні із дорослими щурами (Рис. 2). В інших випадках розслаблення на АХ або взагалі відсутнє, або замість нього з'являється скорочення, яке при максимальній концентрації АХ (10 мкмоль) змінюється розслабленням. Видалення ендотеліального шару у препаратів грудинної аорти однозначно змінювало реакцію на АХ у дорослих і старих щурів - розслаблення відсутнє, а замість нього з'являється скорочення, що підтверджує участь ЕРФ - NO, який синтезується ендотелієм, у здійсненні судиннорозширюючої дії АХ.

При застосуванні ендотелій-незалежного агента інсуліну спостерігався розвиток дозозалежного розслаблення ізольованих сегментів грудинної аорти дорослих і старих щурів. Амплітуда розслаблення судинних сегментів старих щурів на інсулін була вірогідно меншою у порівнянні з дорослими тваринами.

Слід відзначити, що вазодилататорний ефект інсуліну може бути обумовлений як пасивним виходом іонів калію з ГМК, так і активацією Na, K-АТФази, тобто розвитком гіперполяризації ГМК судин. Крім того, було показано, що у розвитку гіперполяризації у клітинах різного типу певне значення може мати синтез спеціальних білкових регуляторів стану плазматичних мембран, названих В.В. Фролькісом інверторами (Фролькіс В.В., 1992). У спеціальній серії дослідів було вивчено вплив 2-амінопіридину (блокатор К-каналів), оуабаїну (блокатор Na, K-АТФази) та актиноміцину Д (блокатора етапу транскрипції процесу біосинтезу білка) на розвиток викликаного інсуліном розслаблення судинних препаратів дорослих і старих щурів (Рис. 3). Результати цих дослідів показали, що 2-амінопіридин у дорослих тварин блокував вазодилататорну реакцію на інсулін на 73 %, а у старих - на 68 % ($P < 0,05$). Більш виражені відмінності блокади інсулінового розслаблення препаратів грудинної аорти дорослих і старих щурів виявлялись при застосуванні оуабаїну. Так, у дорослих щурів оуабаїн блокував реакцію судинного сегменту на інсулін на 74 %, а у старих - лише на 20 %. Отже, у старості відбувається перерозподіл внеску різних механізмів, що приймають участь у розвитку реакції розслаблення судин на інсулін. Застосування актиноміцину Д приводило до блокади інсулінового розслаблення судинних сегментів у дорослих щурів на 74 %, а у старих - на 69 % ($P < 0,05$). Це свідчить про те, що у розвитку інсулінового розслаблення судинних препаратів дорос-

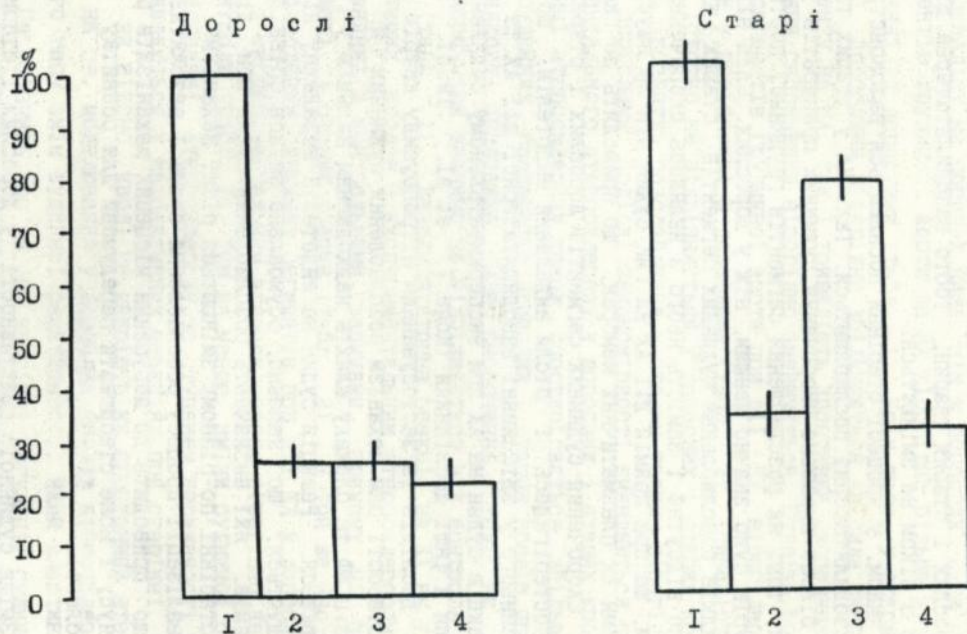


Рис. 3. Блокада інсулінового розслаблення сегменту грудинної аорти дорослих і старих щурів при застосуванні 2-амінопіридину /2/, оуабаїну /3/ та актиноміцину Д /4/. За 100 % прийнятий ступінь розслаблення судинного сегменту під впливом інсуліну - контроль /I/.

