



УДК 612.183.014.481:612.67

Е. Н. Горбань, Н. В. Сыкало, Е. В. Подьяченко

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ СОСУДИСТОЙ РЕАКТИВНОСТИ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

ГУ «Институт геронтологии им. Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины», Киев

Актуальность темы

Сосудистые изменения, развивающиеся вследствие воздействия ионизирующего излучения (ИИ), могут быть причиной нарушения функции многих органов и тканей [6]. У лиц, контактирующих с источниками ИИ, отмечено возрастание относительного риска развития острого инфаркта миокарда [3; 6; 11]. Длительное воздействие малых доз ИИ потенцирует негативное влияние традиционных факторов риска развития сердечнососудистых заболеваний [3; 6]. При этом нельзя исключить и самостоятельную роль влияния ИИ в диапазоне воздействия малых доз в этиопатогенезе сосудистой патологии.

Согласно современным представлениям, ионизирующая радиация рассматривается как фактор ускорения процессов старения [1; 3]. Вследствие действия ИИ происходит «омоложение» возрастзависимой патологии, в частности, связанной с органическими атеросклеротическими поражениями сосудов [3; 8]. В свою очередь, факторами ускоренного формирования последних выступают нарушения в регуляции артериального давления и обмена липидов и липопротеинов, выявленные, в частности,

у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС и у лиц, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях [3; 10; 11]. Вместе с тем, до настоящего времени недостаточно исследованы возрастные особенности изменений сосудистой реактивности под влиянием ИИ.

Воздействие ИИ обуславливает нарушение метаболических процессов и существенно модулирует механизмы регуляции функций, что может стать патологической основой для развития различных заболеваний. Установлено, что у лиц, длительное время контактирующих с источниками ИИ или проживающих на загрязненных радионуклидами территориях, широко распространено развитие так называемого метаболического синдрома [6; 7; 9]. Метаболический синдром считается одним из наиболее распространенных патологических состояний, особенно у лиц пожилого и старческого возраста [1; 4; 5]. Этот синдром представляет собой комплекс метаболических и гемодинамических нарушений, в основе развития которых лежит снижение чувствительности тканей к инсулину (инсулинорезистентность) [4; 5].

Существует тесная взаимосвязь между метаболическими

нарушениями и сердечнососудистыми заболеваниями [9; 12; 19]. Установлено, что регуляторные влияния симпатического отдела вегетативной нервной системы и путь L-аргина-на-NO играют главную роль в опосредовании действия инсулина на сердечно-сосудистую систему [17]. В настоящее время установлен и тот факт, что инсулинорезистентность и эндотелиальная дисфункция, в том числе продукция NO, являются тесно ассоциированными состояниями [15]. Однако четко проследить причинно-следственные взаимоотношения этих процессов пока не удастся.

В работах последних лет показано, что вероятность развития артериальной гипертензии в пожилом возрасте главным образом зависит от сохранности эндотелия и способности к NO-вазодилатации в резистивных сосудах [13; 14]. Ключевая роль в инициации повреждения эндотелия отводится оксидативному стрессу [2; 6; 8]. Показано, что ИИ активирует свободнорадикальное окисление, нарушает функциональное состояние клеточных мембран, что снижает активность NO-синтазы, нарушает баро- и хеморецепторные механизмы ауторегуляции артериального давления вследствие воспалительных или деструктивно-склеро-



тических изменений эндотелиальной выстилки сосудов [6; 8; 10; 11]. Следует отметить, что многие изменения, вызываемые ИИ, подобны тем, которые наблюдаются при старении. В то же время, недостаточно изученным остается вопрос о возрастных особенностях реактивности сосудистой стенки облученных животных на действие физиологически активных веществ.

Цель настоящей работы — изучить влияние однократного рентгеновского (R-) облучения в сублетальной дозе на реактивность сосудистой стенки взрослых и старых крыс при действии эндотелийзависимых и эндотелийнезависимых агонистов.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на взрослых (7–8 мес.) и старых (24–25 мес.) крысах-самцах линии Вистар. Изучали влияние однократного R-облучения в дозе 3 Гр (рентгенотерапевтическая установка РУМ-17; мощность дозы — 5,0 сГр/с; экспозиция — 60 с; фокусное расстояние — 45 см; фильтры — 0,5 мм Al и 1,0 мм Cu). В опыт животных брали через 1 мес. после облучения.

