

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ ПРИ ВАЗОТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СВИНЦА

Е.Л. Апыхтина, к.м.н.

ГУ «Институт медицины труда АМН Украины»

На экспериментальной модели показано изменение функциональной активности сосудистой стенки при избыточном поступлении свинца в организм, которое характеризовалось нарушением вазоконстрикторной реакции и эндотелийзависимого расслабления.

Ключевые слова: свинец, аорта, эндотелиальная дисфункция, оксид азота.

On an experimental model the changes of functional activity of vascular wall were shown during excessive lead receipt in an organism. These changes were characterized by endothelial dysfunction.

Key words: lead, aorta, endothelial dysfunction, nitric oxide.

Введение. Свинец является одним из наиболее опасных загрязнителей производственной и окружающей среды [1], ему присуще токсическое действие на систему крови, нервную и сердечно-сосудистую системы. Результаты эпидемиологических, клинических и экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что длительный контакт с соединениями свинца приводит к росту артериального давления и достоверно увеличивает риск возникновения артериальной гипертензии и сердечно-сосудистой патологии [1-3]. Реализация вазотоксических эффектов свинца напрямую зависит от функционального состояния сосудистой стенки.

Цель исследования. Экспериментальная оценка изменений функциональных свойств сосудистой стенки при избыточном поступлении свинца в организм и их значение в патогенезе вазотоксического действия исследуемого металла.

Материалы и методы. Исследования проводились на крысах-самцах линии Вистар весом 160-200 г, которые содержались в стандартных условиях вивария. Животным опытной группы ежедневно на протяжении 1 месяца внутрибрюшинно вводили ацетат свинца в дозе 1,53 мг/кг. Контрольной группе животных вводили 1,0 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Исследования проводили по окончании экспозиции и через 1 месяц после прекращения введения препаратов. Животных умерщвляли под легким эфирным наркозом путем декапитации.

Исследование сократительной активности сосудистой стенки проводили на препаратах изолированных сегментов грудного отдела аорты крыс. Аорту после выделения нарезали на сегменты шириной около 2 мм под углом 45°. Изолированные сегменты аорты помещали в проточную термостатированную (36° С) камеру в стандартный раствор Кребса (NaCl - 133,0; KCl - 4,7; NaHCO₃ - 16,3; NaH₂PO₄ - 1,38; CaCl₂ - 2,5; MgCl₂ - 1,05; глюкоза - 7,8 ммоль/л; pH 7,4), где их подвергали растяжению с силой 10 мН и выдерживали в течение 30-40 мин. Сократительную активность гладких мышц (ГМ) аорты регистрировали с помощью механоэлектрического преобразователя 6 МХ1С в режиме, приближенном к изометрическому. Активацию ГМ проводили путем добавления к буферному раствору норадреналина 10⁻⁵ моль/л (НА, "Sigma", США). Эндотелийзависимые и эндотелийнезависимые реакции исследовали по изменению тонического напряжения ГМ на эндотелийзависимый агонист мускариновых рецепторов ацетилхолина гидрохлорид 10⁻⁶ моль/л ("Fluka", Швейцария) и эндотелийнезависимый вазодилататор нитропруссид натрия 10⁻⁵ моль/л ("Sigma", США). Изменение амплитуды тонического напряжения измеряли в

процентах по отношению к их сокращению при воздействии норадреналина (сокращение в ответ на НА принимали за 100%). Результаты исследования обрабатывали методом вариационной статистики с помощью стандартного пакета программ Excel с определением средних величин, их погрешностей ($M \pm m$) и показателя достоверности.

Результаты исследования и их обсуждение. При исследовании функциональной активности сосудистой стенки у крыс, экспонируемых свинцом, выявлено нарушение вазоконстрикторной реакции и эндотелийзависимого расслабления. Так, у животных данной опытной группы наблюдалась в 36,4 % случаев в первом периоде исследований и в 50% – в постэкспозиционном атипичная реакция в ответ на НА, которая проявлялась двухфазной констрикторно-дилататорной или слабой констрикторной реакцией. При этом сохранялось сокращение сосудистой стенки в ответ на воздействие гипертонического раствора КС1 и было аналогично реакции в контроле.

Нарушение реакции на норадреналин может быть связано с действием свинца на адренорецепторы сосудистой стенки либо на сами гладкомышечные клетки. Похожие результаты были получены Nowak R. et al. [4], которые свидетельствуют о снижении прессорной реакции у экспонируемых свинцом крыс в ответ на действие НА и ангиотензина II. Neydari A. et al. [5] в субхроническом и хроническом эксперименте на крысах показали рост артериального давления и нарушение сосудистой реактивности в ответ на действие вазоконстрикторных и вазодилатирующих агентов при действии свинца.

Стоит отметить, что в исследованиях вазотоксического действия других тиоловых ядов – соединений кадмия, кобальта, ртути – в эксперименте *in vivo* выявлено существенное уменьшение прессорной реакции на адреналин, а *in vitro* (на изолированных сегментах аорты кролей) наблюдалось почти полное отсутствие реакции на адреналин и ацетилхолин [1]. В случае применения унитиола и цистеина выявлено восстановление реакции сосудистой стенки на адреналин. Вероятно, в нарушении вазоконстрикторной реакции на норадреналин при действии ацетата свинца определенную роль играет тиолзависимый механизм.

Изменение эндотелийзависимой вазодилатации у крыс, экспонируемых свинцом, проявлялось уменьшением амплитуды расслабления и двухфазной дилататорно-констрикторной реакцией, с преобладанием констрикторного ответа на действие ацетилхолина. Так, в первом периоде исследований амплитуда расслабления составляла $36,5 \pm 4,6$ % от сокращения на НА, а также в 36,4 % случаев выявленная дилататорно-констрикторная реакция в ответ на действие ацетилхолина. В постэкспозиционном периоде в 33,3% случаев наблюдалось нарушение вазодилатации на АХ в виде дилататорно-констрикторной реакции и снижением амплитуды вазодилатации до $53,7 \pm 7,9\%$ от плато на НА (рисунок).

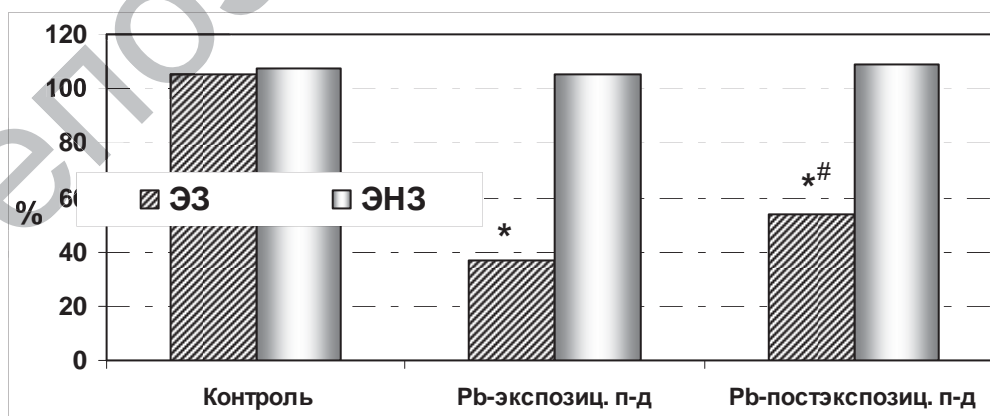


Рисунок – Эндотелийзависимое (ЭЗ) и эндотелийнезависимое (ЭНЗ) расслабление изолированных сегментов аорты крыс (в % от сокращения на норадреналин)

Примечание: *- статистически достоверные отличия от контрольной группы; # - статистически достоверные отличия между показателями экспозиционного и постэкспозиционного периода исследований; $p < 0,05$.

Вазоконстрикцию в ответ на действие ацетилхолина в данном случае можно объяснить его прямым действием на гладкомышечные М-холинорецепторы в результате нарушения NO-зависимого механизма вазодилатации. Подобные изменения наблюдаются при экспериментальном сахарном диабете, артериальной гипертензии, старении, гипоксии. Аналогичные данные представлены в работе М. Marques et al. [6], где показано снижение эндотелийзависимого расслабления изолированных сегментов аорты крыс, экспонируемых свинцом, в ответ на действие ацетилхолина, что сопровождалось снижением концентрации и активности циклооксигеназы в эндотелии.

Исследование эндотелийнезависимых реакций показало, что у крыс, экспонируемых свинцом, не наблюдалось статистически достоверных различий вазодилатационного ответа на нитропруссид натрия – амплитуда расслабления в среднем составляла $105,3 \pm 13,5$ % после 28 введений ацетата свинца и $108,8 \pm 8,5$ % в постэкспозиционном периоде.

Результаты предыдущих исследований [7, 8] свидетельствуют, что свинец способен в значительной мере накапливаться в стенке аорты, что приводит к существенному повышению генерации активных форм кислорода, нарушению обмена оксида азота в организме опытных животных. Изменения в системе оксида азота при воздействии металла характеризовались изменением активности изоформ NO-синтазы (повышение активности индуцибельной и снижение конститутивной, от которой, главным образом, зависит регуляция сосудистого тонуса и артериального давления), а также изменением соотношения основных форм стабильных метаболитов NO (нитрит- и нитрат-аниона, высоко- и низкомолекулярных нитрозотиолов) и роста их суммарной концентрации, что свидетельствует о повышенной продукции оксида азота. В аорте крыс при действии ацетата свинца депонирование оксида азота происходило в основном в виде высокомолекулярных нитрозотиолов, что свидетельствует об активации процессов нитрозилирования SH-групп белков и может привести к изменению или нарушению их функциональной активности.

Повышение активности индуцибельной изоформы NO-синтазы является одной из основных причин патологических изменений в системе оксида азота, вызывает гиперпродукцию NO, а также может быть источником АФК, что в результате приводит к значительному образованию пероксинитрита, способствует возникновению относительного дефицита оксида азота, вследствие чего развивается эндотелиальная дисфункция. Индукция генов, которые кодируют iNOS, может происходить в результате активации фактора транскрипции NFκB. Важную роль в активации данного фактора играют свободные радикалы, кальций, цитокины, интерлейкины и др., поскольку свинец обладает цито- и иммунотоксическим действием. G.T. Ramesh et al. [9] на культуре клеток было показано, что аппликация свинца вызывала активацию транскрипторных факторов, связанных с окислительным стрессом, включая ядерный фактор NF-κB. Поэтому, провоспалительные факторы и АФК могут быть одной из причин активации индуцибельной изоформы NO-синтазы.

Таким образом, повышение продукции NO является важным звеном патогенеза вазотоксического действия свинца, поскольку на фоне развития оксидативного стресса складываются все предпосылки к продукции в значительном количестве пероксинитрита и реализации его цитотоксического действия. При этом высокие концентрации супероксид-аниона способны связывать NO (даже в условиях повышенного его синтеза) и блокировать его биологические эффекты. Следствие этого – возникновение относительного дефицита оксида азота и развитие эндотелиальной дисфункции.

Выводы. 1. Изменения функциональной активности сосудистой стенки аорты крыс, экспонируемых свинцом, характеризовались нарушением сократительной реакции и эндотелийзависимого расслабления. Имеющиеся нарушения эндотелийзависимых реакций у экспериментальных животных свидетельствуют об имеющейся выраженной эндотелиальной дисфункции.

2. Значительную роль в дисфункции сосудистой стенки при воздействии свинца играет повышенная продукция АФК и пероксинитрита, нарушение обмена оксида азота и возникновение его относительного дефицита.

3. Отмеченные изменения свидетельствуют о вазотоксическом действии свинца, они играют ведущую роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, таких как гипертоническая болезнь, атеросклероз, патология периферических сосудов.

Литература

1. Трахтенберг И.М. Химические факторы производственной среды и сердечно-сосудистая система / И.М. Трахтенберг, Э.А. Бабаян. – Ереван: Айастан, 1992. – 276 с.
2. Ахметзянова Э.Х., Бакиров А.Б. Роль свинца в формировании артериальной гипертензии (обзор литературы) // Медицина труда и промышленная экология. – 2006. – №5. – С. 17-21.
3. Navas-Acien A., Guallar E., Silbergeld E.K., Rothenberg S.J. Lead exposure and cardiovascular disease – a systematic review // Environ Health Perspect. – 2007. – Vol. 115 (3). – P. 472-482.
4. Nowack R., Wiecek A., Exner B. Chronic lead exposure in rats: effects on blood pressure // Eur. J. Clin. Invest. – 1993. – Vol. 23 (7). – P. 433-443.
5. Heidari A., Norouzzadeh A., Khoshbaten A. et al. Effects of short-term and subchronic lead poisoning on nitric oxide metabolites and vascular responsiveness in rat // Toxicol. Lett. – 2006. – Vol. 166 (1). – P. 88-94.
6. Courtois E., Marques M., Barrientos A. et al. Lead-induced downregulation of soluble guanylate cyclase in isolated rat aortic segments mediated by reactive oxygen species and cyclooxygenase-2 // J. Am. Soc. Nephrol. – 2003. – Vol. 14 (6). – P. 1464-1470
7. Апыхтина Е.Л., Коцюруба А.В., Дмитруха Н.Н. и др. Перспективы применения препарата Глутаргин при свинцовой интоксикации // Материалы междунар. научн. конф. „Лекарственные средства и биологически активные соединения”. – Гродно, 2007. – С. 4-6.
8. Ramesh G.T., Manna S.K., Aggarwal B.B., Jadhav A.L. Lead activates nuclear transcription factor-kappaB, activator protein-1, and aminoterminal c-Jun Kinase in pheochromocytoma cells // Toxicol. Appl. Pharmacol., 1999. – Vol.155. – P. 280-286.