лих і старих щурів певне значення має синтез інверторів.

Особливе значення мають результати дослідів з застосуванням нітропрусиду натрію. Це особливо цікаво у зв'язку з тим, що нітропрусид натрію є джерелом NO, який діє безпосередньо на ГМ судин, викликаючи їх розслаблення і обминаючи при цьому ендотелій. Показано, що нітропрусид натрію у концентраціях від 10 нмоль до 1 мкмоль викликає дозозалежне розслаблення попередньо активованих НА ізольованих сегментів грудинної аорти щурів різного віку. Ця реакція вірогідно не відрізняється у дорослих і старих тварин, тобто вазодиліаторна дія нітропрусида натрію з віком не змінюється.

Таким чином, у процесі старіння посилюються вазоконстрикторні реакції, а вазодиліаторні послаблюються. Так, НА у старих тварин викликав значно більше виражене скорочення судинних препаратів у порівнянні з дорослими, тоді як розслаблення сегментів грудинної аорти при дії АХ у старих щурів було значно меншим, ніж у дорослих. Слід відзначити, що у ряді випадків розслаблення судинних сегментів старих щурів на АХ взагалі було відсутнє і замість нього з'являлось скорочення. Це пояснюється тим, що при прямій дії АХ на ГМК судин він зв'язується з холінорецепторами їх плазматичних мембран, що приводить до скорочення судинних ГМ. Скорочення судинних сегментів дорослих і старих щурів при дії АХ спостерігалось і після видалення ендотелію, що підтверджує участь останнього у здійсненні вазодиліаторної дії АХ та інших ФАР. Подібну реакцію судин на АХ при експериментальному видаленні ендотелію спостерігали й інші дослідники (Koga T. et al., 1988). Разом з тим, результати дослідів із застосуванням нітропрусида натрію свідчать про те, що в старості сам механізм розслаблення судинних ГМ, що реалізується через ЦГМФ та блокаду шляхів надходження кальцію у ГМК, практично не змінюється. Реакція судин на ендотелій-незалежну дію інсуліну з віком зменшується, що, напевно, обумовлено зміною співвідношення різних механізмів, які визначають розслаблення судин при дії інсуліну. Отже, при старінні по-різному змінюються різні механізми, що приймають участь в реалізації процесу розслаблення судин і вазоактивних реакцій взагалі, що приводить до порушення місцевих механізмів регуляції судинного тонуусу і може створювати передумови для розвитку вікової судинної патології.

Зміни судинної реактивності у дорослих і старих тварин при моделюванні у них атеросклерозу.

Існує немало даних про зміни реактивності судин при атеросклерозі-

зі, як у тварин, так і у людей (Фролькіс В.В., 1989; Сагач В.Ф. та ін., 1994; Galle J., 1991; Folkow B., Svanborg A., 1993). Звертає на себе увагу, що роботи по експериментальному атеросклерозу виконані головним чином на дорослих тваринах. У той же час атеросклероз частіше розвивається у старості. Тому для аналізу можливих змін судинної реактивності уявлялось важливим вивчення механізмів її порушення у процесі старіння та при розвитку експериментального атеросклерозу.

