

endocervicosis histologically. Control Group included 10 young nulliparous women with no pathological changes in their exocervix. *Immunohistochemistry* in cervical *biopsy* specimens defining estrogen (ER) and progesterone (PR) receptors in cervical epithelium and cervical stroma was made.

#### Investigation Results and Their Discussion.

Positive intranuclear receptor expression to estragon ER (>10%) was observed in 100.0% of all members of Control Group, and the marker was found in epithelial cells of non-keratinized stratified squamous epithelium. Positive expression PgR (>10%) was found only

in stromal component of cervix uteri.

**Conclusions.** Thus, in the course of the investigation the positive expression of estragon and progesterone receptors were found in practically all samples of cervix uteri of the women in the control group. Estragon receptors are characterized by epithelial localization, while progesterone receptors by stromal one.

**Keywords:** *endocervicosis, nulliparous women, expression of progesterone and estrogen receptors.*

Надійшла 01.02.2016 року.

УДК 612.176+611.018.74+616.126+615.03+612.397

Лучко І.М., Воронич-Семченко Н.М., Шляховенко О.О., Тучак О.І., Гураніч Т.В.

### Стан ендотелію ендокарду щурів при емоційно-більшовому стресі, ускладненому гіперхолестеринемією, та за умов фармакологічної корекції

Кафедра фізіології (зав. кафедри – д.м.н., професор Н.М. Воронич-Семченко)

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

fisiology@ifnmu.edu.ua

**Резюме.** Метою роботи було вивчення стану ендотелію ендокарду лівого шлуночка щурів (за кількістю злущених клітин та вільних жирних кислот) при емоційно-більшовому стресі, ускладненому гіперхолестеринемією, та за умов фармакологічної корекції. Для відтворення стресу використовувалася електроімпульсна модель. Аліментарну гіперхолестеринемію моделювали, утримуючи тварин на атерогенній дієті. З метою корекції тваринам вводили наступні фармакологічні препарати: β-адреноблокатор пропранолол, α-адреноблокатор фентоламін, блокатор Ca<sup>2+</sup>-каналів фіноптин, антиоксидант простенон та блокатор циклооксигеназ індометацин. Стан ендотелію ендокарду вивчали за допомогою світлооптичної мікроскопії, аналізуючи мазки-відбитки з макропрепаратів шлуночків. Вміст вільних жирних кислот визначали радіохімічним методом. Показано, що найбільш вираженою цитопротекторною дією по відношенню до ендотелію ендокарду при емоційно-більшовому стресі володіють пропранолол та фіноптин, і, у значно меншій мірі, такий ефект виявляють фентоламін та простенон. Гіперхолестеринемія при стресі суттєво обмежує захисну дію згаданих препаратів. Отримані результати та їх аналіз дозволяють заключити, що в патогенезі структурних і окремих біохімічних змін ендотеліоцитів ендокарду та розвитку ендотеліальної дисфункції в умовах емоційного стресу, а також при його поєднанні з гіперхолестеринемією важливою ланкою є токсична дія катехоламінів, які впливають на функціональні системи організму переважно через β-адренорецептори (з участю іонів Ca<sup>2+</sup>), у меншій мірі - через α-адренорецептори.

**Ключові слова:** *ендотелій ендокарду, стрес, гіперхолестеринемія, фармакологічна корекція.*

#### Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Згідно з даними сучасної експериментальної та клінічної медицини ключовою ланкою в ініціації, прогресуванні та клінічних проявах більшості захворювань серцево-судинної системи є ендотеліальна дисфункція [3, 7, 11]. В переліку основних етіологічних факторів, які мають виражений пошкоджуючий вплив на ендотелій серця і судин, одними з найважливіших є стресові впливи і підвищення у крові рівня вільного холестерину [1, 2, 3, 4].

Експериментально доведеним є той факт, що пошкоджувальна дія будь-якого стресового фактора на серце супроводжується активацією ліполізу, підвищенням вмісту вільних жирних кислот (ВЖК), а також внутрішньоклітинним накопиченням дволанцюгових форм жирних кислот та ацетилювання А [1, 7]. Властивим для ВЖК є потенціювання

при стрес-реакціях пошкоджуючої дії катехоламінів на серце: збільшення потреби міокарда в кисні, зниження рівнів аденозинтрифосфату та креатинфосфату в серцевому м'язі, сприяння накопиченню тромбоцитів у мікроциркуляторному руслі міокарда. Раніше нами встановлено, що дія емоційно-більшового стресу супроводжується ураженням ендотеліоцитів ендокарду з відшаруванням частинок їх цитоплазми, а також злущенням цілих окремих клітин [6]. Однак, основні патогенетичні ланки та структури, з якими пов'язані ці порушення при стресі та його поєднанні з гіперхолестеринемією залишаються маловивченими.

