

УДК 616.12-008.331.1-005.4-06:616.379

DOI <https://zenodo.org/records/18023431>

МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ В ЩУРІВ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ ТА МЕТАБОЛІЧНИМИ ПОРУШЕННЯМИ

Поліванова Н.П.¹, Савицький І.В.¹, Савицький В.І.¹, Остапець М.О.²

¹ПЗВО «Міжнародна академія екології та медицини», м. Київ

²ПВНЗ «Київський медичний університет», м. Київ

MECHANISMS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION DEVELOPMENT IN RATS WITH ARTERIAL HYPERTENSION AND METABOLIC DISORDERS

Polyvanova N.P.¹, Savytskyi I.V.¹, Savytskyi V. I.¹, Ostapets M.O.²

¹Private Higher Educational Institution "International Academy of Ecology and
Medicine", Kyiv

²Private Higher Educational Institution "Kyiv Medical University", Kyiv

Authors information

Савицький І.В. (Savytskyi I.V.): <https://orcid.org/0000-0002-5841-9993>

Savytskyi V.I. (Савицький В.І.): <https://orcid.org/0000-0001-8027-0163>

Остапець М.О. (Ostapets M.O.): <https://orcid.org/0000-0002-6900-5833>

Summary/Резюме

The article presents the results of a study on endothelial changes in rats with spontaneous arterial hypertension and metabolic syndrome. Endothelial dysfunction is a key component in the pathogenesis of arterial hypertension, as confirmed by a significant increase in the levels of vasoconstrictive, prothrombotic, and pro-inflammatory agents in SHR rats, both with and without experimentally induced metabolic syndrome. In animals with comorbid pathology, endothelial dysfunction was more pronounced, as evidenced by a substantial rise in the concentrations of endothelin-1, von Willebrand factor, PAI-1, and sVCAM-1 at weeks 16–17 of observation.

This indicates a synergistic effect of arterial hypertension and metabolic syndrome in aggravating vascular damage. A decrease in the levels of stable nitric oxide metabolites in SHR rats and in those with induced metabolic syndrome points to the depletion of the vasodilatory capacity of the endothelium. A statistically significant reduction in nitric oxide was recorded at weeks 7–8 and 16–17 of the experiment, confirming the progressive nature of endothelial dysfunction.

Keywords: endothelial dysfunction, nitric oxide, arterial hypertension, metabolic syndrome, comorbidity, pathogenesis.

В статті наведено результати вивчення змін ендотелію у щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією та метаболічним синдромом. Ендотеліальна дисфункція є ключовою ланкою патогенезу артеріальної гіпертензії, що підтверджено достовірним підвищенням рівнів вазоконстрикторних, протромботичних та прозапальних агентів у щурів лінії SHR як без змодельованого метаболічного синдрому, так і за його наявності. У тварин із коморбідною патологією дисфункція ендотелію проявлялася більш виражено, що відображалось в суттєвому зростанні концентрацій ендотеліну-1, фактору Віллебранда, PAI-1 та sVCAM-1 на 16–17 тижднів спостереження. Це свідчить про синергічний ефект артеріальної гіпертензії та метаболічного синдрому в поглибленні судинних ушкоджень. Зниження рівнів стабільних метаболітів оксиду азоту у щурів лінії SHR та при індукованому метаболічному синдромі вказує на виснаження вазодилаторного потенціалу ендоте-

лію. Встановлено достовірне зниження оксиду азоту на 7–8 та 16–17 тижднів експерименту, що підтверджує прогресуючий характер ендотеліальної дисфункції.

Ключові слова: ендотеліальна дисфункція, оксид азоту, артеріальна гіпертензія, метаболічний синдром, коморбідність, патогенез.

