

УДК 616-005.1-08:569.323.4

ФОРМИРОВАНИЕ АНТИАГРЕГАЦИОННЫХ ДИСФУНКЦИЙ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ У КРЫС ВО ФРУКТОЗНОЙ МОДЕЛИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Солдатова О.А.

Курский институт социального образования (филиал) РГСУ, Курск, e-mail: ilmedv1@yandex.ru

Функционирование сосудистого гемостаза во многом обеспечивает гомеостаз во всем организме млекопитающих. Большое значение в нем имеют синтетические свойства сосудистого эндотелия, вырабатывающего большое количество различных биологически активных веществ, определяющих тонус сосудов, оптимум их морфологии, выраженность сосудистого контроля над процессами гемостаза. Цель: рассмотреть в условиях экспериментального формирования метаболического синдрома процесс развития антиагрегационных нарушений сосудов. В исследование включена 61 крыса. Это самцы линии Вистар в возрасте 2,5–3 мес. Животные разделены на 2 группы: 32 крысы получали в свободном доступе в качестве питья 10% раствор фруктозы и 29 крыс составили группу контроля. Применены биохимические, гематологические и статистические методы исследования. В экспериментальных условиях фруктозной нагрузки выяснено, что одновременно с нарастанием массы тела и развитием биохимических нарушений, свойственных для метаболического синдрома, наступает выраженное прогрессирующее ослабление антиагрегационной способности сосудистого эндотелия за счет депрессии продукции в сосудах простациклина и оксида азота.

Ключевые слова: крысы, фруктоза, метаболический синдром, сосуды, гемостаз

FORMATION ANTIAGREGATIONNOGO DYSFUNCTIONAL VASCULAR WALL IN RATS DURING FRUCTOSE MODELS METABOLIC SYNDROME

Soldatova O.A.

*Kursk Institute of social education (branch of the institute RSSU (Russian State Social University)),
Kursk, e-mail: ilmedv1@yandex.ru*

Operation of vascular hemostasis largely ensures the homeostasis throughout the mammalian body. Great value in it are properties of synthetic vascular endothelium that can produce a wide variety of biologically active substances that determine vascular tone, the optimum morphology, expression of vascular hemostasis process control. Objective: To examine in experimental form of the metabolic syndrome development antiagregatsionnyh violations vessels. The study included 61 male rats Wistar aged 2,5–3 months. Animals were divided into 2 groups: 32 rats were freely available as a drink 10% fructose solution and 29 rats amounted to a control group. Applied biochemistry, hematology and statistical methods. Under experimental conditions, fructose load found that simultaneously with the increase in body weight and the development of biochemical abnormalities characteristic of metabolic syndrome, there comes a marked progressive weakening of antiplatelet ability vascular endothelium due to depressed production in vascular prostacyclin and nitric oxide.

Keywords: ra, fructose, metabolic syndrome, blood vessels, hemostasis

Функционирование сосудистого гемостаза во многом обеспечивает гомеостаз во всем организме млекопитающих [2]. Большое значение в нем имеют синтетические свойства сосудистого эндотелия, вырабатывающего большое количество различных биологически активных веществ, определяющих тонус сосудов, оптимум их морфологии, выраженность сосудистого контроля над процессами гемостаза [2, 14].

Клинические наблюдения за различными категориями больных помогли сформировать современные представления о механизмах регуляции гемостаза при различной патологии [5, 6], пролив свет на их динамику при изолированной артериальной гипертензии (АГ) [15] и при все чаще встречающемся ее сочетании с различными обменными нарушениями [7, 8, 12, 13] и особенно с метаболическим синдромом (МС) [3, 4, 11, 14]. Стало ясно, что для АГ

при МС свойственен низкий уровень образования в эндотелиоцитах гемостатически активных веществ, во многом обеспечивающий высокую частоту при этом состоянии тромботических эпизодов [11, 15].

С целью получения знаний для сокращения проявлений вазопатии и минимизации риска тромбозов при АГ были проведены серьезные экспериментальные и клинические наблюдения по оценке отдельных механизмов развития дисфункций стенки сосудов и их роли в патогенезе АГ и МС [14, 15]. Вместе с тем особенности ранних изменений в сосудистом гемостазе в дебюте формирования МС нельзя считать окончательно выясненными. Невозможность до конца проследить этот процесс на человеке ввиду выпадения лиц с первыми признаками МС из поля зрения клиницистов диктует необходимость проведения экспериментальных работ на лабораторных животных

с моделированием у них МС [10]. Эти сведения способны послужить основой для клинических исследований, направленных на уточнение патогенетически оправданного момента начала коррекционных воздействий у лиц с ранними признаками МС. С учетом данных обстоятельств, в работе была сформулирована цель: рассмотреть в условиях экспериментального формирования метаболического синдрома процесс развития антиагрегационных нарушений сосудов.