**Мета дослідження.** Вивчити вплив α- і β-адреноблокаторів, блокаторів Ca<sup>2+</sup>-каналів і циклооксигеназ та антиоксидантів на стан ендотелію ендокарду (за вмістом у ньому ВЖК і кількістю відшарованих клітин) в умовах дії емоційно-більшового стресу (ЕБС) та його поєднанні з гіперхолестеринемією (ГХЕ).

#### Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводилися на 78 безпородних білих щурасамця масою 180-240 г, які перебували в звичайних умовах віварію. Утримання тварин та маніпуляції на них проводилися згідно положень „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). Евтаназія тварин здійснювалася під хлороформним наркозом. Тварини були розподілені на 3 групи: 1-ша – контрольна група, 2-га – тварини, які піддавалися трьохгодинній дії стресора, 3-тя – тварини, що зазнавали стресового впливу на фоні ГХЕ. У 2-ій та 3-ій групах виділялися підгрупи тварин, яким перед впливом стресора вводили препарати: фентоламін, як α-адреноблокатор (порошок по 0,025 г, виробництва „Здоров'я”, Україна) та пропранолол, як β-адреноблокатор (0,1 % розчин в ампулах по 1 мл, виробництва „Здоров'я”, Україна) одноразово внутрішньовенно в дозі по 0,5 мг/кг перед початком стресового впливу; індометацин - блокатор циклооксигеназ (порошок по 0,025 г, виробництва „Здоров'я”, Україна) вводили за допомогою зонду в шлунок за 90 хв до початку дії ЕБС із розрахунку 10 мг/кг; фіноптин - блокатор Ca<sup>2+</sup>-каналів (0,25 % розчин в ампулах по 2 мл, виробництва „ORION”, США) - у дозуванні 2,5 мг/кг внутрішньом'язово за 30 хв до стрес-реакції; простенон (0,1 % розчин в ампулах по 1 мл, виробництва „Здоров'я”, Україна (0,8 мг/кг) внутрішньом'язово за 15 хв перед дією стресора, як

**Таблиця 1. Кількість злущених ендотеліоцитів (кл/мм<sup>2</sup>) у мазках-відбитках з ендокарду лівого шлуночка тварин при ЕБС, ЕБС, ускладненому ГХЕ, та за умов корекції фіноптином, фентоламіном, пропранололом, індометацином і простеноном (M± m, n=6)**

Групи тварин та фармакологічні препарати	Умови експерименту		
	інтактні тварини	ЕБС, 3 год	ЕБС (3 год) + ГХЕ
1-ша - контрольна	24±1,7	108±4,9*	156±8,2*
Корекція:			
2-га – фіноптином	-	55±3,2* p <sub>1-2</sub> <0,001	114±6,7* p <sub>1-2</sub> <0,001
3-тя - фентоламіном	-	90±3,3* p <sub>1-3</sub> <0,02	131±5,8* p <sub>1-3</sub> <0,05
4-та - пропранололом	-	39±3,5* p <sub>1-4</sub> <0,001	75±5,1* p <sub>1-4</sub> <0,001
5-та - індометацином	-	144±6,3* p <sub>1-5</sub> <0,001	234±6,5* p <sub>1-5</sub> <0,001
6-та - простеноном	-	95±3,9* p <sub>1-6</sub> <0,5	137±5,8* p <sub>1-6</sub> <0,1

Примітка. \* - достовірно у порівнянні з інтактними тваринами

антиоксидант, який є фармакологічним аналогом простагландину E<sub>2</sub>.

Для відтворення ЕБС використовувалася електро-імпульсна модель [9]. Аліментарну ГХЕ у щурів відтворювали за методикою F.U. Peiler [11]. Тривалість стресового впливу становила 3 години, на атерогенній дієті тварини знаходилися протягом 2 місяців.

Для дослідження стану ендотелію ендокарду готували мазки-відбитки з макропрепаратів лівого шлуночка щурів, прикладаючи їх до предметних скелець, які фарбували за методом Романовського. Ступінь пошкодження ендотелію ендокарду визначали за кількістю злущених клітин на 1 мм<sup>2</sup> площі відбитку, що відповідає 40 полям зору (ок. ×7; об. ×90). Вміст ВЖК визначали радіохімічним методом [10]. Одержані дані оброблені статистично за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 7.0.

