

## **ВПЛИВ АЛОКСАНОВОГО ДІАБЕТУ НА ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ АРТЕРІАЛЬНИХ І ВЕНОЗНИХ СУДИН КРОЛІВ**

©Ю.О. Атаман

Сумський державний університет

**РЕЗЮМЕ.** У досліджах на кролях показано, що через 14 діб після одноразового введення алоксану (100 мг/кг) зменшується поглинання глюкози і кисню, збільшується утворення молочної кислоти і пригнічується ресинтез АТФ в ізольованих стрічках грудної і черевної аорти, легеневої артерії, задньої порожнистої вени в умовах 3-годинної інкубації препаратів у розчині Кребса з глюкозою (10 ммоль/л).  
**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** артерії, вени, алоксан, цукровий діабет, енергетичний обмін.

**Вступ.** Ураження кровоносних судин є основною причиною смертності та інвалідності хворих на цукровий діабет, а тому питання патогенезу діабетичних макроангіопатій посідають одне з центральних місць у вивченні цієї недуги.

До останнього часу вважали, що основну небезпеку для хворих на цукровий діабет несуть атеросклеротичні ураження артеріальних судин, в основі яких – інфільтративно-проліферативні процеси, що ведуть до формування атеросклеротичних бляшок і, як наслідок, до зменшення просвіту артерій і тромбоутворення. Другий, не менш поширений варіант діабетичних уражень судин – артеріосклероз Менкеберга, – хоча й був описаний у 1903 році (на рік раніше від введення в обіг Маршаном терміну “атеросклероз”), тривалий час перебував у тіні, оскільки вважали, що основні зміни, характерні для менкебергівського типу уражень – некроз і кальцифікація середнього шару (медії) артеріальної стінки, не несуть прямої загрози життю хворих.

Такий погляд на клінічне значення артеріосклерозу Менкеберга зазнав істотних змін протягом останнього десятиріччя завдяки роботам, у яких було доведена важлива роль кальцифікації у розвитку аневризми аорти та їх розшаруванні, у порушеннях кровопостачання кінцівок і в патогенезі діабетичної стопи, у зменшенні функціональних резервів вінцевого кровообігу в серці та ін. [1–3]. З огляду на це інтерес до проблеми кальцифікації артеріальних судин значно зріс, про що свідчить велика кількість опублікованих останнім часом оригінальних робіт та оглядів [4–6].

Аналіз літературних джерел свідчить, що досі нерозв’язаною залишається проблема механізмів розвитку кальцифікації кровоносних судин, зумовленої цукровим діабетом; які причиново-наслідкові зв’язки існують між власне діабетичним процесом і артеріосклерозом Менкеберга.

Одним з підходів до вивчення зазначеної проблеми є започаткована Ю.В. Бицем енергодефіцитна концепція розвитку склеротичних уражень судин [7]. Відповідно до неї дистрофічно-склеротичні зміни в судинній стінці закономірно розви-

ваються у разі порушення енергозабезпечення клітинних її елементів. Цілком можливо, що цей механізм має значення і в розвитку діабетичних уражень кровоносних судин, адже відомо, що саме метаболічні порушення в органах і тканинах організму посідають центральне місце серед змін, зумовлених діабетом. З огляду на це нами проведено експериментальні дослідження, у яких вивчалось питання, чи змінюється рівень енергетичного обміну в стінках кровоносних судин в умовах експериментального цукрового діабету.

**Мета дослідження** – визначення основних показників енергозабезпечення артеріальних і венозних судин кролів з алоксановим цукровим діабетом.

**Матеріал і методи дослідження.** Досліди виконано на 12 кролях-самцях віком 6 міс., маса яких становила 2,0-2,2 кг.

Цукровий діабет відтворювали одноразовим внутрішньовенним введенням тваринам алоксану (SIGMA Aldrich) з розрахунку 100 мг на 1 кг маси. Алоксан вводили в ізотонічному розчині натрію хлориду (загальний об’єм розчину складав 5 мл) у крайову вену вуха кролів, що були позбавлені їжі протягом 18 год. Контрольним тваринам внутрішньовенно вводили таку ж кількість ізотонічного розчину NaCl.

Через 14 днів після ін’єкції алоксану тварин забивали за допомогою повітряної емболії. Контроль концентрації глюкози в крові здійснювали перед початком експерименту, через 3, 7 і 14 діб. Глюкозу крові визначали за допомогою експрес-аналізатора “GLUCOCARD”.

Одразу після забою тварин виділяли грудну і черевну аорту, легеневу артерію, задню порожнисту вену. Судини поміщали в чашку Петрі з розчином Кребса, за допомогою гострого леза очищали їх від прилеглої жирової тканини і адвентиції, розрізали їх так, щоб утворювалися спіральні смужки.

Одержані препарати поміщали в спеціальні скляні судини, з’єднані з манометрами Варбурга. Натяг судинних смужок не створювали, що дозволяло вивчати мінімальний, т. зв. базаль-

ний рівень енергетичного обміну артерій і вен. Інкубацію препаратів здійснювали в розчині Кребса протягом 3 годин. Концентрація глюкози в інкубаційному розчині складала 10 ммоль/л, газовим середовищем був кисень, температура становила 37,4°C.