Животных наркотизировали эфиром, декапитировали, вскрывали грудную клетку и выделяли аорту. Сразу ее помещали в раствор Кребса, препарировали и нарезали на сегменты шириной 1,5–2 мм и массой 1,3–1,9 мг с учетом циркулярной организации гладкомышечного слоя (под углом 45°).

Исследование сократительной способности изолированных сегментов грудной аорты проводили по модифицированной методике L. Sjolín et al. [20]. Препараты помещали в проточную (перфузия с помощью перистальтического насоса НП-1М; скорость перфузии — 4 мл/мин) термостатируемую (37 °С) камеру объемом 0,6 мл, заполненную модифицированным раствором Кребса (ммоль/л):

NaCl — 133,0; KCl — 4,7; NaHCO₃ — 10,0; NaH₂PO₄ — 1,38; CaCl₂ — 2,5; MgCl₂ — 1,05; глюкоза — 7,8; pH 7,35–7,4. Сосудистые сегменты подвергали пассивному растяжению с силой 10–15 мН и выдерживали в течение 30–40 мин. Сократительную активность гладких мышц изолированных сегментов грудной аорты регистрировали в режиме, близком к изометрическому, при помощи механоэлектрического преобразователя 6МХ-1С.

В работе были использованы норадреналин (“Serva”, Германия), ацетилхолин (“Aldrich Chem. Co.”, США), нитропруссид натрия (“ICN”, США), инсулин (ЗАО «Фармацевтическая фирма “Дарница”», Украина).

Для изучения сократительной способности изолированных сегментов грудной аорты взрослых и старых крыс в буферный раствор добавляли норадреналин (НА) в концентрации 100 нмоль/л. Ацетилхолин (АХ) использовали в концентрации 1 мкмоль/л, нитропруссид натрия (НПН) — 1 мкмоль/л, инсулин — 600 мЕд/мл. Для изучения вазодилаторного действия АХ, НПН и инсулина сосудистые сегменты предварительно активировали НА (100 нмоль/л).

При исследовании вазоконстрикторных реакций расчеты изменений тонического напряжения гладких мышц изолированных сегментов грудной аорты производили в абсолютных единицах (мН), при исследовании вазодилаторных реакций — в относительных (в процентах от исходного уровня активации, принимаемого за 100 %). Статистическая обработка результатов проведена с использованием стандартных методов.

Результаты исследования и их обсуждение

Установлено, что при действии эндотелийзависимого вазодилатора АХ на активированные НА изолированные сегменты грудной аорты взрослых

крыс расслабление сосудистых препаратов практически не различалось у контрольных и облученных животных и составляло соответственно (55,63±3,53) и (53,56±3,48) % от исходного уровня активации (рис. 1). У старых облученных крыс вазодилаторная реакция на АХ была достоверно меньше по сравнению с контролем (см. рис. 1). Так, расслабление активированных НА изолированных сегментов грудной аорты старых животных контрольной группы составляло (46,01±3,24) % от исходного уровня норадреналиновой контрактуры, а у облученных — (35,47±2,31) % (P<0,05).

Таким образом, через 1 мес. после однократного R-облучения в дозе 3 Гр у взрослых крыс не наблюдается нарушений реактивности сосудистой стенки на действие АХ, а у старых облученных животных эндотелийзависимая вазодилаторная реакция на АХ существенно ослабляется.

Следует отметить, что при сравнении вазодилаторных реакций на АХ обнаруживаются достоверные возрастные различия как в контрольной группе животных, так и в груп-

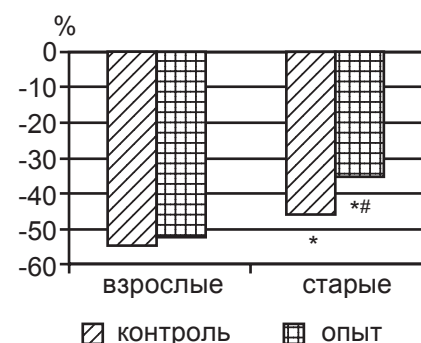


Рис. 1. Степень расслабления активированных норадреналином (100 нмоль/л) изолированных сегментов грудной аорты взрослых и старых крыс под влиянием ацетилхолина (1 мкмоль/л) через 1 мес. после однократного R-облучения (3 Гр). На рис. 1–4: # — различия между контролем и опытом достоверны при P<0,05; * — различия между взрослыми и старыми животными достоверны при P<0,05



