

УДК 616.12+612.397+577.115

І.М. Лучко, Ю.В. Бортник

## СПЕКТР НЕЙТРАЛЬНИХ ЛІПІДІВ ТА СИНТЕЗ ДЕЯКИХ ЕЙКОЗАНОЇДІВ У СЕРЦІ ЩУРІВ В УМОВАХ АЛІМЕНТАРНОЇ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ

Івано-Франківський національний медичний університет

**Резюме.** У статті наведені результати дослідження спектра нейтральних ліпідів та синтезу простацикліну і тромбоксану  $A_2$  у серці щурів при їх перебуванні на атерогенній дієті. Встановлено, що у тварин з аліментарною гіперхолестеринемією в міокарді та ендокарді суттєво збільшується вміст вільного холестерину. Також у міокарді значно зростає рівень триацилгліцеринів. Такі зміни ліпідного складу серця супроводжуються зрушеннями в синтезі вазоактивних простаноїдів: простацикліну і тромбоксану  $A_2$ . В ендотеліюцитях судин серцевого м'яза щурів збільшується продукція

простацикліну, що є, очевидно, компенсаторною реакцією у відповідь на підсилення утворення в тромбоцитах тромбоксану  $A_2$ . Збільшення співвідношення тромбоксану  $A_2$ /простациклін свідчить про перевагу синтезу тромбоксану  $A_2$  над синтезом простацикліну, що є ознакою зростання тромбогенного потенціалу крові в судинах серцевого м'яза і схильності коронарних артерій до вазоконстрикції.

**Ключові слова:** серце, гіперхолестеринемія, ліпіди, простациклін, тромбоксан  $A_2$ .

**Вступ.** Гіперхолестеринемія (ГХЕ) є важливим патогенетичним фактором атеросклерозу, який визначає стенозуюче пошкодження судин, в основному аорти, вінцевих, сонних і ниркових артерій. З нею пов'язано виникнення ендотеліальної дисфункції, що є одним із перших проявів початкової стадії атеросклерозу, і прогресує з поглибленням тяжкості захворювання [5, 7, 9]. Вивчення ролі ГХЕ у патогенезі ішемічної хвороби серця і в теперішній час залишається актуальним. Незважаючи на численні експериментальні та клінічні дослідження, механізми патогенного впливу підвищеного вмісту холестерину (ХС) у крові на структуру і функції кардіоміоцитів та ендотелію серця до кінця не вивчено. Зокрема, досить суперечливими є дані про вміст простацикліну (ПГ<sub>2</sub>) та тромбоксану  $A_2$  (Тх $A_2$ ) у серцевому м'язі за умов ГХЕ [7, 9].

ПГ<sub>2</sub> синтезується в ендотелії судин і проявляє вазодилататорну та антиагрегантну дію, на протилежність Тх $A_2$ , який є простагландином тромбоцитарного походження, що має виражені судинозвужувальний і проагрегантний ефекти. Ці ейкозаноїди є одними з найбільш фізіологічно активних продуктів циклооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти, від співвідношення яких у місцях їх синтезу значною мірою залежить тонус судин і агрегатний стан крові. При ГХЕ можливе накопичення в плазматичних мембранах холестерину, у результаті чого порушується співвідношення між різними класами ліпідів, що певною мірою може вплинути на вміст вільної арахідонової кислоти в клітинах та, відповідно, синтез у них ПГ<sub>2</sub> і Тх $A_2$ . У той же час, дані літератури про вплив ГХЕ на ліпідний спектр структур серця і синтез у ньому згаданих ейкозаноїдів в умовах ГХЕ є обмеженими.

**Мета дослідження.** З'ясувати вміст простацикліну та тромбоксану  $A_2$  в ендокарді та міокарді щурів у взаємозв'язку зі змінами в ліпідному спектрі цих структур за умов аліментарної гіперхолестеринемії.

**Матеріал і методи.** Дослідження проводили на 18 білих безпородних щурах-самцях масою 180-220 г, яких розподілили на дві групи: 1-а – контрольна група, 2-а – тварини, що отримували атерогенний раціон. Аліментарну ГХЕ відтворювали шляхом щоденного уведення через зонд у ротову порожнину 250 мг ХС в 1 мл свиного сала з обов'язковим додаванням жовчних кислот [11]. Щури знаходилися на атерогенній дієті протягом 60 діб.