Проведені дослідження показали, що у старих кролів чутливість судин до норадреналіну на порядок вища, ніж у дорослих. Сила скоротливої реакції сегментів грудинної аорти на НА вірогідно більша у старих кролів у порівнянні із дорослими (табл. 1). Крім того, у старих кролів у порівнянні з дорослими вірогідно збільшується як сила скорочення судинного сегменту на НА, так і тривалість зростання скорочення, а швидкість зростання скорочення вірогідно зменшується. Ступінь розслаблення ізольованих сегментів грудинної аорти при дії КХ вірогідно менша у старих тварин у порівнянні з дорослими (табл. 2). Тривалість розвитку розслаблення істотно не відрізняється у дорослих і старих кролів, тоді як швидкість розвитку розслаблення у старих тварин вірогідно менша у порівнянні з дорослими. Подібні закономірності виявляються при розвитку експериментального атеросклерозу у дорослих і старих кролів. Так, при моделюванні атеросклерозу також спостерігається збільшення сили скорочення судинних препаратів дорослих і старих кролів при дії НА і зменшення швидкості зростання сили скорочення, тоді як тривалість зростання скорочення значимо не відрізняється від контролю в обох вікових групах (табл. 1). Вазодиліаторна реакція на КХ як у дорослих, так і у старих кролів з експериментальним атеросклерозом вірогідно менша у порівнянні з контрольними тваринами, причому ці зміни були більше виражені у старих тварин (табл. 2). У той же час тривалість розвитку розслаблення судинних сегментів при дії КХ у дорослих і старих кролів з експериментальним атеросклерозом вірогідно не відрізняється від контролю (табл. 2). Тим не менше, зміни судинної реактивності при моделюванні атеросклерозу за ступенем вираженості подібні до тих, які виявляються у вазоактивних реакціях при старінні. Слід відзначити, що, як відомо, кролі не хворіють на спонтанний атеросклероз. Не дивлячись на це, моделювання у дорослих кролів атеросклерозу приводить до такого типу змін судинної реактивності, який властивий старому організмові. Це свідчить про те, що на рівні регуляції судинного тону, скоротливих властивостей судинної стінки при старінні і атеросклерозі "спрацьовують" подібні механізми.

Таблиця 1.

Основні параметри скорочення ізольованого сегменту грудинної аорти дорослих і старих кролів при експериментальному атеросклерозі під впливом норадреналіну (0,1 мкмоль)

Показник	Контроль		Атеросклероз	
	Дорослі	Старі	Дорослі	Старі
Сила скорочення, мН	12,00±0,37	18,70±0,25*	14,30±0,48	20,30±0,34#
Тривалість розвитку скорочення, хв	19,75±1,11	23,00±1,3*	27,00±3,36	24,00±4,98#
Швидкість зростання скорочення, мН\хв	0,61±0,03	0,38±0,03*	0,53±0,03	0,43±0,02#

Примітка. *,# - Відмінності між дорослими і старими кролями статистично вірогідні (P<0,05).

Таблиця 2.

Основні параметри розслаблення норадреналінової контрактури ізольованого сегменту грудинної аорти дорослих і старих кролів при експериментальному атеросклерозі під впливом карбохоліну (1 мкмоль)

Показник	Контроль		Атеросклероз	
	Дорослі	Старі	Дорослі	Старі
Сила розслаблення, мН	-6,15±0,55	-3,20±0,38*	-4,30±0,27	-2,60±0,33#
Тривалість розвитку розслаблення, хв	14,29±1,78	16,00±1,63	10,72±2,12	10,00±1,94
Швидкість розвитку розслаблення, мН\хв	0,34±0,05	0,19±0,03*	0,28±0,08	0,26±0,07

Примітка. *,# - Відмінності між дорослими і старими кролями статистично вірогідні (P<0,05).

Вазоактивна дія ЛП при старінні та експериментальному атеросклерозі.

Розвиток атеросклерозу визначається як віковими змінами регуляції судинного тонуусу, так і змінами при старінні вмісту і співвідношення різних класів ЛП - дисліпопротеїнеміями. Відомо, що однією із головних причин розвитку атеросклерозу є накопичення ЛПНГ та ЛПДНГ у судинній стінці (Клімов А.Н., Нагорнев В.А., 1984; Ross R., 1979; Tasaki H. et al., 1994). Разом з тим, ЛП можуть також прямо впливати на тонус судинної стінки, а саме - вони справляють виражену судиннорозширюючу дію.

