

УДК [612.124.125:612.122.1] - 092.9:599.323.4

© О.В. Ганчева, Н.Ю. Самойленко, О.В. Мельникова, 2012.

ЗАВИСИМОСТЬ СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ МОНОКСИДА АЗОТА У САМЦОВ-КРЫС ЛИНИИ SHR ОТ УРОВНЯ ГЛИКЕМИИ

О.В. Ганчева, Н.Ю. Самойленко, О.В. Мельникова

Запорожский государственный медицинский университет, кафедра патофизиологии (зав. – проф. Ю.М. Колесник), г. Запорожье.

DEPENDENCE OF NITROGEN MONOXIDE SYSTEM STATE IN MALE SHR RATS FROM GLYCEMIA LEVEL

O.V. Gancheva, N.Yu. Samoilenko, O.V. Melnikova

SUMMARY

Peculiarities of nitrogen monoxide system state in SHR rats were studied experimentally. It is shown that in spontaneously hypertensive rats alterations in nitrogen monoxide system state are observed which are dependent on glycemia level. It is established that progressive alterations of carbohydrate and lipid metabolism are accompanied by increase of stable NO metabolites in blood plasma and tissues' homogenates along with the increase of NO-synthase enzyme activity.

ЗАЛЕЖНІСТЬ СТАНУ СИСТЕМИ МОНОКСИДУ АЗОТУ У САМЦІВ-ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR ВІД РІВНЯ ГЛІКЕМІЇ

О.В. Ганчева, Н.Ю. Самойленко, О.В. Мельникова

РЕЗЮМЕ

В експерименті вивчені особливості стану системи монооксиду азоту у щурів лінії SHR. Показано, що у щурів зі спонтанною гіпертензією спостерігаються зміни в системі, які залежать від рівня базальної глікемії. Встановлено, що в процесі прогресування порушень вуглеводного й жирового обміну відбувається збільшення вмісту стабільних метаболітів NO у плазмі й гомогенатах підшлункової залози із збільшенням активності ферменту NO-синтази.

Ключевые слова: монооксид азота, крысы линии SHR, гипоталамус, поджелудочная железа.

Известно, что в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний вообще и эссенциальной гипертензии, в частности, особое место занимает эндотелиальная дисфункция [7]. Одним из ведущих гуморальных эндотелиальных модуляторов дилатации является система монооксида азота [9]. За последние годы накопилось достаточно оснований полагать, что дисфункция эндотелия и дефицит эндотелиального синтеза NO, являются не только ранним маркером сосудистого поражения при артериальной гипертензии и атеросклерозе, но также вносят существенный вклад непосредственно в формирование и прогрессирование артериальной гипертензии. Депрессия синтеза эндотелиального NO, мощного вазодилатирующего и вазопротекторного агента, рассматривают как одну из основных причины развития эндотелиальной дисфункции при хронической сердечной недостаточности сочетающейся с длительно существующей гемодинамической перегрузкой проводящих артерий (высоким напряжением сдвига), гиперактивацией ренин-ангиотензин-альдостероновой, симпато-адреналовой и ряда других нейрогуморальных систем [1, 2]. Весь этот комплекс гемодинамических нарушений проявляется извращением дилатирующей реакции эндотелия на обычные стимулы, нарушением образования или блокадой действия системы монооксида азота.

Учитывая тот важный факт, что для крыс линии SHR доказано быстрое развитие дисфункции эндотелия, которая, по некоторым данным, возникает

даже раньше, чем повышение АД [5], изучение системы монооксида азота является актуальным и важным для более полного понимания патогенетической связи развития гипертензии и нарушений углеводного и жирового обменов.

Цель исследования - изучить у самцов-крыс линии SHR особенности состояния системы монооксида азота, в зависимости от уровня базальной гликемии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на 30 самцах-крыс линии SHR и 15 самцах-крыс линии Vistar. Возраст животных 10-11 месяцев. Крысы линии SHR были распределены на две экспериментальные группы по 15 животных в каждой. Критериями отбора служили исходный вес животных и уровень базальной гликемии. В 1-ю группу были отобраны крысы с нормальным уровнем базальной глюкозы и массой до 300г. Во второй группе крыс линии SHR моделировали стойкую тощаковую гипергликемию. Для этого отбирали животных с весом более 380 г и базальной концентрацией глюкозы в плазме крови более 5,5 ммоль/л. На протяжении месяца животные находились на специальном разработанном для них высококалорийном рационе при свободном доступе к воде и пище. Через месяц у животных уровень глюкозы достигал $7,5 \pm$ декапитировали под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг).