Утримання тварин та маніпуляції на них проводили згідно з положеннями „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей” (Страсбург, 1986) та „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Евтаназію тварин здійснювали під хлороформним наркозом.

Екстрагування ліпідів із тканин ендокарда та міокарда проводилося сумішшю хлороформ-метанолу в пропорції 2:1. Елюати випарювали в атмосфері азоту і використовували для розділення методом тонкошарової хроматографії на силікагелі (фірма «Woelm»). Як стандарти використовували ВЖК, триацилгліцерини (ТАГ) («Serva», Німеччина), ХС (Reanal, Угорщина), ХС олеат («Amersham», Англія). Кількісне визначення фракцій проводили за допомогою тест-наборів «Хемапол». Вміст ВЖК визначали радіохімічним методом. Для визначення ХС у плазмі крові використовували якісну реакцію Лібермана-Бурхарда [4], суть якої полягає в тому, що холестерин, взаємодіючи з реактивом, який складається з оцтового ангідриду, оцтової і сірчаної кислоти, дає зелене забарвлення. Біосинтез простацикліну та тромбоксану  $A_2$  визначали радіоімунним методом за допомогою стандартних тест-систем Інституту ізотопів (Угорщина): «<sup>125</sup>I-tromboxane B<sub>2</sub> RIA KIT» та «<sup>125</sup>I-6-keto-prostaglandin F<sub>1α</sub> RIA KIT».

Одержані дані оброблені статистично за критерієм «t» Стьюдента. Критичний рівень значимості «р» при перевірці статистичних гіпотез у даному дослідженні приймали рівним 0,05.

Результати дослідження та їх обговорення. Нами встановлено, що в щурів, які знаходилися на атерогенній дієті протягом двох місяців, вміст загального ХС у плазмі крові збільшується в 1,8 раза ( $p < 0,001$ ), а вміст ХС ЛПВЩ зменшується в середньому на 27,4 % ( $p < 0,001$ ). Таким чином, при моделюванні ГХЕ за допомогою атерогенної дієти у тварин спостерігається зменшення холестерин-акцепторної здатності ЛПВЩ (у зв'язку зі

зменшенням їх концентрації у плазмі крові), що може бути одним із механізмів накопичення ХС у мембранах клітин крові, аорти і міокарда [5, 10].

В умовах аліментарної ГХЕ, крім збільшення загального ХС і зменшення ХС ЛПВЩ у плазмі крові, відбуваються зміни в складі нейтральних ліпідів ендотеліоцитів ендокарда та міокарда. Результати дослідження вмісту вільного та етерифікованого ХС, а також ТАГ і ВЖК у серцевому м'язі та ендотеліоцитах ендокарда тварин, які знаходилися на атерогенній дієті, наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

**Вміст різних класів нейтральних ліпідів (мкг/г сухої тканини) у серцевому м'язі та ендотеліоцитах ендокарда щурів в умовах аліментарної гіперхолестеринемії ( $M \pm m$ ,  $n=6-8$ )**

Об'єкт дослідження	Групи тварин	Класи ліпідів			
		вільний ХС	етерифікований ХС	ВЖК	ТАГ
Міокард	Контроль	41,03±0,75	15,16±0,51	2,40±0,05	14,60±0,51
	ГХЕ	46,10±1,21 $p < 0,01$	14,63±0,49 $p < 0,5$	2,33±0,09 $p < 0,5$	19,46±1,11 $p < 0,01$
Ендокард	Контроль	37,43±0,78	25,35±0,57	1,88±0,13	17,02±0,41
	ГХЕ	42,32±0,84 $p < 0,01$	24,15±0,96 $p < 0,5$	2,02±0,11 $p < 0,5$	16,45±0,62 $p < 0,5$

Аналіз даних таблиці 1 показує, що в щурів з аліментарною ГХЕ проходить достовірне збільшення в серцевому м'язі та ендокарді вмісту вільного ХС. Так, у міокарді, вміст вказаного ліпиду збільшується на 12,4 % , в ендокарді – на 13,0 %. У той же час у міокарді на 33,6 % зростає вміст ТАГ. Поряд з цим, в обох досліджуваних структурах статистично вірогідних змін рівнів етерифікованого ХС та ВЖК не спостерігається.