### Результати дослідження та їх обговорення

Отримані результати свідчать, що найбільш виражену цитопротекторну дію у відношенні до ендотелію ендокарду лівого шлуночка щурів проявляють пропранолол та фіноптин, які при емоційно-больовому стресі зменшують десквамацію ендотеліоцитів відповідно на 63,9% і 40,1% (p<0,001) (табл.1). У меншій мірі (на 16,7%, (p<0,02) обмеження пошкодження ендотелію відбувається під впливом фентоламіну, тоді як використання простенону проявляється незначним позитивним ефектом, а введення перед початком дії стресора індометацину, навпаки, супроводжується підсиленням (на 33,3%, (p<0,001) десквамації ендотеліальних клітин.

При стресі, ускладненому ГХЕ, у дії застосованих препаратів зберігається попередня тенденція, але їх фармакологічний ефект є менше вираженим. Так, в цих умовах є слабкішою цитопротекторна дія пропранололу і фіноптину. Під їх впливом ступінь пошкодження ендотелію ендокарду знижується (відповідно на 51,9% і 26,9%, (p<0,001) але у меншій мірі, ніж у попередньому випадку. Введення фентоламіну сприяє обмеженню пошкодження на 16,1% (p<0,05). Як і в попередньому випадку, незначний позитивний ефект спостерігається при використанні простенону, а введення індометацину призводить до підсилення десквамації ендотеліоцитів на 50% (p<0,001).

Таким чином, ГХЕ при емоційно-больовому стресі у значній мірі обмежує захисну дію пропранололу і фіноптину та практично не змінює вплив фентоламіну. В одному і другому випадку є малоефективним застосування простенону. При використанні індометацину в умовах емоційно-больового стресу на фоні ГХЕ ще більше підсилюється десквамація ендотеліоцитів ендокарду.

Аналіз даних таблиці 2 показує, що найбільш виражений вплив на вміст ВЖК у ендокарді при стресі мають фіноптин

**Таблиця 2. Вплив ЕБС і ЕБС, ускладненого ГХЕ на вміст ВЖК (мкг/г сухої тканини) в ендокарді щурів за умов використання: фіноптину, фентоламіну, пропранололу, індометацину і простенону (M± m, n=6)**

Групи тварин та фармакологічні середники	Умови експерименту		
	інтактні тварини	ЕБС, 3 год	ЕБС (3 год) + ГХЕ
1-ша - контрольна	1,88±0,13	2,63±0,08	3,03±0,14
Корекція:			
2-га – фіноптином	-	2,08±0,10 p <sub>1-2</sub> <0,01	2,25±0,20 p <sub>1-2</sub> <0,05
3-тя – фентоламіном	-	2,30±0,13 p <sub>1-3</sub> <0,1	2,70±0,17 p <sub>1-3</sub> >0,2
4-та – пропранололом	-	2,03±0,15 p <sub>1-4</sub> <0,01	2,38±0,10 p <sub>1-4</sub> <0,02
5-та – індометацином	-	2,53±0,17 p <sub>1-5</sub> >0,5	3,20±0,11 p <sub>1-5</sub> >0,2
6-та - простеноном	-	2,35±0,16 p <sub>1-6</sub> >0,1	2,65±0,08 p <sub>1-6</sub> <0,1

та пропранолол. На тлі їхньої дії досліджуваний показник знижується відповідно на 20,9% (p<0,01) і 22,8% (p<0,01). Дія фентоламіну не супроводжується статистично достовірним обмеженням зростання концентрації ВЖК, хоча така тенденція спостерігається. Блокування синтезу простагландинів індометацином не впливає на вміст ВЖК в ендокарді.

Як і при „чистому” стресовому впливі, в умовах поєднаної дії ЕБС і ГХЕ найефективнішими є фіноптин та пропранолол. Під впливом фіноптину вміст ВЖК у ендокарді знижується на 25,7% (p<0,05). Пропранолол за цих умов пригнічує утворення ВЖК на 21,5% (p<0,02). Застосування фентоламіну і простенону призводить до незначного зниження досліджуваного показника. Введення перед стрес-реакцією тваринам, які знаходилися на атерогенній дієті, індометацину не супроводжується достовірними кількісними змінами ВЖК в ендокарді.

Аналізуючи вищесказане, можна заключити, що ураження ендотеліоцитів ендокарду при ЕБС реалізується, у першу чергу, через вплив катехоламінів на α- і β-адренорецептори (у більшій мірі на β-адренорецептори) за участю іонів Ca<sup>2+</sup>, що є співнапрямленими із даними інших авторів [3, 5, 4, 12]. Зростання кількості ВЖК у клітинах обумовлене, ймовірно, підвищенням активності холестеринестераз і триацилгліцеринліпаз. Збільшення синтезу простагландинів при емоційному стресі (зокрема простагландину) [3, 8] носить, очевидно, компенсаторний характер і обмежує пошкоджуючий вплив стресора на ендотелій.

### Висновки

1. У патогенезі структурних і окремих біохімічних (за вмістом ВЖК) змін ендотеліоцитів ендокарду та розвитку ендотеліальної дисфункції в умовах ЕБС та його поєднання з ГХЕ важливою ланкою є токсична дія катехоламінів, які впливають на функціональні системи організму переважно через β-адренорецептори, у меншій мірі через α-адренорецептори. У патогенетичний ланцюг ушкодження ендотелію включаються також процеси перекисного окиснення ліпідів, тоді як простагландини відіграють захисну роль, оскільки блокада їх синтезу поглиблює структурно-функціональні зміни ендотеліоцитів.

2. ГХЕ аліментарного походження потенціює пошкоджуючу дію стресу на ендотелій ендокарду, що супроводжується різким збільшенням кількості злущених клітин та збільшенням вмісту ВЖК, а також, з іншого боку, обмежує протекторний вплив деяких фармакологічних препаратів.

### Перспективи подальших досліджень

На даний час доведеним можна вважати той факт, що

зміни в організмі, які виникають у відповідь на вплив стресових факторів та гіперхолестеринемії носять системний характер. Тому вважаємо доцільним подальше вивчення впливу згаданих чинників на структурно-функціональний стан ендотелію судин різного калібру, у тому числі і мікроциркуляторного русла.

### Література

1. Барабой В.А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы. – Киев: Фитосоциоцентр, 2006. – 424 с.
2. Братусь В. В. Атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, острый коронарный синдром : патогенез, диагностика, клиника, лечение / В. В. Братусь, В. А. Шумаков, Т. В. Талаева – К. : Четверта хвиля, 2004. – 575 с.
3. Возна Х. І. Ендотелій: функціональні властивості та його дисфункція (огляд літератури з матеріалами власних досліджень) / Х.І. Возна, В.Д. Москалюк, В.Д. Сорохан // Клінічна та експериментальна патологія. – 2015. – Том XIV, №1 (51). – С. 209–214.
4. Льенко М. Диференційна роль стресів у виникненні хворобливих синдромів / М. Льенко // Освіта регіону. Політологія. Психологія. Комунікації. -Київ: Україна, 2011, № 1.-С.272-276.
5. Лазебник Л. Б. Применение I-адреноблокаторов в лечении артериальной гипертонии у больных старших возрастных групп на фоне ишемической болезни сердца / Л. Б. Лазебник, И. А. Комиссаренко // Кардиология. – 2004. – № 4. – С. 106–112.
6. Левицький В. А. Біохімічні та морфологічні прояви ендотеліальної дисфункції ендокарда і судин міокарда при емоційно-больовому стресі у поєднанні з гіперхолестеринемією / В. А. Левицький, І. М. Лучко // Фізіол. журнал. – 2008 – Т. 54, № 5. – С. 75–80.
7. Малая Л. Т. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы / Л. Т. Малая, А. Н. Корж, Л. Б. Балковая. – Харьков : Торсинг, 2000. – 432 с.
8. Слободян К. В. Оцінка порушення функції нирок у статевонезрілих щурів із сулемовою нефропатією при сольовому навантаженні за умов блокади ниркових простагландинів індометацином / К. В. Слободян // Вісник наукових досліджень. - 2014. - № 1. - С. 102-105.
9. Desiderato O. Development of gastric ulcers in rats following stress termination / O. Desiderato, J. R. Mac Kinnon, H. J. Hissom // J. Comp. Physiol. Psychol. – 1974. – Vol. 87. – P. 208–214.
10. Hanina B. Improved <sup>63</sup>N Radiochemical assay of free fatty acids in plasma / B. Hanina, A. Shoshana // Clin. Chem. – 1987. – Vol. 37, № 1. – P. 176–179.
11. Induction d'une hypercholesterolemie chez le rat Wister male resultans des bilans biochemiques et copereison over. Les donnes bibliographiques / F. U. Peiler, M. T. Lonteaume, A. Alonso [et al.] // Med. et Nutr. – 1986. – № 3. – P. 167–172.
12. Laviola M. Randomized Study of Phentolamine Mesylate for Reversal of Local Anesthesia / M. Laviola, S. K. McGavin, G. A. Freer, G. Plancich, S. C. Woodbury, S. Marinkovich, R. Morrison, A. Reader, R. B. Rutherford, J. A. Yagiela // Journal of Dental Research - J DENT RES. – 2008. –vol. 87, №7. – P. 635-639.