пе облученных крыс. Так, в контроле степень расслабления сосудистых препаратов под влиянием АХ у взрослых крыс составляла $(55,63 \pm 3,53)$ % от исходного уровня активации, а у старых — $(46,01 \pm 3,24)$ % ($P < 0,05$). У облученных взрослых крыс степень снижения норадреналиновой контрактуры при действии АХ составляла $(55,56 \pm 3,48)$ %, а у старых — $(35,47 \pm 2,31)$ % ($P < 0,001$).

Таким образом, изменения сосудистой реактивности при старении и влиянии ИИ имеют однонаправленный характер и связаны с нарушением эндотелийзависимой вазодилатации.

При действии эндотелийнезависимого агониста, вазодилатирующий эффект которого также опосредован NO, — НПН — не обнаружено достоверного уменьшения расслабления сегментов грудной аорты ни у взрослых, ни у старых облученных животных (рис. 2). Более того, вазодилататорная реакция взрослых облученных крыс на НПН даже достоверно увеличивалась по сравнению с контролем. Так, при действии НПН на активированные НА изолированные сегменты грудной аорты взрослых крыс контрольной группы расслабление сосудистых препаратов составляло $(69,01 \pm 3,24)$ % от исходного уровня активации, а у облученных взрослых животных — $(77,34 \pm 2,47)$ % ($P < 0,05$). У старых крыс вазодилататорная реакция на НПН достоверно не различалась у контрольных и облученных животных и составляла соответственно $(81,26 \pm 1,99)$ и $(79,08 \pm 1,08)$ % ($P > 0,05$).

Обращает на себя внимание тот факт, что в контрольной группе животных эндотелийнезависимая вазодилататорная реакция на НПН была достоверно больше у старых крыс по сравнению со взрослыми. Так, при действии НПН расслабление изолированных сегментов грудной аорты взрослых крыс контрольной группы составля-

ло $(69,01 \pm 3,24)$ % от исходной норадреналиновой контрактуры, а старых контрольных животных — $(81,26 \pm 1,99)$ % ($P < 0,001$). В группе облученных животных не обнаружено достоверных возрастных изменений эндотелийнезависимых вазодилататорных реакций на НПН.

Следовательно, через 1 мес. после однократного R-облучения в дозе 3 Гр достоверно увеличивается эндотелийнезависимая вазодилататорная реакция на НПН у взрослых крыс, тогда как у старых животных этого не наблюдают. В то же время, в группе контрольных крыс под влиянием НПН наблюдается достоверное увеличение расслабления сосудистых препаратов старых животных по сравнению со взрослыми.

Таким образом, изменения сосудистой реактивности при старении и действии ИИ имеют сходный характер и выражаются в ослаблении эндотелийнезависимой вазодилатации к действию эндогенного NO и усилении под влиянием экзогенного NO.

Известно, что в эндотелиальных клетках есть инсулиновые рецепторы и сосудистый эндотелий является потенци-

ально важной мишенью для влияния инсулина [15]. Последний стимулирует выделение NO эндотелиальными клетками [15; 16]. Как указывалось выше, одним из проявлений влияния радиационного воздействия на организм становится развитие метаболического синдрома и инсулинорезистентности [1; 4; 5]. При инсулинорезистентности показано уменьшение инсулинопосредованной и угнетение эндотелийзависимой вазодилатации [15; 17; 19]. Однако практически не изученным остается вопрос о влиянии инсулина на реактивность сосудистой стенки взрослых и старых облученных животных.

В опытах на изолированных сегментах грудной аорты нами установлено, что реактивность сосудистой стенки взрослых облученных животных на действие инсулина достоверно повышается, тогда как у старых крыс этого не наблюдают (рис. 3). Так, при действии инсулина на активированные НА изолированные сегменты грудной аорты взрослых животных контрольной группы расслабление сосудистых препаратов составляло $(32,56 \pm 4,17)$ % от исходного уровня активации, а облученных — $(45,34 \pm 3,46)$ % ($P < 0,05$).

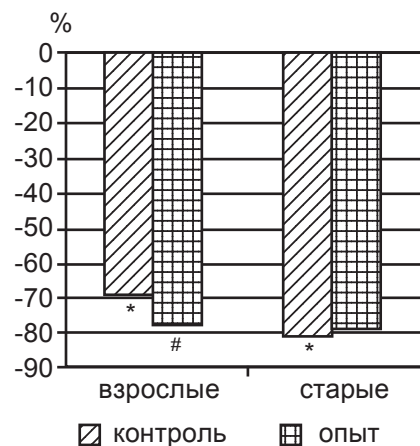


Рис. 2. Степень расслабления активированных норадреналином (100 нмоль/л) изолированных сегментов грудной аорты взрослых и старых крыс под влиянием нитропруссид натрия (1 мкмоль/л) через 1 мес. после однократного R-облучения (3 Гр)

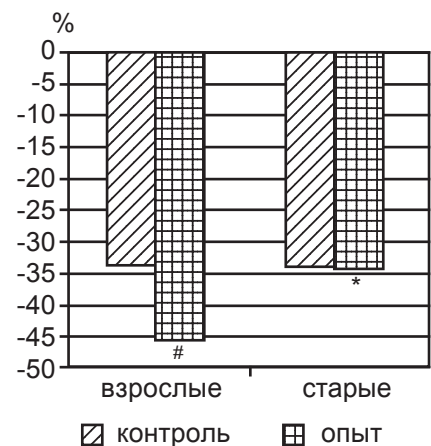


Рис. 3. Степень расслабления активированных норадреналином (100 нмоль/л) изолированных сегментов грудной аорты взрослых и старых крыс под влиянием инсулина (600 мЕД/мл) через 1 мес. после однократного R-облучения (3 Гр)

Степень расслабления изолированных сегментов грудной аорты старых крыс контрольной группы и облученных старых животных под влиянием инсулина практически не различалась и составляла соответственно $(33,89 \pm 3,30)$ и $(34,03 \pm 3,39)$ % от исходной норадреналиновой контрактуры ($P > 0,05$).

Таким образом, через 1 мес. после облучения в дозе 3 Гр наблюдается повышение реактивности сосудистой стенки взрослых облученных крыс к вазодилаторному действию инсулина. У старых животных этот феномен не выявлен.

При сравнении возрастных особенностей влияния инсулина на реактивность сосудистой стенки достоверные различия обнаруживаются в группе облученных животных. Так, расслабление изолированных сегментов грудной аорты взрослых облученных крыс на воздействие инсулина было достоверно больше по сравнению с препаратами старых животных и составляло соответственно $(45,34 \pm 3,46)$ и $(34,03 \pm 3,39)$ % от исходной норадреналиновой контрактуры ($P < 0,05$). В контроле не обнаружено достоверных различий сосудорасширяющего влияния инсулина на сосудистые препараты взрослых и старых крыс.

Таким образом, вследствие облучения животных в дозе 3 Гр у старых крыс не изменяется реактивность сосудистой стенки на действие инсулина, тогда как дилаторная реакция сосудистых препаратов взрослых облученных животных на воздействие инсулина достоверно увеличивалась по сравнению с контрольными, что может иметь компенсаторно-приспособительное значение в условиях, когда преобладающими становятся вазоконстрикторные реакции.

Гиперактивность симпатического отдела вегетативной нервной системы рассматривается как важное звено пато-

генеза многих сердечно-сосудистых заболеваний. В частности, установлено, что повышенная активность симпатoadrenalовой системы играет важную роль в развитии метаболического синдрома и инсулинорезистентности [5; 17; 19]. Однако возрастные особенности влияния повреждающих факторов, провоцирующих развитие патологии, в том числе ИИ, на реактивность сосудистой стенки при действии адреностимуляторов не привлекли еще должного внимания исследователей.

Нами установлено, что через 1 мес. после однократного R-облучения в дозе 3 Гр проявляется тенденция к уменьшению сократительной реакции изолированных сегментов грудной аорты взрослых животных на действие НА и уменьшение сократительной реакции сосудистых препаратов старых животных (рис. 4). Так, при действии НА сокращение сосудистых препаратов взрослых крыс контрольной группы составляло $(5,42 \pm 0,91)$ мН, а облученных животных — $(3,46 \pm 0,48)$ мН ($0,05 < P < 0,1$). Сила сокращения изолированных сегментов грудной аорты старых крыс контрольной группы составляла $(5,99 \pm 0,64)$ мН, а облученных

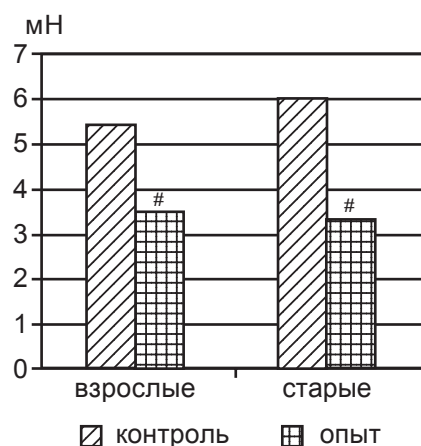


Рис. 4. Сила сокращения изолированных сегментов грудной аорты взрослых и старых крыс под влиянием норадреналина (100 мкмоль/л) через 1 мес. после однократного R-облучения (3 Гр)

— $(3,27 \pm 0,61)$ мН ($P < 0,001$). При этом как в контрольной группе, так и у облученных животных не обнаружено достоверных возрастных различий сократительных реакций сосудистых препаратов на НА.

Известно, что вазоконстрикторная реакция на НА является эндотелийнезависимой и осуществляется за счет рецепторопосредованной деполяризации плазматических мембран гладкомышечных клеток сосудов [18]. Можно предположить, что ослабление эндотелийнезависимой сократительной реакции сосудистых сегментов старых облученных животных и тенденция к ослаблению такой реакции сосудистых препаратов взрослых облученных крыс на НА по сравнению с контролем связаны с радиоиндуцированным снижением сократительной способности миоцитов сосудов.

Таким образом, через 1 мес. после R-облучения в сублетальной дозе 3 Гр наблюдается снижение реактивности гладких мышц сосудистой стенки на рецепторопосредованное вазоконстрикторное действие НА как у взрослых, так и у старых крыс. При действии эндотелийзависимых и эндотелийнезависимых вазодилаторов на сосудистые препараты взрослых и старых облученных животных обнаружены некоторые различия. Так, эндотелийзависимые дилаторные реакции сосудистых сегментов старых облученных крыс на АХ, в отличие от сосудистых препаратов взрослых облученных животных, достоверно уменьшаются по сравнению с контролем, тогда как эндотелийнезависимые вазодилаторные реакции на НПН у старых облученных крыс не только не уменьшаются по сравнению со старыми животными контрольной группы, но даже достоверно усиливаются. Повышение реактивности сосудистой стенки на действие НПН обнаруживается также на препаратах старых животных



контрольной группы по сравнению со взрослыми. Это свидетельствует о том, что при старении и действии ИИ снижается реактивность сосудистой стенки на действие эндогенного NO и повышается реактивность при влиянии экзогенного NO.

Сосудорасширяющее действие инсулина достоверно не различалось у контрольных и опытных старых животных. Дилататорная реакция сосудистых сегментов взрослых облученных крыс на инсулин была достоверно больше по сравнению с животными контрольной группы; кроме того, у взрослых облученных крыс также повышалась реактивность гладких мышц изолированных сегментов грудной аорты на НПН по сравнению с контролем, что может быть проявлением адаптационных возможностей взрослого организма. Следовательно, сосуды старых животных более чувствительны к повреждающему действию ИИ.

Выводы

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что изменения реактивности сосудистой стенки при старении и действии ИИ имеют сходный характер и, возможно, пути коррекции этих нарушений могут быть общими.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бебешко В. Г. Сучасна радіологічна ситуація в Україні: основні джерела та рівні опромінювання населення / В. Г. Бебешко, В. П. Замостьян // Журнал практичного лікаря. — 2005. — № 4. — С. 2-6.
2. Беленков Ю. Н. Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента в лечении сердечно-сосудистых заболеваний (квинаприл и эндотелиальная дисфункция) / Ю. Н. Беленков, В. Ю. Мареева, Ф. Т. Агеев. — М.: Инсайт полиграфик, 2000. — 86 с.
3. Вплив віку і дози опромінення на поширеність ішемічної хвороби серця в учасників аварійних робіт на ЧАЕС / В. О. Бузунов, П. А. Федірко, М. Ю. Антомонов [та ін.] // Український кардіологічний журнал. — 2003. — № 5. — С. 33-35.
4. Дедов И. И. Эндокринология : учебник / И. И. Дедов, В. В. Мельниченко. — М.: Медицина, 2007. — 400 с.
5. Дружинин П. В. Синдром «Х» — «Метаболический синдром» (состояние высокого риска): метод. рекомендации / П. В. Дружинин, А. Ф. Новиков, С. В. Алешин. — М.: Факультет повышения квалификации мед. работников РУДН, 2005. — 41 с.
6. Роль «малых» доз ионизирующего излучения в развитии неонкологических эффектов: гипотеза или реальность? / А. Б. Карпов, Ю. В. Семенова, Р. М. Тахауров [и др.] // Бюллетень Сибирской медицины. — 2005. — № 2. — С. 12-24.
7. Коваленко А. Н. Синдром хронической усталости и метаболический синдром Х у пострадавших вследствие Чернобыльской катастрофы — мембранная патология? / А. Н. Коваленко, К. Н. Логановский // Український медичний часопис. — 2001. — № 6 (26). — С. 224-225.
8. Островская С. С. Морфология артерий сердца и аорты крыс после комбинированного воздействия облучения, солей кадмия и свинца / С. С. Островская, В. И. Гарец, В. В. Талько // Морфология. — 2007. — Т. 1, № 1. — С. 100-105.
9. Ополонский Д. В. Структурные и функциональные изменения артериальных сосудов у больных ИБС с метаболическим синдромом / Д. В. Ополонский, Н. И. Максимов // Кардиология. — 2009. — Т. 49, № 6. — С. 10-14.
10. Поровский Я. В. Изменения микроциркуляторного русла у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС в отдаленные сроки / Я. В. Поровский // Бюллетень сибирской медицины. — 2005. — № 4. — С. 123-128.
11. Распространенность факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний у персонала предприятий атомной отрасли / Ю. В. Семенова, А. Б. Карпов, Р. М. Тахауров [и др.] // Радиационная биология. Радиозэкология. — 2008. — Т. 48, № 4. — С. 445-455.
12. Особенности поражения органов-мишеней у больных артериальной гипертонией с наличием и в отсутствие метаболического синдрома / Г. Х. Шарипова, М. А. Саидова, Т. В. Балахова [и др.] // Терапевтический архив. — 2009. — № 6. — С. 67-73.
13. Gates P. E. Human endothelial function and microvascular ageing / P. E. Gates, W. D. Strain, A. C. Shore // Exp. Physiol. — 2009. — Vol. 94, N 3. — P. 311-316.
14. Effects of ageing and hypertension on the microcirculation / M. A. James, J. Tullett, A. G. Hemsley, A. C. Shore // Hypertension. — 2006. — Vol. 47. — P. 968-974.
15. Insulin resistance and endothelial cell dysfunction: studied in mammalian models / M. T. Kearney, E. R. Duncan, M. Kahn, S. B. Wheatcroft // Exp. Physiol. — 2008. — Vol. 93, N 1. — P. 158-163.
16. Regulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene expression in endothelial cells and in vitro: a specific vascular action of insulin / K. Kuboki, Z. Y. Jiang, N. Takahara [et al.] // Circulation. — 2000. — Vol. 101, N 6. — P. 676-681.
17. Lippincott W. Insulin, nitric oxide and sympathetic nervous system: at the crossroad of metabolic and cardiovascular regulation / W. Lippincott // Hypertension. — 1999. — Vol. 17. — P. 1517-1525.
18. Morgan J. P. The cellular basis of contraction and relaxation in cardiac and vascular smooth muscle / J. P. Morgan, C. L. Perreault, K. G. Morgan // Amer. Heart J. — 1991. — Vol. 121, N 3. — P. 961-968.
19. Novak S. A confirmatory factor analysis evaluation of the coronary heart disease risk factors of metabolic syndrome with emphasis on the insulin resistance factor / S. Novak, L. M. Stapleton, J. R. Litaker // Diabetes, Obesity and Metabolism. — 2003. — Vol. 5, N 6. — P. 388-396.
20. Sjolín L. An apparatus for mechanical experiments on isolated smooth muscle / L. Sjolín, P. Hellstrand, B. Clementz // Acta Physiol. Scand. — 1978. — N 102. — P. 32A-33A.