Материалы и методы исследования

В исследование включена 61 крыса. Это самцы линии Вистар в возрасте 2,5–3 мес., полученные от здоровых самок первым-вторым пометом. Масса тела животных на момент взятия в исследование составляла $261,1 \pm 1,18$ г, окружность их живота $14,7 \pm 0,26$ см. До исследования все крысы не участвовали ни в каких экспериментах и не перенесли никаких заболеваний. Случайным образом все животные были разделены на 2 группы: 32 крысы были взяты в эксперимент и получали в свободном доступе в качестве питья 10% раствор фруктозы, приготовленный из кристаллической фруктозы (Новапродукт, Россия) [10], а 29 крыс составили группу контроля. Эксперимент продолжался 8 нед. Кровь у экспериментальных животных брали из хвостовой вены в исходе, через 2, 4, 6 и 8 нед. фруктозной нагрузки. Животные из группы контроля обследованы двукратно: в исходе и в возрасте 4,5–5 мес., т.е. одновременно с окончанием наблюдения за экспериментальными крысами. Ввиду отсутствия статистически значимых различий между результатами двух обследований контрольных крыс полученные данные представлены одной цифрой – их средней арифметической.

Масса тела животных определялась путем взвешивания на лабораторных весах и выражалась в граммах. Окружность живота выясняли путем измерения его охвата на уровне середины туловища, выражая в сантиметрах.

Количество в крови общего холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ) выявлялось при помощи энзиматического колориметрического способа с использованием набора производства «Витал Диагностикум». Содержание в плазме ХС липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) выясняли при помощи набора производства «Ольвекс Диагностикум» энзиматическим колориметрическим способом. Концентрацию ХС липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и ХС липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) устанавливали расчетным путем.

Выраженность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в жидкой части крови выявляли по количеству содержащихся в ней тиобарбитуровая кислота (ТБК)-активных продуктов набором «Агат-Мед» и по содержанию ацилгидроперекисей (АГП) с учетом уровня антиокислительной активности (АОА) крови [1]. В плазме обследованных животных определяли содержание эндотелина-1 радиоиммунологическим методом с помощью реактивов фирмы «DRG» (США), а также уровни тромбоксана B_2 и 6-кето-простагландина $F_{1\alpha}$ путем иммуноферментного анализа при помощи наборов фирмы «Ezra Life science» (США). В крови наблюдавшихся крыс выявлялось суммарное содержание метаболитов оксида азота [9].

Состояние антиагрегационной активности сосудистой стенки определялось в пробе с временной венозной окклюзией по ослаблению параметров агрегации тромбоцитов (АТ) путем расчета индекса степени агрегации тромбоцитов (ИСТАТ) в ходе деления степени агрегации без манжетки на степень АТ с нею и при вычислении индекса показателя АТ (ИПАТ) путем деления показателя агрегации без наложения манжетки на показатель агрегации с манжеткой. Оценка АТ велась на двухканальном лазерном анализаторе АЛАТ2-«БИОЛА» (ЛА230-2, Россия) с АДФ ($0,5 \cdot 10^{-4}$ М), коллагеном (разведение 1:2 основной суспензии), ристомицином (0,8 мг/мл.). Результаты статистически обработаны критерием (*t*) Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Исходно нормальная масса тела животных уже спустя 2 нед. эксперимента испытала тенденцию к росту, а с 4 нед. ее увеличение достигло уровня достоверности. Спустя 6 нед. употребления с питьевой водой фруктозы масса тела наблюдаемых крыс достигла $283,4 \pm 1,27$ г при величине окружности живота $16,4 \pm 0,19$ см, что свидетельствовало об увеличении у животных объема висцеральной жировой ткани. К моменту окончания эксперимента у наблюдаемых крыс выявлено дополнительное увеличение массы тела на 4,6%, окружности живота на 4,9%.

У получавших фруктозу крыс уже спустя 2 нед. отмечена тенденция к ухудшению липидного состава плазмы, а через 4 нед. она достигла уровня достоверности и в последующем прогрессивно ухудшалась до окончания эксперимента. При этом уже через 2 нед. экспериментального воздействия у крыс найдено достоверное понижение АОА плазмы и нарастание в ней АГП и ТБК-активных продуктов, продолжавшееся в течение всего срока потребления фруктозы.