Вступ

Серцево-судинні ураження є провідною причиною смертності у пацієнтів з метаболічним синдромом (МС), а одним із найрозповсюдженіших та важливих факторів серцево-судинного ризику є АГ [1]. Артеріальна гіпертензія (АГ) – серйозна невирішена проблема сучасної практичної медицини, обумовлена як високою розповсюдженістю, так і значним несприятливим впливом на її протікання. АГ зустрічається у 30-45 % дорослих у загальній популяції. Частота захворюваності підвищується з віком, при цьому понад 60 % осіб віком старше 60-65 років мають підвищений артеріальний тиск (АТ) чи отримують гіпотензивну терапію. За даними епідеміологічних досліджень вірогідність розвитку АГ у віці 20-40 років може досягти 90-95 % [1, 2]. У кінці останнього століття для осіб, що мають декілька факторів ризику, об'єднані однією патологічною основою, була запропонована концепція МС. МС характеризується збільшенням вісцерального жиру, зниженням чутливості периферичних тканин до інсуліну та гіперінсулінемією, які викликають порушення вуглеводного, ліпідного, пуринового обмінів та АГ [3]. Розповсюдженість МС в різних країнах досягає 10-25 %, а за деякими даними – 35 %. У осіб старше 50 років частота виявлення збільшується до 44 % [3, 4].

Вивчення МС та АГ як окремих нозологічних станів уже дало значний обсяг знань, проте дедалі очевиднішим стає, що ці процеси мають спільні патогенетичні механізми, які, на сьогодні, залишаються недостатньо з'ясованими. Саме тому доцільним є комплексне вивчення патогенезу АГ у контексті МС [3, 5].

Тому **метою** нашого дослідження було вивчення змін ендотелію за умов коморбідної АГ з МС.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводилися на 48 нелінійних щурах лінії Вістар обох статей. Задля поставленої мети дослідження також

було обрано 108 щурів зі спонтанною гіпертензією (лінії SHR) обох статей. Концепція дослідження передбачала два часові етапи спостереження – на 7–8 та 16–17 тижні експерименту, при цьому вивчення показників проводилося у групах тварин різних ліній, а також за умов індукування МС [5].

Для індукції МС у лабораторних тварин застосовували фруктозну дієту, яка включала: заміщення частини стандартного корму щурів на корм, збагачений 10–20% D-фруктозою та вільний доступ до питної води, у якій додавалася розчинена фруктоза у концентрації 10 % [6].

Концентрацію ендотеліна-1 в крові вивчали за допомогою імуноферментного набору «Ендотелін 1» фірми «Biomedica grupe» (Австрія) для кількісного визначення ендотеліну-1 [7].

Рівень фактора Віллебранда (фВ) визначали за допомогою набору реагентів «Віллебранд-тест» в цитратній плазмі. Метод ґрунтується на здатності фВ викликати аглютинацію тромбоцитів в присутності антибіотику ристоцетину [7].

Концентрацію PAI-1 у плазмі крові визначали за допомогою імуноферментного аналізу.

Визначення рівня sVCAM проводили імуноферментним методом із використанням набору реагентів для кількісного визначення молекули міжклітинної адгезії-1 eBioscience (Bender MedSystems), набору реагентів ProcartaPlex Rat VCAM-1 Simplex. Дослідження проводилися на площковому ELISA-аналізаторі «Stat Fax-303 Plus» (USA).

NO-синтазну активність визначали спектрофотометричним методом за приростом вмісту нітриту в реакційній суміші, що містить 50 мМ дигідрофосфату калію (рН 7), 1 мМ хлориду магнію, 1 мМ НАДФН і 2 мМ хлориду кальцію (для вимірювання активності eNOS або 4 мМ ЕДТА (для зв'язування ендогенного кальцію при вимірюванні активності iNOS), протягом 15 хвилин при 37°C [7].

Робота з тваринами проводилася відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986 р.), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 440-IX від 14.01.2020 р. [6].

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою програми «Statistica 10.0». Вірогідність відмінностей між показниками контрольної та дослідних груп визначали за критеріями Стюдента та Фішера. Рівень достовірності приймали при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Ендотелій виступає ключовим учасником у підтриманні судинного гомеостазу. Він регулює рівновагу між взаємнопротилежними процесами. Синтезуючи широкий спектр біологічно активних речовин, ендотелій модулює такі функції судинного русла: тонус судин – секреція вазоконстрикторів і вазодилаторів; ріст і проліферація судин – синтез факторів росту та їх інгібіторів; контроль гемостазу – продукція протромботичних та антитромботичних факторів; місцеве запалення – синтез про-і протизапальних медіаторів; антиоксидантна активність [3, 8, 9].