ХС є складовим компонентом плазматичних мембран клітин. У зв'язку з цим, можна дійти висновку, що в умовах аліментарної ГХЕ відбувається накопичення вільного ХС у мембранах клітин міокарда та ендокарда. Оскільки зміна вмісту вільного ХС в ендотеліоцитах ендокарда є аналогічною зміні його в серцевому м'язі, ми допускаємо, що накопичення ХС відбувається в плазматичних мембранах як ендотеліоцитів ендокарда, так і ендотеліоцитів капілярів міокарда.

Зміна вмісту ХС впливає на проникність клітинних мембран, агрегатний стан фосfolіпідів бішару й ензиматичну активність мембранних ферментів. Накопичення у мембранах клітин ХС призводить до їх потовщення, зниження швидкості переносу через них іонів та неелектролітних сполук, порушення транспорту води. В умовах ГХЕ збільшується холестерин-фосfolіпідний індекс люменальної частини плазмолемі ендотеліоцитів кровоносних судин та інших клітин [1, 6].

Із станом ліпідного спектра плазматичних мембран, як згадувалось вище, пов'язаний і синтез простагландинів, зокрема ППГ<sub>2</sub> та ТхА<sub>2</sub>. Зміни

вмісту цих ейкозаноїдів у серцевому м'язі, ендокарді та плазмі крові щурів, які перебували на атерогенній дієті, наведені в таблиці 2. Аналіз даних цієї таблиці показує, що в умовах ГХЕ у серцевому м'язі статистично достовірно збільшується вміст ППГ<sub>2</sub> (на 18,6 %). В ендокарді при цьому його рівень достовірно не змінюється. Поряд з цим, у міокарді значно підвищується і вміст ТхА<sub>2</sub> (на 63,1 %), індекс ТхА<sub>2</sub>/ППГ<sub>2</sub> зростає від 0,13±0,01 до 0,17±0,004. Збільшення співвідношення ТхА<sub>2</sub>/ППГ<sub>2</sub> свідчить про зростання тромбогенного потенціалу крові в судинах серцевого м'яза і схильність коронарних артерій до вазоконстрикції.

Визначення концентрації простацикліну, тромбоксану А<sub>2</sub> та співвідношення ТхА<sub>2</sub>/ППГ<sub>2</sub> у плазмі крові щурів, які знаходилися на атерогенній дієті, вказує на відсутність статистично достовірних змін згаданих показників, хоча тенденція до зростання рівнів цих простагландинів є.

Отже, за умов аліментарної ГХЕ в ендотеліоцитах судин серцевого м'яза щурів збільшується продукція ППГ<sub>2</sub>. Очевидно, зростання вмісту ППГ<sub>2</sub> у міокарді є компенсаторною реакцією у відповідь на підсилення утворення в тромбоцитах ТхА<sub>2</sub>. Збільшення співвідношення ТхА<sub>2</sub>/ППГ<sub>2</sub> при ГХЕ свідчить про перевагу синтезу ТхА<sub>2</sub> над синтезом ППГ<sub>2</sub>, що є передумовою агрегації тромбоцитів, і тоді ймовірність утворення мікротромбів у капілярах міокарда збільшується [3, 13].

Таблиця 2

**Вміст простацикліну і тромбоксану А<sub>2</sub> в серцевому м'язі, ендокарді та плазмі крові щурів в умовах аліментарної гіперхолестеринемії (M±m, n=8-10)**

Об'єкт дослідження	Групи тварин	Показники		
		простациклін	тромбоксан А <sub>2</sub>	ТхА <sub>2</sub> /ППІ <sub>2</sub>
Міокард (пг/г тканини)	Контроль	1675,00±68,64	213,75±16,36	0,13±0,01
	ГХЕ, 2 місяці	1986,25±81,06 p<0,02	339,38±17,94 p<0,001	0,17±0,004 p<0,01
Ендокард (пг/г тканини)	Контроль	1290,00±68,71	–	–
	ГХЕ, 2 місяці	1218,75±19,13 p>0,2	–	–
Плазма крові (пг/мл плазми)	Контроль	528,70±51,81	286,30±26,22	0,55±0,02
	ГХЕ, 2 місяці	619,40±49,82 p>0,2	324,67±21,31 p>0,2	0,52±0,01 p<0,2