В группах животных определяли концентрацию глюкозы глюкозооксидазным методом,

концентрацию стабильных метаболитов NO нитритов в плазме крови и гомогенатах поджелудочной железы – по качественной реакции с реактивом Грисса [12]. Степень активности NO-синтазы в гомогенатах поджелудочной железы определяли флюорометрически по методике разработанной на кафедре патофизиологии ЗГМУ под руководством проф. Колесника Ю.М. [3].

Все полученные экспериментальные данные обрабатывали на персональном компьютере пакетом прикладных и статистических программ VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Германия), EXCEL из пакета MS Office 2007 (Microsoft Corp., США), пакета STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001). Для всех показателей рассчитывали значение средней арифметической выборки (M), ее дисперсии и ошибки средней (m). Для выявления достоверности различий результатов исследований в опытных и контрольных группах животных определяли коэффициент Стьюдента (St), после чего определяли вероятность различия выборок (p) и доверительный интервал средней по таблицам распределения Стьюдента. Достоверными считали значения, для которых $p_{St} < 0,05$ [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали проведенные исследования в экспериментальных группах самцов крыс со спонтанной гипертензией концентрация конечных метаболитов оксида азота (нитритов) превышала показатели крыс линии Vistar и зависела от базального уровня гликемии. Повышение концентрации глюкозы приводило к достоверному увеличению содержания нитритов как в плазме на 20 % ($p_{St} < 0,05$) и 60 % ($p_{St} < 0,05$) в первой и второй группах самцов линии SHR, соответственно, так и в гомогенатах поджелудочной железы на 22 % ($p_{St} < 0,05$) и 24 % ($p_{St} < 0,05$) (табл.1). При этом содержание нитритов в плазме у крыс с гипергликемией было на 40% ($p_{St} < 0,05$) достоверно выше, чем в группе животных линии SHR с эугликемией (см. табл.1). При изучении активности фермента NO-синтазы также была установлена ее зависимость от уровня базальной гликемии. Как видно из данных таблицы активность фермента была достоверно выше у крыс с гипертензией в 2-2,5 раза, чем у крыс линии Vistar.

Таблица 1

Показатели системы синтеза монооксида азота у самцов крыс линии SHR, в зависимости от уровня гликемии (M±m)

Серии крыс	Конц. глюкозы	Конц. нитритов		Активность NO-синтазы
	мМоль/л	Плазма, пМоль/л	Поджелудочная железа, мкМоль/г белка	Поджелудочная железа, мкМоль/г белка*мин.
Линии Vistar с эугликемией	3,95±0,12	115±5	2,71±0,17	20,67±0,97
Линии SHR с эугликемией	4,9±0,13 ¹	137±6 ¹	3,29±0,23 ¹	40,54±1,5 ¹
Линии SHR с гипергликемией	6,24±0,21 ^{1,2}	192±15 ^{1,2}	3,84±0,23 ¹	58,42±2,66 ^{1,2}

Примечания: 1. (¹) - достоверные отличия параметров ($p_{St} < 0,05$) по отношению к группе самцов линии Vistar с эугликемией; 2. (²) - достоверные отличия параметров ($p_{St} < 0,05$) по отношению к группе самцов линии SHR с эугликемией.

Таким образом, нами было установлено, что у крыс со спонтанной гипертензией наблюдаются изменения в системе монооксида азота, зависящие от уровня базальной гликемии. Оказалось, что в процессе прогрессирования нарушений углеводного обмена происходит увеличение содержания стабильных метаболитов NO в плазме и гомогенатах тканей с повышением активности фермента NO-синтазы. Установленные особенности активности фермента, по-видимому, связаны с тем, что в нашем исследовании определялась суммарная активность нескольких изоформ синтазы: конститутивной и индуцибельной. Вероятнее всего высокие цифры активности фермента, установленные нами, были обусловлены активацией индуцибельной NO-

синтазы, активность которой резко повышается при патологических процессах, связанных со стрессорными воздействиями на организм, активацией иммунной системы, дизгормональными состояниями [10].