Визначення споживання кисню ( $J_{O_2}$ ) ізольованими смужками судин здійснювали манометричним методом [8]. Інтенсивність поглинання глюкози ( $J_G$ ) розраховували за різницею концентрації глюкози в розчині Кребса до і після 3-годинної інкубації препаратів. Вміст глюкози в розчині визначали глюкооксидазним методом. Інтенсивність утворення молочної кислоти ( $J_L$ ) оцінювали за концентрацією лактату в середовищі одразу після закінчення 3-годинної інкубації смужок судин. Вміст лактату визначали гідрохіноновим методом [9]. Інтенсивність утворення АТФ ( $J_{ATP}$ ) препаратами артерій і вен розраховували за формулою [10]:  $J_{ATP} = J_L + 4,9J_{O_2}$ .

Увесь цифровий матеріал опрацьовано методами статистики з використанням критерію t Стьюдента та непараметричних статистичних методів (критерію Вілкоксона-Манна-Вітні) [11, 12].

**Результати й обговорення.** Одноразове введення кролям алоксану (100 мг/кг) супроводжується значним підвищенням концентрації глюкози в крові, що відображає розвиток у тварин цукрового діабету. Так, рівень базальної глікемії у них становив (у ммоль/л) через 3 доби 20,6±0,92; через 7 діб – 17,4±1,17; через 14 діб – 14,3±0,80 проти 4,9±0,15 у контролі. Максимальний рівень гіперглікемії відзначали через 3 доби після введення алоксану, що є характерним для даної моделі цукрового діабету [13].

Через 14 діб після введення алоксану відзначали значне пригнічення енергетичного обміну в стінках як артерій, так і венозних судин. Про це свідчило зменшення всіх вивчених показників енергозабезпечення судин (див. табл. 1).

Таблиця 1. Показники інтенсивності енергетичного обміну в стінках кровоносних судин кролів з алоксановим діабетом (ммоль·г<sup>-1</sup>·год<sup>-1</sup>; M ± m)

	$J_G$	$J_L$	$J_{O_2}$	$J_{ATP}$
<b>Грудна аорта</b>				
контроль (6)	9,4±0,26	8,4±0,35	9,4±0,31	54,3±1,71
алоксан (6)	6,2±0,34**	6,0±0,33**	4,8±0,26**	30,4±1,64**
<b>Черевна аорта</b>				
контроль	7,8±0,29	7,8±0,28	11,7±0,29	65,1±1,6
алоксан	5,6±0,38*	5,8±0,34*	6,0±0,31**	35,2±1,86**
<b>Легенева артерія</b>				
контроль	9,0±0,39	9,7±0,26	19,6±0,63	105,7±3,36
алоксан	5,4±0,21**	6,4±0,25**	8,2±0,33**	46,6±1,83
<b>Задня порожниста вена</b>				
контроль	11,2±0,37	3,4±0,2	44,6±0,88	221,9±4,51
алоксан	4,1±0,20**	2,1±0,10**	15,7±0,54**	79,0±2,73**

Примітка. У дужках – кількість тварин, \* – p < 0,01, \*\* – p < 0,001.

Так, інтенсивність поглинання глюкози смужками грудної аорти зменшувалася на 34 %, черевної аорти – на 28 %, легеневої артерії – на 40 %, задньої порожнистої вени – на 63 %, якщо порівнювати з контролем. Зменшення утворення молочної кислоти становило в грудній аорті 29 %, у черевній аорті – 26 %, у легеневої артерії – 34 %, у задній порожнистій вені – 38 % проти контрольних значень показника  $J_L$ . Ще в більшій мірі порушувалися процеси тканинного дихання кровоносних судин, про що свідчило падіння показника  $J_{O_2}$  у грудній та черевній аорті майже вдвічі, у легеневої артерії – у 2,4 раза, у задній порожнистій вені – майже в 3 рази. Відповідно інтенсивність утворення АТФ ( $J_{ATP}$ ) в судинах діабетичних тварин зменшувалася в 1,8 раза в грудній і черевній аортах, у 2,25 раза – у легеневої артерії, у 2,8 раза – у задній порожнистій вені.

Таким чином, можна стверджувати, що розвиток алоксанового діабету в кролів супроводжується значним пригніченням процесів енергозабезпечення як артерій, так і венозних судин. Причому у венах, вихідний рівень метаболізму у яких вищий, ніж в артеріях, ступінь такого пригнічення був вищий, якщо порівнювати з вивченими артеріальними судинами.

У роботах Ю.В. Бица та його послідовників було доведено, що порушення енергетичного обміну в стінках кровоносних судин є важливим патогенетичним чинником артерioskлерозу Менкеберга [7]. Так, до розвитку дистрофічних змін у судинній стінці та її кальцифікації сприяють моноіодацетат, високі дози вітаміну D і адреналіну – чинники, які пригнічують окисну активність судинної стінки, порушують ресинтез у ній АТФ.