Проведені дослідження показали, що вміст ЛПВГ та ЛПНГ у крові дорослих і старих тварин вірогідно не відрізняється. Разом з тим, у крові старих щурів вірогідно збільшується (на 27 %) вміст атерогенної фракції ЛП - ЛПДНГ. Отже, у щурів, яким властива видова стійкість до розвитку спонтанного і експериментального атеросклерозу, вікові зміни вмісту ЛП все-таки мають деякий атерогенний характер. Крім того, у старості спостерігається зміна структури ЛП, їх ліпідного складу. Так, у ЛПВГ старих щурів знижується вміст фосфоліпідів і зростає рівень загального холестерину, внаслідок чого зменшується величина фосфоліпиди/загальний холестерин і фосфоліпиди/зв'язаний холестерин. Досить ймовірно, що подібні зміни ліпідного складу ЛПВГ можуть приводити до порушення їх властивостей як вазоактивних речовин. Крім того, зміна властивостей ЛП може бути пов'язана і з віковими змінами їх апопротеїнового спектру (Фролькіс В.В. та ін., 1994; Новікова С.М., 1995).

Для вивчення впливу ЛП на реактивність судинної стінки нами було проведено 3 серії дослідів: 1) вплив ЛП, вилучених із крові дорослих і старих щурів, на реактивність сегментів грудинної аорти щурів різного віку; 2) вплив ЛП, вилучених із крові інтактних кролів і кролів, які на протязі 3-х місяців отримували з їжею холестерин, на реактивність судинних сегментів дорослих щурів; 3) вплив ЛП, вилучених із крові практично здорових і хворих на атеросклероз людей похилого віку, на реактивність судинних сегментів дорослих щурів. Проведені дослідження показали, що усі фракції ЛП крові дорослих і старих щурів справляють виражений вазодилітаторний ефект (Рис. 4). Звертає на себе увагу те, що у старих щурів розслаблення судинного сегменту при дії ЛП було вірогідно меншим, ніж у дорослих, причому найбільш виражене ослаблення вазодилітаторної реакції спостерігається при дії ЛПВГ. Це узгоджується з даними про вікові зміни їх ліпідного складу.

При вивченні впливу на судинну стінку ЛП, вилучених із крові кро-

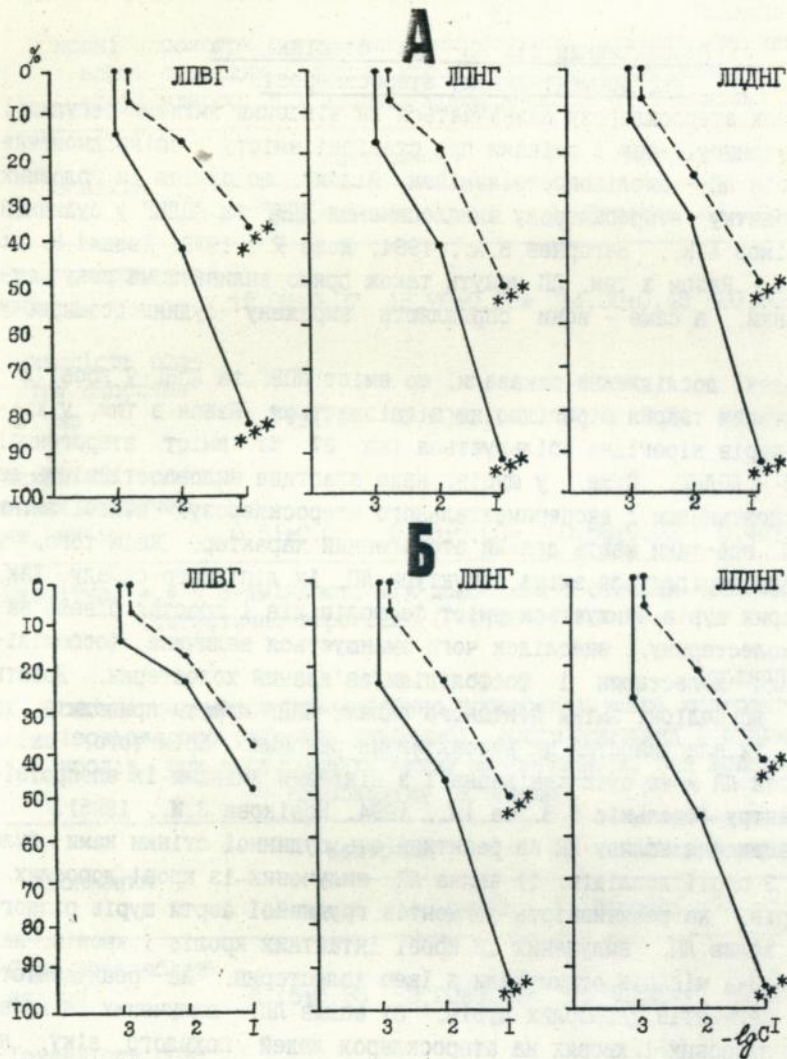


Рис. 4. Дилататорна реакція активованого норадреналіном /10 мкмоль/ ізольованого сегменту грудинної аорти дорослих і старих щурів при дії різних фракцій ліпопротеїнів, вилучених із крові тварин різного віку.

По осі абсцис - концентрація ліпопротеїнів /-lg C, мг білку/мл фракції/; по осі ординат - ступінь зниження напруги гладеньких м'язів судинного сегменту в % від вихідного рівня НА-контрактури.

А: суцільна лінія - судини дорослих щурів, ЛП дорослих щурів; штрихова лінія - судини старих щурів, ЛП старих щурів.

Б: суцільна лінія - судини дорослих щурів, ЛП старих щурів; штрихова лінія - судини старих щурів, ЛП дорослих щурів.

лів з експериментальним атеросклерозом, а також із крові людей похилого віку з атеросклерозом, також було виявлено зменшення їх вазодилататорного ефекту в порівнянні з ЛП, вилученими з крові інтактних тварин і практично здорових людей. Слід відзначити, що при атеросклерозі більш виражено послаблюється судиннорозширююча дія ЛПНГ та ЛПДНГ. Встановлене послаблення вазодилататорного ефекту ЛП у старості, а також при розвитку експериментального і спонтанного атеросклерозу може пояснюватися як віковими змінами чутливості самої судинної стінки до цих речовин, так і зміною з віком їх білкового та ліпідного складу.

Таким чином, у процесі старіння, а також при розвитку атеросклерозу знижується вазодилататорний ефект ЛП. Можна припустити, що це може бути одним з факторів, які визначають підвищення судинного тонузу як при старінні, так і при атеросклерозі. Крім того, при старінні зменшується чутливість самої судинної стінки до ЛП. Весь цей комплекс змін може відігравати велику роль у вікових зрушеннях судинного тонузу.

Зміни судинної реактивності у дорослих і старих шурів при моделюванні цукрового діабету.

При цукровому діабеті, частота якого вірогідно зростає з віком, також виявляються істотні пошкодження ендотелію судин, розвивається артеріальна гіпертензія, атеросклероз та його прояви (Ефімов А.С., 1983; Епштейн Є.В., Булат О.В., 1988; Altan V.M. et al., 1989). Виявилось, що при розвитку експериментального цукрового діабету у старих шурів вірогідно збільшується сила скоротливої реакції ізольованого сегменту грудинної аорти при дії НА у порівнянні з контролем. У той же час, вазодилататорна реакція на інсулін у цих тварин вірогідно більша у порівнянні з контрольними, тоді як у дорослих шурів цього не спостерігається. Це можна пояснити тим, що у старих тварин взагалі спостерігається інсулінова нестача і вони у певній мірі адаптовані до порушень, які розвиваються при цукровому діабеті. Ймовірно, окрім судинних порушень у старих тварин при розвитку експериментального цукрового діабету мобілізуються і деякі пристосувальні механізми. У дорослих шурів цього не спостерігається.

Таким чином, при розвитку експериментального цукрового діабету у дорослих і старих шурів неоднаково змінюється метаболізм і функція судинної стінки, про що свідчать різноспрямовані зрушення судинних реакцій на ФАР при моделюванні цукрового діабету у тварин різного віку.

Таким чином, у процесі старіння змінюється реактивність судин при дії ФАР - НА, АХ, КХ. Інсуліну - підвищується констрикторна активність судинної стінки і послаблюється дилататорна. Разом з тим, порівняння реакцій судин на АХ і нітропрусид натрію дозволяє припустити, що у старості пошкоджується не сам механізм розслаблення судинних ГМ, а вікове послаблення вазодилататорних реакцій пов'язане з порушенням функції ендотелію, послабленням синтезу ЕРФ. Подібні закономірності спостерігаються і при моделюванні атеросклерозу і цукрового діабету. Розвиток атеросклерозу, як відомо, приводить до вираженої дисліпопротеїнемії та дисаполіпропротеїнемії. Зміни судинної реактивності при експериментальному атеросклерозі свідчать як про зміни чутливості самої судинної стінки до ФАР, так і про послаблення прямого впливу ЛП на судини. При експериментальному атеросклерозі, як і при старінні, спостерігається збільшення внеску вазоконстрикторних реакцій і зменшення вазодилататорних у формування судинного тону, що може бути однією з причин його підвищення, розвитку вікової патології. Взагалі, зміни судинної реактивності як при старінні, так і при розвитку експериментального атеросклерозу і цукрового діабету мають схожий характер і багато у чому пов'язані з порушенням функції ендотелію. Разом з тим, порушення судинної реактивності в старості пов'язане не тільки з порушенням функції ендотелію, але й із зміною і перерозподілом внеску різних механізмів, за участю яких здійснюються процеси скорочення і розслаблення судинних ГМ. Це приводить до порушення місцевих механізмів регуляції судинного тону у старості, що створює передумови для його вікових зрушень, порушення гемодинаміки і розвитку судинної патології.

ВИСНОВКИ

1. У старості посилюється вазоконстрикторна реакція на НА і послаблюються вазодилататорні реакції на АХ, КХ, інсулін. При дії АХ на деендотелізовані судинні препарати розслаблення не розвивається, а замість нього з'являється скорочення. Це свідчить про те, що ослаблення вазодилататорних реакцій у старості може бути обумовлене віковим пошкодженням ендотеліального шару судинної стінки.

2. Блокатор К-каналів 2-амінопіридин 1, особливо, блокатор Na,K-АТФази оубаїн у меншій мірі блокували інсулінове розслаблення ізольованих сегментів грудинної аорти старих щурів у порівнянні з дорослими. Це свідчить про те, що активність Na,K-АТФази у старості зменшується. Застосування блокатора етапу транскрипції процесу біосинтезу білка актиноміцина D приводило до блокади інсулінового розслаб-

лення судинних сегментів дорослих і, у меншій мірі, старих щурів. Тобто у здійсненні вазодилататорної реакції на інсулін певне значення мають спеціальні пептидні регулятори стану плазматичних мембран - інвертори, які мають більше значення у дорослих тварин. Отже, ослаблення судиннорозширюючої дії інсуліну у старості обумовлене зміною співвідношення різних механізмів, які приймають участь у його здійсненні, що не опосередковані ендотелієм.

3. Судиннорозширююча дія нітропрусиду натрію, яка не опосередкована ендотелієм, вірогідно не відрізняється у дорослих і старих щурів, що свідчить про те, що здатність судинних гладеньких м'язів до розслаблення у старості не порушується.

4. Розвиток експериментального атеросклерозу приводить до посилення констрикторної та послаблення дилататорної активності судинної стінки, що може бути пов'язане з пошкодженням ендотелію і порушенням синтезу ендотелій-залежних регуляторних факторів.

5. Ліпопротеїни різних класів справляють виражену вазодилататорну дію у дорослих і старих щурів. У старості та при моделюванні атеросклерозу у дорослих і старих кролів послаблюється судиннорозширююча дія ліпопротеїнів крові. Це пов'язано як із змінами ліпідного та білкового спектрів ЛП, так і з послабленням чутливості самої судинної стінки до цих речовин.

6. При розвитку експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету у дорослих і старих щурів посилюється вазоконстрикторна реакція на норадреналін. При цьому вазодилататорна реакція на інсулін послаблюється у дорослих тварин і посилюється у старих. Подібний ефект при діабеті може бути обумовлений особливостями судинної реактивності в умовах вікового зниження інсулінової забезпеченості організму.

7. Зміни судинної реактивності у старості та при моделюванні вікової патології (атеросклероз, цукровий діабет) мають схожий характер і заключаються в посиленні вазоконстрикторних і послабленні вазодилататорних реакцій. В основі розвитку цих зрушень лежить порушення ендотелій-залежних місцевих механізмів регуляції судинного тонуусу, функціонально-метаболічні зрушення при старінні та розвитку вікової патології.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ НАУКОВИХ ПРАЦЬ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Сыкало Н.В. Возрастные особенности реакции гладкомышечных клеток грудной аорты крыс на действие инсулина. // ДАН Украины. - 1993. - N 3. - С. 150-153.

2. Фролькис В.В., Базилук О.В., Сыкало Н.В. Роль эндотелия в возрастных изменениях реактивности сосудов к действию физиологически активных веществ и гипоксии. //Пробл. старения и долголетия. - 1993. - 3, N 2. - С. 83-90.

3. Сыкало Н.В. Влияние атеросклероза на сосудистую реактивность взрослых и старых кроликов. //Пробл. старения и долголетия. - 1994. - 4, N 2. - С. 203-212.

4. Сыкало Н.В., Базилук О.В. Вікові зміни реактивності судин до дії фізіологічно активних речовин і гіпоксії та роль у цьому ендотелію. //Тез. доп. II Національного конгресу геронтологів та гериатрів України 4-6 жовтня 1994 р., Київ. - Київ, 1994. - Ч.2. - С. 560.

5. Сыкало Н.В. Вплив ліпопротеїдів, виділених із крові тварин різного віку, на судинний тонус дорослих і старих щурів. //Тез. доп. XIV з'їзду Укр. фізіол. товариства ім. І.П. Павлова. - Київ, 1994. - С. 344-345.

6. Сыкало Н.В. Вікові особливості реакції судин щурів на дію норадреналіну та інсуліну при розвитку у них експериментального цукрового діабету. //Тез. доп. симпоз. "Біологічні механізми старіння" 12-14 травня 1994 р., Харків. - Харків, 1994. - С. 134.

7. Сыкало Н.В. Изменение сосудистых реакций на действие физиологически активных веществ при развитии экспериментального сахарного диабета у крыс разного возраста. //ДАН Украины. - 1995. - N 6. - С. 140-143.

8. Фролькис В.В., Сыкало Н.В., Кульчицкий О.К. и др. Липопротеиды крови и их влияние на сосудистый тонус у животных разного возраста. //ДАН Украины. - 1995. - N 5. - С. 132-136.

Сыкало Н.В. Изменение реактивности сосудов при старении, развитии экспериментального атеросклероза и сахарного диабета.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.04 - нормальная физиология, Институт геронтологии АМН Украины, Киев, 1996.

Защищается 8 научных работ, которые содержат теоретические сведения об изменении местных механизмов регуляции сосудистой реактивности. Показано повышение констрикторной активности сосудистой стенки и ослабление дилататорной в старости, а также при развитии экспериментального атеросклероза и сахарного диабета, что во многом связано с нарушением функции эндотелия сосудов. Установлено ослабление вазодилаторного действия липопротеинов, выделенных из крови старых животных, а

также из крови взрослых и старых кроликов с экспериментальным атеросклерозом и из крови пожилых людей с атеросклерозом. Это обусловлено как изменением чувствительности сосудистой стенки старых животных к липопротеинам, так и изменением их структуры и свойств при старении и развитии атеросклероза.

Sykalo N.V. Vessels reactivity in aging, experimental atherosclerosis and diabetes mellitus.

Dissertation on the scientific degree of Candidate of Biological Sciences, Normal Physiology (14.03.04), Institute of Gerontology of Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev, 1996.

8 scientific works concerning the impairment of the mechanisms of vessel reactivity regulation in aging are presented for the defense. It is shown that constrictor activity of vessel wall is increased and dilatation is decreased in aging and development of experimental atherosclerosis or diabetes mellitus, which could be connected with the impairment of vessel endothelium function. The vasodilatation effect of lipoproteins from the blood of old animals, as well as from the blood of adult and old rabbits or old patients with atherosclerosis is diminished. This may be the result of both decrease of the sensitivity of vessel wall of old animals or the changes of their structure and properties in aging and development of atherosclerosis.

Ключові слова: реактивність судин, ендотелій, старіння, атеросклероз, цукровий діабет, ліпопротеїни, фізіологічно активні речовини.

Зам. 54 Формат 60x84/16 Умовн. друк. арк. 1.00
Підписано до друку 05.04.1996 р. Тираж 100

Київська книжкова друкарня наукової книги. Київ, Репіна, 4.

AbSp. O. 10

436760

AB 35.015

Книга "Вопросы философии" - 1954 г. - 1.00
Получено 25 июля 1954 г. - Тираж 100

Информация о книге: автор, название, год издания, место, серия, т.