Отримані нами дані є, певною мірою, співзвучними з результатами інших досліджень. Так, зокрема, доведений прямий кореляційний зв'язок між плазменими рівнями загального ХС і ЛПНЩ та функціональною активністю тромбоцитів, яка, як відомо, пов'язана із синтезом потужного активатора спазму дрібних судин – ТхА<sub>2</sub> [8, 12]. Слід відмітити, що поряд із порушеннями у тромбоксансинтезуючій системі тромбоцитів, в умовах експериментальної ГХЕ та при атеросклеротичному процесі в людей виявлені зміни синтезу фізіологічного антагоніста ТхА<sub>2</sub> – ППІ<sub>2</sub> у серці, аорті та брижових артеріях [2, 13].

#### Висновки

1. У щурів з аліментарною гіперхолестеринемією має місце суттєве збільшення в серцевому м'язі та ендокарді вмісту вільного холестерину. Крім того, у міокарді значно зростає рівень триацилгліцеринів.

2. Гіперхолестеринемія аліментарного походження призводить до зростання індексу тромбоксану/простацикліну у міокарді, що свідчить про перевагу синтезу тромбоксану над синтезом простацикліну і є ознакою підвищення тромбогенного потенціалу крові в судинах серцевого м'яза та схильності коронарних артерій до вазоконстрикції.

**Перспективи подальших досліджень.** Враховуючи системний характер пошкоджуючої дії одного з факторів атерогенезу – екзогенного холестерину на судини різного калібру, вважаємо доцільним подальше вивчення впливу гіперхолестеринемії на функціональний стан мікроциркуляторного русла різних органів.

#### Література

1. Вербицький В.В. Морфофункціональний стан міокарда при рецидивній коронарній недостатності та хронічній гіперхолестеринемії / В.В. Вербицький // Гал. лік. вісник. – 2004. – Т. 11, № 2. – С. 22-24.
2. Ейкозаноїди і дестабілізація ІХС / В.К. Ташук, С.Ю. Савицький, К.Г. Ташук [та ін.] // Бук. мед. вісник. – 2000. – Т. 4, № 1-2. – С. 164-167.
3. Комплексная оценка вазомоторной функции сосудистого эндотелия у больных с артериаль-

льной гипертензией / Б.И. Гельцер, С.В. Савченко, В.Н. Котельников [и др.] // Кардиология. – 2004. – № 3. – С. 24-28.

4. Кучеренко Н.Е. Липиды / Н.Е. Кучеренко, А.Н. Васильев. – К.: Вища школа, 1985. – 247 с.
5. Лунай М.И. Атеросклероз: современный взгляд на патогенез / М.И. Лунай // Укр. кардіол. ж. – 2004. – № 1. – С. 22-34.
6. Ляшенко В.П. Зв'язок між гіперхолестеринемією та морфологічними змінами в аорті та печінці / В.П. Ляшенко, В.І. Політаєва // Фізіол. ж. – 2003. – Т. 49, № 6. – С. 64-69.
7. Малая Л.Т. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы / Малая Л.Т., Корж А.Н., Балковая Л.Б. – Харьков: Торсинг, 2000. – 432 с.
8. Роль функционального состояния эндотелия и тромбоцитов в патогенезе ишемии миокарда у пациентов пожилого возраста с ишемической болезнью сердца / В.Ю. Лишнева, О.В. Коркушко, К.Г. Саркисов [и др.] // Укр. кардіол. ж. – 2001. – № 1. – С. 37-40.
9. Сравнительная оценка факторов сердечно-сосудистого риска, коронарного резерва, функции эндотелия и признаков атеросклероза при коронарном синдроме X и начальном атеросклеротическом поражении коронарных артерий / Е.Н. Амосова, В.И. Захарова, Н.Н. Макомела [и др.] // Серце і судини. – 2007. – № 1 (17). – С. 67-74.
10. Dyslipidemia and coronary heart disease / The ILIB Handbook for Clinical Practice. – 3 rd ed. – N.Y.: ILIB, 2003. – P. 242.
11. Induction d'une hypercholestérolémie chez le rat Wistar mâle résultats des bilans biochimiques et copérisation over. Les données bibliographiques / F.U. Peiler, M.T. Lonteaume, A. Alonso [et al.] // Med. et Nutr. – 1986. – № 3. – P. 167-172.
12. Ishizuka T. Thromboxane A<sub>2</sub> receptor blockade prevents atherosclerotic process by its antiinflammatory effect / T. Ishizuka // Vascular Disease Prevention. – 2006. – Vol. 3, № 2. – P. 143-148.
13. Prostacyclin, Atherothrombosis and Cardiovascular Disease / E. Arehart, S. Gleim, Z. Kasza [et al.] // Current Medicinal Chemistry. – 2007. – Vol. 14, № 20. – P. 2161-2169.