Оптимальная концентрация метаболитов арахидоновой кислоты в плазме у крыс до получения фруктозы быстро повышалась на ее фоне – уже через 4 нед. эксперимента найден их дисбаланс, достигший своего максимума к 8 нед. – тромбоксан B_2 суммарно возрос на 37,3%, при понижении 6-кето-простагландина $F_{1\alpha}$ на 21,8%. Это сопровождалось у наблюдаемых крыс нарастанием уровня эндотелина-1 до $12,5 \pm 0,36$ пг/мл и понижением суммарного количества метаболитов оксида азота на 20,2%.

Уже через 4 нед. эксперимента у наблюдаемых животных значения ИСТАТ и ИПАТ во всех случаях достоверно снизились, максимально уменьшившись к концу наблюдения для коллагена на 9,7 и 10,5%, для АДФ на 18,2 и 17,2%, для ристомицина на 11,2 и 15,0% соответственно.

В настоящее время имеются достаточно полные представления об участии стенки сосудов в различных процессах, в т.ч. в развитии кардиальной патологии [2]. В современных цивилизованных странах МС является важной причиной инвалидизации и смертности [15]. В предшествующих исследованиях показано, что и высокое АД, и обменные нарушения участвуют в развитии весьма частых при МС сердечно-сосудистых осложнений [12, 14], делая изучение начальных этапов формирования вазопатии востребованным и теоретиками [6], и практиками медицины [15].

Ввиду комплексности нарушений обмена веществ при длительном избыточном поступлении фруктозы в организм и развития на этом фоне МС фруктозная модель представляется наиболее оправданной для наблюдения наиболее ранних этапов сосудистых дисфункций в условиях формирующегося МС [10].

В результате свободного доступа наблюдаемых крыс к раствору фруктозы у животных отмечено быстрое повышение массы тела за счет скопления жировой ткани в абдоминальной области. Это происходило параллельно с нарушением липидного спектра крови животных и активацией в ней ПОЛ, свойственных для МС и согласовывалось с предшествующими исследованиями [15]. Становилось ясно, что усиление ПОЛ в крови вызывало у крыс повреждение эндотелиоцитов, облегчавшее проникновение ХС в стенку сосуда, инициирующее атеросклероз и создающее условия для последующего тромбоза [2, 5].

В ходе формирующегося МС у крыс отмечено нарастание синтеза тромбоксана A_2 и эндотелина-1 при депрессии выработки антиагрегантов – простаглицина и NO. Это являлось основой снижения ограничивающего влияния сосудистой стенки на адгезию и агрегацию тромбоцитов. При этом избыточно образующийся в этих условиях на мембранах тромбоцитов плазменный тромбопластин ускоряет тромбообразование, ведет к дальнейшему росту агрегатов кровяных пластинок и ускорению образования на них волокон фибрина [5], постепенно ускоряя гемостаз.

У наблюдаемых животных можно констатировать постепенное ослабление контроля сосудов над плотностью тромбоцитарных рецепторов к коллагену Ia – IIa и VI, на что указывало понижение степени торможения АТ с коллагеном в условиях временной венозной окклюзии. Это сопровождается нарастанием активности фосфолипазы С, стимуляцией синтеза диацилглицерола и протеинкиназы С с последующим

выраженным фосфолированием протеинов сократительной системы [7]. В этих условиях инозитолтрифосфат начинает все активнее стимулировать поступление Ca^{2+} из депо кровяных пластинок, способствуя все более выраженному сокращению актомиозина. Кроме того, избыточная адгезия кровяных пластинок у наблюдаемых животных была также связана с нарастанием в эксперименте синтеза в их сосудах фактора Виллебранда и усилением его взаимодействия с рецепторами к нему (Ib) – на мембране тромбоцитов [5, 13].

АДФ, относящийся к слабым индукторам агрегации тромбоцитов, в условиях углубляющегося понижения образования в сосудах NO и PGI_2 активно взаимодействует с рецепторами их мембраны, вызывает на них все более мощную экспрессию фибриногеновых рецепторов, постепенно усиливая активацию фосфолипазы A_2 , выщепляющей арахидоновую кислоту из фосфолипидов [15] для синтеза повышенного количества тромбоксана A_2 .

Заключение

В экспериментальных условиях фруктозной нагрузки выяснено, что одновременно с нарастанием массы тела и развитием биохимических нарушений, свойственных для МС, возникает углубляющееся ослабление антиагрегационной способности сосудистого эндотелия за счет депрессии продукции в нем простаглицина, оксида азота, антитромбина-III и тканевого активатора плазминогена.

Список литературы

1. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. – Челябинск; 2000. – 167 с.
2. Кутина Н.В., Завалишина С.Ю. Механизмы функционирования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза // Вестник РУДН, серия «Экология и безопасность жизнедеятельности». – 2012. – № 1. – С. 30–37.
3. Медведев И.Н., Громнацкий Н.И. Воздействие небиволола на агрегацию тромбоцитов больных артериальной гипертензией с метаболическим синдромом // Клиническая медицина. – 2005. – Т. 83, № 3. – С. 31–33.
4. Медведев И.Н., Громнацкий Н.И. Возможности нормодипина в коррекции реологических свойств тромбоцитов у больных артериальной гипертензией с метаболическим синдромом // Терапевтический архив. – 2005. – Т. 77, № 6. – С. 65–68.
5. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г., Кутина Н.В. Методические подходы к оценке агрегации и поверхностных свойств тромбоцитов и эритроцитов // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10 (часть 1). – С. 117–120.
6. Медведев И.Н., Лапшина Е.В., Завалишина С.Ю. Активность тромбоцитарного гемостаза у детей с искривлениями позвоночника // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – № 5. – С. 579–580.

7. Медведев И.Н., Скорятин И.А. Влияние ловастатина на адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов у больных артериальной гипертензией с дислипидемией // Клиническая медицина. – 2010. – № 2. – С. 38–40.

8. Медведев И.Н., Скорятин И.А. Цитоархитектура эритроцитов и тромбоцитов у больных артериальной гипертензией с дислипидемией // Патогенез. – 2013. – Т. 11, № 2. – С. 64–67.

9. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека // Лабораторная медицина. – 2005. – № 7. – С. 19–24.

10. Решетняк М.В., Хирмаков В.Н., Зыбина Н.Н., Фролова М.В., Сакута Г.А., Кудрявцев Б.Н. Модель метаболического синдрома, вызванного кормлением фруктозой: патологические взаимосвязи обменных нарушений // Медицинский академический журнал. – 2011. – Т. 11, № 3. – С. 23–27.

11. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Мезенцева Н.И., Толмачев В.В. Антиагрегационная активность сосудистой стенки у больных артериальной гипертензией при метаболическом синдроме // Клиническая медицина. – 2007. – № 7. – С. 28–30.

12. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Носова Т.Ю. Агрегационная функция тромбоцитов у лиц с артериальной гипертензией с абдоминальным ожирением // Клиническая медицина. – 2008. – № 5. – С. 22–24.

13. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Гамолина О.В. Активность первичного гемостаза у больных артериальной гипертензией с нарушением толерантности к глюкозе на фоне применения трандолаприла // Клиническая медицина. – 2011. – № 2. – С. 29–31.

14. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Толмачев В.В. Динамика активности первичного гемостаза у больных артериальной гипертензией при метаболическом синдроме на фоне лечения кандесартаном // Клиническая медицина. – 2011. – № 3. – С. 35–38.

15. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Брюховецкий А.Г. Артериальная гипертензия и сосудистые дисфункции. – М.: Изд-во «Эко-Пресс», 2012. – 288 с.

References

1. Volchegorskij I.A., Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L., Celjlikman V. Je. Jeksperimental'noe modelirovanie i laboratornaja ocenka adaptivnyh reakcij organizma [Experimental modeling and laboratory evaluation of adaptive reactions]. Cheljabinsk, 2000. 167 p.

2. Kutafina N.V., Zavalishina S.Ju. Mehanizmy funkcionirovaniya sosudisto-trombocitarnogo gemostaza [Mechanisms of vascular-platelet hemostasis] // Vestnik RUDN, serija «Jekologija i bezopasnost' zhiznedejatel'nosti». 2012. no. 1. pp. 30–37.

3. Medvedev I.N., Gromnackij N.I. Vozdejstvie nebevolo-la na agregaciju trombocitov bol'nyh arterial'noj gipertoniej s metabolicheskim sindromom [Impact of nebevivolol on platelet aggregation hypertensive patients with metabolic syndrome] // Klinicheskaja medicina. 2005. T.83, no. 3. pp. 31–33.