У фізіологічних умовах переважають процеси вазодилатації, синтез інгібіторів агрегації тромбоцитів, коагуляції та активаторів фібринолізу, а також антиадгезивних речовин. ЕД – це дисбаланс синтезу біологічно активних сполук ендотеліоцитами, що проявляється надмірною продукцією вазоконстрикторних, протромботичних та прозапальних агентів [8].

Згідно літературним даним, ЕД виступає предиктором розвитку АГ за рахунок ймовірних механізмів: генетичний фон -> кумулятивний вплив факторів ризику та

хронічний ОС -> активація та ушкодження ендотелію -> структурні й функціональні зміни судин, насамперед мікроциркуляторного русла -> розвиток есенціальної гіпертензії [9].

Встановлено, що в групі щурів лінії SHR на 7-8 тижднів спостереження рівень ендотеліну-1 підвищувався в 1,4 рази ($p < 0,05$) порівняно з тваринами лінії Вістар, на 16-17 тижднів – в 1,2 рази ($p < 0,05$) відповідно (табл. 1). У тварин з індукованим МС відмічали наступні зміни рівня ендотеліну-1: у групі лінії Вістар даний показник підвищувався в 1,4 рази ($p < 0,05$) на 16-17 тижднів порівняно з даними, одержаними на 7-8 тижднів. У щурів лінії SHR на 7-8 тижднів концентрація ендотеліну-1 перевищувала дані лінії Вістар у 1,7 разів ($p < 0,05$), на 16-17 тижднів – в 1,5 разів ($p < 0,05$) відповідно.

При дослідженні рівня фВ у щурів лінії SHR без змодельованого МС на 16-17 тижднів підвищувався в 1,3 рази ($p < 0,05$) порівняно з показником, одержаним на 7-8 тижднів спостереження. У тварин з коморбідною патологією рівень фВ відповідав $165,1 \pm 5,7$ % та перевищував дані, одержані на 7-8 тижднів в 1,6 разів ($p < 0,05$), при цьому у тварин лінії Вістар, які знаходилися на фруктозній дієті також відмічали підвищення рівня фВ в 1,5 разів ($p < 0,05$) порівняно з даними у відповідній групі, одержаними на 7-8 тижднів.

Дослідження PAI-1 дозволило встановити наступну закономірність: у тварин лінії SHR вже на 7-8 тижднів спостереження підвищувався в 1,4 рази ($p < 0,05$) порівняно з щурами лінії Вістар, на 16-17 тижднів – в 1,8 разів ($p < 0,05$) відповідно. Одночасно у щурів із коморбідною патологією даний показник також вірогідно підвищувався на 7-8 тижднів експериментальних досліджень в 1,9 разів ($p < 0,05$) та в 1,9 разів ($p < 0,05$) відповідно. Щодо концентрації sVCAM, то у тварин лінії SHR без індукованого МС даний показник на 7-8 тижднів підвищувався в 1,1 рази порівняно з щурами лінії Вістар, на 16-17 тижднів – в 1,2 рази ($p < 0,05$) відповідно. У щурів лінії SHR зі змодельованим МС рівень sVCAM вірогідно підвищувався в 1,3 рази ($p < 0,05$) лише на 16-17 тижднів порівняно з тваринами лінії Вістар.

Маркери ендотеліальної дисфункції в щурів лінії SHR та Вістар у різні періоди спостереження

Показники	7-8 тиждень		16-17 тиждень	
	Щури лінії Вістар (n=12)	Щури лінії SHR (n=12)	Щури лінії Вістар (n=12)	Щури лінії SHR (n=12)
Ендотелін-1, фмоль/мл	3,4±1,2	4,6±1,3*	4,4±1,5	5,3±1,4*
фВ, %	82,1±3,8	90,7±4,1	92,6±4,1	120,5±4,5*
PAI-1, нг/мл	8,3±0,8	12,1±1,2*	9,1±0,6	16,8±2,8*
sVCAM, нг/мл	804,2±25,4	876,6±31,0	811,5±26,1	944,3±28,6*
NO _x , мкмоль/л	39,4±2,2	26,4±1,8*	38,6±2,0	22,3±1,4*
З індукованим метаболічним синдромом				
Ендотелін-1, фмоль/мл	3,7±1,4	6,2±1,5*	5,3±1,4	7,8±1,5*
фВ, %	96,8±4,4	105,1±5,7	142,4±5,1**	165,1±5,7**
PAI-1, нг/мл	7,7±1,1	14,3±1,6**	10,4±1,1*	19,6±1,8*
sVCAM, нг/мл	918,3±26,1	1004,8±31,4	967,8±28,3*	1245,4±31*
NO _x , мкмоль/л	29,3±1,8	20,8±1,2*	27,7±1,9	18,4±1,0*