Необходимо отметить возможное формирование «порочного круга» когда высокие концентрации NO в тканях, косвенно установленные нами по конечным метаболитам, приводят к подавлению активности эндотелиальной NO-синтазы и прямому повреждению эндотелиальных клеток за счет угнетения дыхания митохондрий и синтеза ДНК [11]. В результате продукция эндотелиального NO прогрессивно падает, что вносит дополнительный вклад в развитие дисфункции эндотелия и рост

артериального давления. В данном случае мы можем сказать, что развивающиеся нарушения углеводного обмена изменяют состояние системы монооксида азота, приводят к чрезмерной активации индуцибельной NO-синтазы, нарушая образование ее другой изоформы – эндотелиальной, повреждению клеток, вазоконстрикции и прогрессированию артериальной гипертензии [1].

ВЫВОДЫ

1. У крыс со спонтанной гипертензией, по сравнению с крысами линии Vistar наблюдаются изменения в системе монооксида азота.

2. При прогрессировании нарушений углеводного и жирового обменов у крыс линии SHR происходит увеличение содержания стабильных метаболитов NO в плазме и гомогенатах поджелудочной железы.

3. По мере накопления стабильных метаболитов оксида азота и прогрессирования нарушений углеводного и жирового обменов у крыс линии SHR активность фермента NO-синтазы возрастает.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбунов Н. В. Активация образования окиси азота, опосредованная метаболитами глутаматными рецепторами в первичных культурах клеток – зёрен мозжечка / Н. В. Горбунов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1995. – № 7. – С. 40–48.

2. Закс Л. Статистическое оценивание / Л. Закс. – М.: Статистика, 1976. – 598 с.

3. Пат. на корисну модель № 13132 України, МПК G01 N33/48. Спосіб визначення вмісту ферменту NO-синтази в гомогенатах тканин / Ю. М. Колесник, І. Ф. Беленічев, А. В. Абрамов [та ін.]. - № u200509119; заявл. 27.09.05; опубл. 15.03.06, Бюл. № 12. – 3с.

4. Donahue Susan J. Time course of changes in the norepinephrine content of tissues from spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto rats / J. Donahue Susan, E. Stitzel Robert, J. Head Richard // Pharmacol. and Exp. Ther. . – 1988. – Vol. 245, № 1. – P. 24–31.

5. Hayashi T. Nitric oxide and endothelial cellular senescence / T. Hayashi, K. Yano, H. Matsui-Hirai, H. Yokoo, Y. Hattori, A. Iguchi // Pharmacol. Ther. – 2008. – Vol. 120, № 3. – P. 333-339.

6. Li Y. Role of oxidative stress in high glucose-induced decreased expression of G α proteins and adenylyl cyclase signaling in vascular smooth muscle cells / Y. Li, M. Descorbeth, M.B. Anand-Srivastava // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2008. – Vol. 294, № 6. – P. 2845-2854.

7. Mills Elliott. Pressor mechanisms linked obligatorily to spontaneous hypertension in the rat / Mills Elliott, Bruckert Joseph W. // Hypertension. – 1988. – Vol. 11, № 5. – P. 427–432.

8. Mohan S. Diabetic eNOS knockout mice develop distinct macro- and microvascular complications / S. Mohan, R.L. Reddick, N. Musi, D.A. Horn // Lab. Invest. – 2008. – Vol. 88, №5. – P. 515-528.

9. Moien-Afshari F. Exercise restores endothelial function independently of weight loss or hyperglycaemic status in db/db mice / F. Moien-Afshari, S. Ghosh, S. Elmi, M.M. Rahman // Diabetologia. – 2008. – Vol. 51, № 7. – P. 1327-1337.

10. Nakata S. Spontaneous myocardial infarction in mice lacking all nitric oxide synthase isoforms / S. Nakata, M. Tsutsui, H. Shimokawa, O. Suda // Circulation. – 2008. – Vol. 117, № 17. – P. 2211-2223.

11. Saiz Jesus/ Hypertensinogenic factors and renal α -adrenoceptors in young SHR and WKY rats / Saiz Jesus, Lara Baldomero, Torres Andres, Sanchez Adela / Life Sci. – 1987. – Vol. 41, № 20. – P. 2261–2268.