Лучко І.Н., Воронич-Семченко Н.Н., Шляховенко А.А., Тучак О.І., Гураніч Т.В.

**Состояние эндотелия эндокарда крыс при эмоционально-болевым стрессе, осложненном гиперхолестеринемией, и в условиях фармакологической коррекции**

Кафедра физиологии (зав. каф. - д.м.н., проф. Н.М. Воронич-Семченко)

ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет»

physiology@ifnmu.edu.ua

**Резюме.** Целью работы было изучение состояния эндотелия эндокарда левого желудочка крыс (по количеству слущенных клеток и свободных жирных кислот) при эмоционально-болевым

стрессе, осложненном гиперхолестеринемией, и в условиях фармакологической коррекции. Для воспроизведения стресса использовалась электро-импульсная модель. Алиментарную гиперхолестеринемию моделировали путем содержания животных на атерогенной диете. С целью коррекции животным вводили следующие фармакологические препараты: β-адреноблокатор пропранолол, α-адреноблокатор фентоламин, блокатор Ca<sup>2+</sup>-каналов финоптин, антиоксидант простенон и блокатор циклооксигеназы индометацин. Состояние эндотелия эндокарда изучали с помощью световой микроскопии, анализируя мазки-отпечатки с макропрепаратов желудочков. Содержание свободных жирных кислот определяли радиохимическим методом. Показано, что наиболее выраженным цитопротекторным действием по отношению к эндотелию эндокарда при эмоционально-болевым стрессе обладают пропранолол и финоптин, и, в значительно меньшей степени, такой эффект оказывают фентоламин и простенон. Гиперхолестеринемия при стрессе существенно ограничивает защитное действие упомянутых препаратов. Полученные результаты и их анализ позволяют заключить, что в патогенезе структурных и отдельных биохимических изменений эндотелиоцитов эндокарда и развития эндотелиальной дисфункции в условиях эмоционального стресса, а также при его сочетании с гиперхолестеринемией важным звеном является токсическое действие катехоламинов, которые влияют на функциональные системы организма преимущественно через β-адренорецепторы (с участием ионов Ca<sup>2+</sup>), в меньшей степени - через α-адренорецепторы.

**Ключевые слова:** эндотелий эндокарда, стресс, гиперхолестеринемия, фармакологическая коррекция.

I.M. Luchko, N.M. Voronych-Semchenko, O.O. Shliakhovenko, O.I. Tuchak, T.V. Huranych

**The State of Endothelium of Endocardium in Rats at the Emotional Painful Stress Complicated by Hypercholesterolemia at the Conditions of Pharmacological Correction**

Department of Physiology (Head of department – MD, Professor N.M. Voronych-Semchenko)

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

physiology@ifnmu.edu.ua

**Abstract.** The state of the endothelium of left ventricle's endocardium of rats (by quantity of desquamated cells and acids) at the emotional painful stress complicated by hypercholesterolemia at the conditions of pharmacological correction was the aim of the article. For the modeling of stress electrical impulse model was used. The keeping of animals at the atherogenic diet was for modeling of alimentary hypercholesterolemia. The ?-adrenoblocker propranolol, ?-adrenoblocker phentolamine, blocker of Ca<sup>2+</sup> channels finoptyn, antioxidant prostenon and blocker of cyclooxygenase indomethacin were injected to animals with the aim of correction. The endocardium's endothelium state was studied using light-optical microscopy. The impression smears from macroslides ventricle were analyzed. The content of free fatty acids was detected by radiochemical method. The propranolol and finoptyn have the most cytoprotective effect on the endothelium of endocardium at the emotional painful stress. The phentolamine and prostenon have less effect. The hypercholesterolemia at the stress significantly limits the protective effect of these drugs. The toxic effect of catecholamines which affects the functional systems of the body mainly through ?-adrenergic receptors (with participation of Ca<sup>2+</sup>) but less through ±-adrenergic receptors is an important chain of the pathogenesis of structural and some biochemical changes of endocardium's endothelium and development of endothelial dysfunction at the conditions of the emotional stress and it is combined with hypercholesterolemia.

**Keywords:** endothelium of endocardium, stress, hypercholesterolemia, pharmacological correction.

Надійшла 21.12.2015 року.