**СПЕКТР НЕЙТРАЛЬНЫХ ЛИПИДОВ И СИНТЕЗ НЕКОТОРЫХ ЕЙКОЗАНОИДОВ  
В СЕРДЦЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ АЛИМЕНТАРНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ***И.Н. Лучко, Ю.В. Бортник*

**Резюме.** В статье представлены результаты исследования спектра нейтральных липидов, а также синтеза простациклина и тромбоксана  $A_2$  в сердце крыс при их пребывании на атерогенной диете. Установлено, что у животных с алиментарной гиперхолестеринемией в миокарде и эндокарде существенно увеличивается содержание свободного холестерина. Также в миокарде значительно возрастает уровень триацилглицеринов. Такие изменения липидного состава сердца сопровождаются сдвигами в синтезе вазоактивных протаноидов: простациклина и тромбоксана  $A_2$ . В эндотелиоцитах сосудов сердечной мышцы крыс увеличивается продукция простациклина, что является, вероятно, компенсаторной реакцией в ответ на усиление образования в тромбоцитах тромбоксана  $A_2$ . Увеличение соотношения тромбоксан  $A_2$ /простациклин свидетельствует о преобладании синтеза тромбоксана  $A_2$  над синтезом простациклина, что есть признаком возрастания тромбогенного потенциала крови в сосудах сердечной мышцы и склонности коронарных артерий к вазоконстрикции.

**Ключевые слова:** сердце, гиперхолестеринемия, простациклин, тромбоксан  $A_2$ .

**NEUTRAL LIPIDS SPECTRUM AND SYNTHESIS OF SOME EICOSANOIDS IN THE HEART  
OF RATS UNDER CONDITIONS OF ALIMENTARY HYPERCHOLESTEROLEMIA***I.M. Luchko, Y.V. Bortnyk*

**Resume.** The paper presents the results of studying the spectrum of neutral lipids and the synthesis of prostacyclin and thromboxane  $A_2$  in the heart of rats kept on an atherogenic diet. It has been revealed that animals with alimentary hypercholesterolemia have a significantly increased level of free cholesterol in the myocardium and endocardium. The level of triglycerides is also significantly increased in the myocardium. Such changes of the heart lipid spectrum are accompanied with derangements in the synthesis of vasoactive prostanoids: prostacyclin and thromboxane  $A_2$ . The production of prostacyclin in the endotheliocytes of the myocardial vessels elevates that is, perhaps, a compensatory reaction in response to an enhancement of the formation of thromboxane  $A_2$  in thrombocytes. An increase of the thromboxane  $A_2$ /prostacyclin proportion is indicative of the advantage of thromboxane  $A_2$  synthesis over that of prostacyclin, the latter being a sign of a rise of the thrombogenic potential of blood in the vessels of the cardiac muscle and a predisposition of the coronary arteries to vasoconstriction.

**Key words:** heart, hypercholesterolemia, lipids, prostacyclin, thromboxane  $A_2$ .

National Medical University (Ivano-Frankivsk)

Рецензент – проф. Р.В. Сеньютович

Buk. Med. Herald. – 2011. – Vol. 15, № 4 (60). – P. 94-97

Надійшла до редакції 14.06.2011 року