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно показників отриманих у тварин лінії Вістар у відповідний термін спостереження.

Як за умов АГ, так і при коморбідній патології було зафіксовано достовірне підвищення рівнів фВ, PAI-1, ендотеліну-1 та sVCAM-1. Варто зазначити, що обрані для цього дослідження маркери ЕД відображають ключові патогенетичні механізми та, відповідно, механізми розвитку АГ на тлі МС. Так, значне підвищення концентрації фВ та PAI-1 у плазмі крові свідчить про зростання в'язкості крові за даних патологічних умов. Підвищення рівня ендотеліну-1 демонструє залучення запального процесу, а гіперконцентрація sVCAM-1 відображає вазоконстрикторні ефекти, характерні для стану ЕД [8-10].

Ці результати узгоджуються з іншими дослідженнями, що підтверджують активацію експресії ендотеліну-1 у судинах системного кола кровообігу та серці на тлі підвищеного артеріального тиску. Ми розглядаємо наступну послідовність патологічних подій: підвищення АТ -> ушкодження ендотеліальних клітин -> активація експресії ендотеліну-1, який на початковому етапі має компенсаторне й адаптаційне значення (згідно з законами гемодинаміки, напруження судинної стінки зменшується при її потовщенні). Однак подальше ушкодження судин стимулює ще більшу експресію ендотеліну-1, що запускає порочне коло: вазоконстрикція -> зростання АТ -> прогресування ушкодження судин -> атеросклероз [9].

З цієї точки зору, блокада ендотелінової системи та активності рецепторів ендотеліну-1 може розглядатися як новий терапевтичний підхід, який виходить за межі звичайного зниження тиску та спрямований на запобігання судинному ушкодженню й поліпшення клінічного прогнозу. Це підтверджено в експериментальних роботах, однак потребує доведення в клінічних умовах [10].

фВ відіграє важливу роль у регуляції балансу між коагуляційною та антикоагуляційною системами. Його надлишок свідчить про зсув у бік гіперкоагуляції. Регуляція експресії фВ здійснюється на транскрипційному та посттрансляційному рівнях, а його вивільнення у кров відбувається з тромбоцитів після ушкодження ендотелію. На цей процес також впливають інтенсивність запальної та імунної відповіді, що має чіткі клінічні прояви у кардіоваскулярній патології [8-10].

PAI-1 – антифібринолітичний білок, який регулює формування фібринового згустка. Хоча його підвищення асоціюється з судинними факторами ризику, прогностичне значення як біомаркера несприятливих серцево-судинних подій залишається дискусійним через різну популяцію пацієнтів та методологічні підходи. Наші результати підтверджують патогенетичну роль і фВ, і PAI-1 у розвитку гіперкоагуляції як при спонтанній АГ у щурів, так і за умов МС [9, 10].

sVCAM-1 також має ключове значення в патогенезі ЕД при АГ. Визначальним чинником його секреції є гіперактивація фактора некрозу пухлин (TNF- α), що супроводжує як гострий, так і хронічний запальний процес. Відомо, що підвищена експресія sVCAM-1 асоціюється з несприятливим клінічним прогнозом при АГ. Водночас клінічні дані свідчать, що застосування блокаторів рецепторів TNF- α у пацієнтів з АГ і МС сприяє зниженню рівня sVCAM-1, що вказує на можливість цільової антицитокінової терапії для корекції ЕД [8].

Перераховані вище компоненти патології

генезу ЕД при АГ свідчать протяжке системне ураження, яке включає: активацію запальної відповіді, розвиток гіперкоагуляції, дисбаланс у регуляції в'язкості крові, посилення вазоконстрикторних ефектів. Очевидно, що навіть один із цих факторів може ініціювати ушкодження ендотелію та посилити клінічні прояви АГ, особливо на тлі гіперглікемії (при індукованому МС).