Одержані нами дані доповнюють перелік на-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, короткі повідомлення, замітки з практики

ведених вище чинників алоксаном і дають підстави припускати можливу патогенетичну роль порушень енергозабезпечення судинної стінки в розвитку уражень кровоносних судин при цукровому діабеті.

До пригнічення енергозабезпечення артерій і вен діабетичних тварин можуть бути причетні щонайменше три механізми: (1) пряма токсична дія алоксану на стінку кровоносних судин; (2) абсолютна інсулінова недостатність, що виникає внаслідок ушкодження панкреатичних бета-клітин алоксаном, і (3) власне гіперглікемія як наслідок дефіциту інсуліну. Яке значення має кожен з наведених вище чинників у розвитку енергодефіцитного стану в клітинах судин, ще належить з'ясувати, провівши відповідні експериментальні дослідження.

**Висновки.** 1. Одноразове введення кровлям алоксану веде до розвитку хронічної гіпер-

глікемії і пригнічення енергозабезпечення кровоносних судин, що виявляє себе зменшенням показників поглинання глюкози і кисню, утворення молочної кислоти, ресинтезу АТФ.

2. Пригнічення енергетичного обміну у венних судинах було більшим, якщо порівнювати з вивченими артеріями.

3. Порушення енергозабезпечення судинної стінки діабетичних тварин може бути патогенетичним чинником ушкодження клітин і подальшого розвитку дистрофічно-склеротичних змін (артеріосклерозу Менкеберга).

**Перспективи подальших досліджень.** В майбутньому слід визначити, у який спосіб порушення енергозабезпечення судинної стінки спричинює її кальцифікацію відповідно до енергодефіцитної концепції артеріосклерозу Менкеберга.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Guzman R.J. Clinical, cellular and molecular aspects of arterial calcification / R.J. Guzman // J. Vasc. Surg. – 2007. – V. 45 (Suppl. A). – P. A57-A63.

2. Johnson R.C. Vascular calcification. Pathobiological mechanisms and clinical implications / R.C. Johnson, J.A. Leopold, J. Loscalzo // Circ. Res. – 2006. – V. 99. – P. 1044-1059.

3. Moebus S. Association of impaired fasting glucose and coronary artery calcification as a marker of subclinical atherosclerosis in a population-based cohort – results of the Heinz Nixdorf REcall Study / S. Moebus, A. Stang, S. Mühlhens et al. // Diabetologia. – 2009. – V. 52. – P. 81-89.

4. Hayden M.R. Vascular ossification-calcification in metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, chronic kidney disease and calciphylaxis – calcific uremic arteriopathy: the emerging role of sodium thiosulfate / M.R. Hayden, S.C. Tyagi, L. Kolb et al. // Cardiovascular Diabetology. – 2005. – V. 4. – P. 4-20.

5. Jayalath R.W. Aortic calcification / R.W. Jayalath, S.H. Mangan, J. Golledge // Eur. J. Endovasc. Surg. – 2005. – V. 30. – P. 476-488.

6. Shao J.S. Molecular mechanisms of vascular calcification: lessons learned from the aorta / J.S. Shao, J. Cai, D.A. Towler // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2006. – V. 26. – P. 1423-1430.

7. Быць Ю.В. Сравнительно-патофизиологические аспекты энергообеспечения сосудистой стенки / Ю.В. Быць, В.П. Пишак, А.В. Атаман. – К.-Черновцы: Прут, 1999. – 330 с.

8. Тринус Ф.П. Методика одновременной регистрации сокращения и дыхания изолированной мускулатуры сосудов / Ф.П. Тринус // Фармакол. и токсикол. – 1963. – Т. 26, № 3. – С. 375-377.

9. Dische Z. Über eine neue kolorimetrische Bestimmungsmethode der Milchsäure im Blute / Z. Dische, D. Laszlo // Bioch. Zeitschrift. – 1927. – B. 187. – P. 344-362.

10. Peterson J.W. Aerobic glycolysis in vascular smooth muscle: relation to isometric tension / J.W. Peterson, R.J. Paul // Biochim. Biophys. Acta. – 1974. – V. 357. – P. 167-176.

11. Гублер Е.В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е.В. Гублер, А.А. Генкин. – Л.: Медицина, Ленинградское отд., 1973. – 141с.

12. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В.Ю. Урбах. – М.: Медицина, 1975. – 295 с.

13. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes / S. Lenzen // Diabetologia. – 2008. – V. 51. – P. 216-226.

## INFLUENCE OF THE ALLOXAN DIABETES ON ENERGY-SUPPLY OF ARTERIAL AND VENOUS VESSELS IN RABBITS

**Yu.O. Ataman**

*Sumy State University*

**SUMMARY.** In experiments on rabbits it was shown that in 14 days after one dose alloxan injection (100 mg/kg) glucose and oxygen consumption decreased, lactic acid production increased, ATP-ase resynthesis suppressed in isolated thoracic and abdominal aorta, pulmonary artery and vena cava posterior strips incubated for 3 h in Krebs solution with glucose (10 mmol/l).

**KEY WORDS:** arteries, veins, alloxan, diabetes mellitus, energy exchange.