4. Medvedev I.N., Gromnackij N.I. Vozmozhnosti normodipina v korrekcii reologicheskikh svojstv trombocitov u bol'nyh arterial'noj gipertoniej s metabolicheskim sindromom [Opportunities normodipin correction of rheological properties of platelets in hypertensive patients with metabolic syndrome] // Terapevticheskij arhiv. 2005. T. 77, no. 6. pp. 65–68.

5. Medvedev I.N., Zavalishina S.Ju., Krasnova E.G., Kutafina N.V. Metodicheskie podhody k ocenke agregacii i poverhnostnyh svojstv trombocitov i jeritocitov [Methodological approaches to assessing surface and aggregation properties of platelets and erythrocytes] // Fundamental'nye issledovaniya. 2014. no. 10(chast' 1). pp. 117–120.

6. Medvedev I.N., Lapshina E.V., Zavalishina S.Ju. Aktivnost' trombocitarnogo gemostaza u detej s iskrivlenijami pozvonochnika [Activity platelet hemostasis in children with spinal curvature] // Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny. 2010. no. 5. pp. 579–580.

7. Medvedev I.N., Skorjatina I.A. Vlijanie lovastatina na adgezivno-agregacionnuju funkciju trombocitov u bol'nyh arterial'noj gipertoniej s dislipidemiej [Effect of lovastatin on adhesively-aggregation platelet function in patients with arterial hypertension and dyslipidemia] // Klinicheskaja medicina. 2010. no. 2. pp. 38–40.

8. Medvedev I.N., Skorjatina I.A. Citoarhitektonika jeritocitov i trombocitov u bol'nyh arterial'noj gipertoniej s dislipidemiej [Cytoarchitectonics red blood cells and platelets in patients with arterial hypertension and dyslipidemia] // Patogenez. 2013. Vol. 11, no. 2. pp. 64–67.

9. Metel'skaja V.A., Gumanova N.G. Oksid azota: rol' v reguljacii biologicheskikh funkcij, metody opredelenija v krvi cheloveka [Nitric oxide: role in the regulation of biological functions, methods for the determination of human blood] // Laboratornaja medicina. 2005. no. 7. pp. 19–24.

10. Reshetnjak M.V., Hirmakov V.N., Zybyna N.N., Frolova M.V., Sakuta G.A., Kudrjavcev B.N. Model' metabolicheskogo sindroma, vyzvannogo kormleniem fruktozoy: patologicheskie vzaimosvjazi obmennych narushenij [Model of metabolic syndrome, caused by feeding fructose: pathologic correlation of metabolic disorders] // Medicinskij akademicheskij zhurnal. 2011. Vol. 11, no. 3. pp. 23–27.

11. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Mезенцева N.I., Tolmachev V.V. Antiagregacionnaja aktivnost' sosudistoj stenki u bol'nyh arterial'noj gipertoniej pri metabolicheskom sindrome [Antiplatelet activity of the vascular wall in hypertensive patients with metabolic syndrome] // Klinicheskaja medicina. 2007. no. 7. pp. 28–30.

12. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Nosova T.Ju. Agregacionnaja funkcija trombocitov u lic s arterial'noj gipertoniej s abdominal'nym ozhireniem [Aggregation platelet function in patients with arterial hypertension and abdominal obesity] // Klinicheskaja medicina. 2008. no. 5. pp. 22–24.

13. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Gamolina O.V. Aktivnost' pervichnogo gemostaza u bol'nyh arterial'noj gipertoniej s narusheniem tolerantnosti k gljukoze na fone primeneniya trandolaprila [Activity of primary hemostasis in hypertensive patients with impaired glucose tolerance during treatment with trandolapril] // Klinicheskaja medicina. 2011. no. 2. pp. 29–31.

14. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Tolmachev V.V. Dinamika aktivnosti pervichnogo gemostaza u bol'nyh arterial'noj gipertoniej pri metabolicheskom sindrome na fone lechenija kandesartanom [Dynamics of activity of primary hemostasis in patients with arterial hypertension and metabolic syndrome during treatment with candesartan] // Klinicheskaja medicina. 2011. no. 3. pp. 35–38.

15. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Brjuhoveckij A.G. Arterial'naja gipertonija i sosudistye disfunkcii [Arterial hypertension and vascular dysfunction]. M.: izd-vo «Jeko-Press», 2012. 288 p.

Рецензенты:

Жукова Л.А., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой эндокринологии, Курский государственный медицинский университет, г. Курск;

Громнацкий Н.И., д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней № 2, Курский государственный медицинский университет, г. Курск.

Работа поступила в редакцию 19.02.2015.