Дослідження рівня NO_x дозволили підтвердити наростаючу ЕД як у тварин лінії SHR, так і за умов індукованого МС. На 7-8 тиждень спостереження у даної групи тварин відмічалася достовірне зниження даного показника в 1,5 разів ($p < 0,05$) порівняно з щурами лінії Вістар; на 16-17 тиждень – в 1,7 разів ($p < 0,05$) відповідно. За умов фруктозної дієти ЕД була більш вираженою: у тварин лінії SHR на 7-8 тиждень дослідження рівень NO_x знижувався в 1,4 рази ($p < 0,05$) порівняно з щурами лінії Вістар; на 16-17 тиждень – в 1,5 разів ($p < 0,05$) відповідно.

Висновки

1. ЕД є ключовою ланкою патогенезу АГ, що підтверджено достовірним підвищенням рівнів вазоконстрикторних, протромботичних та прозапальних агентів (ендотеліну-1, фВ, PAI-1, sVCAM-1) у щурів лінії SHR як без змодельованого метаболічного синдрому (МС), так і за його наявності.
2. У тварин із коморбідною патологією ЕД проявлялася більш виражено, що відображалася в суттєвому зростанні концентрацій ендотеліну-1, фВ, PAI-1 та sVCAM-1 на 16–17 тиждень спостереження. Це свідчить про синергічний ефект АГ та МС у поглибленні судинних ушкоджень. Зниження рівнів стабільних метаболітів оксиду азоту (NO_x) у щурів лінії SHR та при індукованому МС вказує на виснаження вазодилаторного потенціалу ендотелію. Встановлено достовірне зниження NO_x на 7–8 та 16–17 тиждень експерименту, що підтверджує прогресуючий характер ЕД.

References/Література:

1. Hypertension in Cardiovascular and Kidney Disease: Recent Trends - Treating Two Diseases as One / A. De Pascalis, A. Tomassetti,

- D. Vetrano et al. *Cardiorenal medicine*. 2024. Vol. 14 (1). P. 581–587.
2. Essential Hypertension and Oxidative Stress: Novel Future Perspectives / C. Franco, E. Sciatti, G. Favero G et al. *Int J Mol Sci*. 2022. Vol. 23 (22). e14489.
3. Litwin M., Kuiaga Z. Obesity, metabolic syndrome, and primary hypertension. *Pediatric nephrology*. 2021. Vol. 36 (4). P. 825–837.
4. Diet and metabolic syndrome: a narrative review / F. Angelico, F. Baratta, M. Coronati et al. *Internal and emergency medicine*. 2023. Vol. 18 (4). P. 1007–1017.
5. Comprehensive analysis of metabolic changes in spontaneously hypertensive rats / Y. Li, D. Xie, L. Li, P. Jiang. *Clinical and experimental hypertension*. 2023. Vol. 45 (1). e2190529.
6. Reznikov O. G., Solovyov A. I., Stefanov O. V. Biotic examination of preclinical and other scientific studies performed on animals: method. recommendations Herald of pharmacology and pharmacy. 2006. No. 7. P. 47–61.
7. Clinical laboratory diagnostics: a study guide / B. D. Lutsik, L. E. Lapovets, G. B. Lebed, etc.; under the editorship B. D. Lutsyk. – 2nd edition. K.: Medicine, 2018. 288 p.
8. Konukoglu D., Uzun H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Advances in experimental medicine and biology*. 2017. Vol. 956. P. 511–540.
9. Essential arterial hypertension patients present higher cell adhesion forces, contributing to fibrinogen-dependent cardiovascular risk / A. F. Guedes, F. A. Carvalho, J. B. Nogueira, N. C. Santos. *Nanoscale*. 2017. Vol. 9 (39). P. 14897–14906.
10. Droïd D., Droïd M., Wyjick M. Endothelial dysfunction as a factor leading to arterial hypertension. *Pediatric nephrology*. 2023. Vol. 38 (9). P. 2973–2985.

Вперше надійшла до редакції 12.07.2025 р.
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування