

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ.
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О. О. БОГОМОЛЬЦЯ НАН УКРАЇНИ.

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ПОРТНІЧЕНКО ГЕОРГІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 612.176:(612.14+577.125+577.25)

**УЧАСТЬ СТЕРОЛРЕГУЛЯТОРНИХ БІЛКІВ (SREBP)
У РЕГУЛЯЦІЇ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ
СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ
ЗА УМОВ ВИСОКОХОЛЕСТЕРИНОВОЇ ДІЄТИ**

Спеціальність 03.00.13 - фізіологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
Портніченко Г.В. _____

Науковий керівник: **Мойбенко Олексій Олексійович**,

Академік НАН України, доктор медичних наук, професор

Досенко Віктор Євгенович,

доктор медичних наук, професор

Київ – 2019

АНОТАЦІЯ

Портніченко Г.В. Участь стеролрегуляторних білків (SREBP) у регуляції морфофункціонального стану серцево-судинної системи гіпертензивних щурів при високохолестериновій дієті - Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин» - Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця, НАН України, Київ, 2019.

Дисертація присвячена дослідженням сполученого впливу гіпертензії та високохолестеринової дієти на функцію та структуру серцево-судинної системи, зокрема серця і великих судин, а також на ліпідний метаболізм й експресію одного з ключових регуляторів синтезу вільних жирних кислот та холестерину в клітині - білків, що здатні зв'язувати стеролрегуляторні елементи (SREBP). Вперше досліджено вплив високохолестеринової дієти за умов гіпертензії порівняно з впливом кожного з цих факторів окремо. Вперше охарактеризовано розвиток початкових стадій атерогенетичних змін в стінці аорти щурів. За допомогою методики введення в порожнину лівого шлуночка чутливих до змін тиску й об'єму мікрокатетерів було досліджено діяльність серцево-судинної системи й показано зміни її функціонування під впливом гіперхолестеринемії та артеріальної гіпертензії. Визначення рівня ліпопротеїдів крові показало зміни нормального стану ліпідного метаболізму за впливу високохолестеринової дієти, що були, однак, менш вираженими за умов гіпертензії. Окремою ланкою було дослідження генетичних механізмів регуляції ліпідного обміну за допомогою ПЛР у реальному часі. Було показано зміни експресії ключових регуляторів синтезу жирних кислот та холестерину в клітині, а також досліджено експресію їх генів-мішеней. Отримані дані свідчать про порушення нормальної регуляції генезу ліпідів в клітинах за умов поєднаного впливу гіпертензії та гіперхолестеринемії, як в серцево-судинній системі, так і в клітинах печінки, а також є свідченням розладу між процесами

споживання й синтезу ліпідів *de novo*, як однієї з провідних ланок порушень ліпідного метаболізму. Гістологічні дослідження тканин серця й судин свідчать про характерні для гіпертензії зміни в ультраструктурі тканин стінки аорти, що значно погіршилися внаслідок розладів ліпідного метаболізму, і демонструють картину, характерну для початкових стадій атерогенезу. Таким чином, вперше показано, що спільний вплив високохолестеринової дієти та артеріальної гіпертензії є взаємопов'язаним і значно погіршує їх перебіг, створює передумови для більш виражених ускладнень, характерних для метаболічного синдрому.

Ключові слова: SREBP, ліпідний обмін, гіпертензія, атеросклероз, серцево-судинна система

SUMMARY

Portnichenko G.V. The participation of sterol-regulatory proteins (SREBP) in regulation of morphofunctional state of cardiovascular system in hypertensive rats under high cholesterol diet. - The dissertation for the degree of a Candidate of Biological Sciences (PhD) in the specialty 03.00.13 "Human and animal physiology" – Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv, 2019.

The dissertation is aimed to the study of the combined effect of hypertension and high cholesterol diet on the function and structure of the cardiovascular system, in particular of the heart and large vessels, as well as lipid metabolism and expression of the sterol regulatory elements (SREBP) - one of the key regulators of free fatty acids and cholesterol synthesis in the cell. For the first time, the effect of a high cholesterol diet under hypertension was investigated in comparison with the influence of each of these factors separately. The development of the initial stages of atherogenic changes in the wall of the aorta of rats is described for the first time. The microcatheterization of the left ventricle of the heart showed changes in the functioning of the cardiovascular system under the influence of hypercholesterolemia and arterial hypertension. Determination of blood lipoprotein levels showed changes in the normal state of lipid metabolism due to the effect of a high cholesterol diet that was, however, less pronounced under hypertension. Another part of the work was the study of genetic mechanisms of lipid metabolism regulation using real-time PCR, which established changes in the expression of key regulators of the synthesis of fatty acids and cholesterol in the cell *SREBF1* and *SREBF2*, as well as the expression of their target genes *Insig1* and *HMGcoAr*. The obtained data indicate a violation of the lipids genesis normal regulation in cells under the combined effect of hypertension and hypercholesterolemia conditions, both in the cardiovascular system and in liver cells, and also testifies to the disorder between the processes of consumption and synthesis of lipids *de novo*, as one of the leading links of lipid metabolism disorders. Histological and ultrastructural studies of the tissues of the heart and blood vessels showed hypertensive-induced changes in the ultrastructure of the aortic walls, which have significantly deteriorated due to disorders of the lipid metabolism, and show a pattern typical of the atherogenesis initial stages. Thus, it has been shown for the first time that the combined effect of a high cholesterol diet and arterial hypertension is interrelated due to action on regulatory mechanisms, which creates the preconditions for more severe disorders specific for metabolic syndrome.

Key words: SREBP, lipid metabolism, arterial hypertension, high cholesterol diet, cardiovascular system

НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ:

1. Портніченко Г.В. Зміни ліпідного обміну та експресії регуляторних білків в умовах середньогір'я / Портніченко Г.В., Портніченко В.І., Бічекуєва Ф.Х., Бакуновський О.М., Василенко М.І., Портніченко А.Г. // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2011. - №2. - С. 101-103. *(Здобувачем проведено біохімічні та молекулярні дослідження в складі робочої групи, статистичний аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, написано статтю).*
2. Гончаров С.В. Вплив кверцетину на протеасомну активність в аорті та серці щурів зі спонтанною гіпертензією / Гончаров С.В., Портніченко Г.В., Тумановська Л.В., Пашевін Д.О., Кузьменко М.О., Мойбенко О.О., Досенко В.Є.. // Фізіологічний журнал. - 2014. - Т. 60, № 3. - С. 3-10. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження в складі робочої групи, аналіз отриманих результатів, прийнято участь у написанні статті).*
3. Лапікова-Бригінська Т.Ю. Вікові зміни структури і функції серця у спонтанно-гіпертензивних щурів / Лапікова-Бригінська Т.Ю., Гончаров С.В., Портніченко Г.В., Тумановська Л.В., Портніченко А.Г., Досенко В.Є., Мойбенко О.О. // Вісник морфології. – 2014. – 20, №2. – С.383-388. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження в складі робочої групи, аналіз отриманих результатів, прийнято участь у написанні статті).*
4. Portnychenko A.H. Cardiac hypoxic remodeling and preconditioning impact on protein kinase B (Akt) expression in left and right heart ventricles / Portnychenko A.H., Lapikova-Bryhinska T.Yu., Vasylenko M.I., Portnichenko H.V., Maslov L.N., Moibenko O.O. // International Journal of Physiology and Pathophysiology. 2014. – 5, №4. – P. 345-354. *(Здобувачем проведено молекулярні дослідження, аналіз отриманих результатів, прийнято участь у написанні статті).*

5. Лінник О.О. порушення скоротливої активності кардіоміоцитів за дії доксорубіцину / Лінник О.О., Древицька Т.І., Тарасова К.В., Портніченко Г.В., Досенко В.Є., Маньковська І.М. // Фізіологічний журнал. – 2016. – 62, №6. - С. 65-71. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження в складі робочої групи, прийнято участь у написанні статті).*
6. Портніченко Г.В. Взаємозв'язок між поліморфізмом гену SREBF1 та виникненням есенціальної артеріальної гіпертензії у дітей в українській популяції / Портніченко Г.В., Досенко В.Є. // Патологія, реабілітація, адаптація. – 2017. - 15, №4. - С. 210-212. *(Здобувачем проведено молекулярно-генетичні дослідження, аналіз отриманих результатів, написано статтю).*
7. Balatskyi V.V. Cardiospecific deletion of α E-catenin leads to heart failure and lethality in mice / Balatskyi V.V., Macewicz L.L., Gan A.M., Goncharov S.V., Pawelec P., Portnichenko G.V., Lapikova-Bryginska T.Y., Navrulin V.O., Dosenko V.E., Olichwier A., Dobrzyn P., Piven O.O. // PflugersArch - Eur J Physiol. - 2018. – 470, №10. – P. 1485-1499. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження в складі робочої групи, статистичний аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, прийнято участь у написанні статті).*
8. Portnichenko G.V. Cholesterol-rich diet induced improvement of hemodynamic system indices in SHR / Portnichenko G.V., Goncharov S.V., Stroy D.O., Dosenko V.E. // Фізіологічний журнал. – 2019. – 65, №2. – С. 68-75. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, написано статтю).*

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ:

1. Портніченко Г.В. Зміни обміну ліпідів та експресії регуляторних білків при впливі високогірної гіпоксії / Портніченко Г.В., Бічекуєва Ф.Х.,

- Бакуновський О.М., Портниченко А.Г., Портніченко В.І. // VI Національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю, Сімферополь-Місхор, 3-5 жовтня 2012 р. – Таврійський мед.-біол. вісник, 2012. – Т.15, №3, ч.2. – С. 370.
2. Portnichenko H.V. P476 SREBF1, SREBF2 and their target genes expression is different in Wistar and SHR rats under high cholesterol treatment conditions / Portnichenko H.V, Goncharov S.V., Tumanovska L.V , Stroy D.O., Moibenko O.S., Kuzmenko M.O., Moibenko O.O., Dosenko V.E. // Cardiovascular research. – 2014. - 103 (suppl_1). – P. S87.
 3. Goncharov S. Hypotensive effect of quercetin is possibly mediated by down-regulation of immunotropeasome subunits in aorta of spontaneously hypertensive rats / Goncharov S., Portnichenko G.V., Tumanovska L.V., Goshovska Y.V., Lapikova-Bryhinska T.U., Nagibin V.S., Dosenko V.E.. // Cardiovascular Research. – 2016.- 111. – P. S114.
 4. Goncharov S. Quercetin prevents cardiac hypertrophy, fibrosis and lipidosis in spontaneously hypertensive rats and inhibits proteasomal activity / Goncharov S., Portnichenko G., Tumanovska L., Goshovska Y., Dosenko V. // Acta Physiologica. - 2016. – 217. P. 36-37.
 5. Портниченко А.Г. Молекулярні механізми розвитку та попередження патологічних процесів у серцево-судинній системі та їх вікові особливості / Портниченко А.Г., Лапікова-Бригінська Т.Ю., Портніченко Г.В., Гончаров С.В., Василенко М.І., Гарматіна О.Ю., Запара Ю.О., Гур'янова В.Л., Мойбенко О.О. // Тези доп. VII Національного. конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції», присвяченого пам'яті академіка НАНУ О.О. Мойбенка, 5-7 жовтня 2016 р., Харків. – Вид НФАУ, 2016. – С. 184.
 6. Portnychenko A. Rebuilding of carbohydrate and lipid metabolism under hypoxia: regularities and therapeutic possibilities / Portnychenko A., Portnichenko V., Lapikova-Bryhinska T., Nosar V., Vasylenko M., Portnichenko H. Abstr. VI

- Chronic Hypoxia Symposium, Oct 10 - 16 , 2016, La Paz, Bolivia. – Wilderness and Environmental Medicine. – 2017. - V 28, Issue 1. - P. e3.
7. Goncharov S. Effect of cholesterol diet and corvutin at cardiohemodynamics and expression of H2S-synthesizing enzymes genes in aorta of spontaneously hypertensive rats / Goncharov S., Goshovska Y., Portnichenko G., Tumanovska L., Dosenko V., Sagach V. // European Journal Of Clinical Investigation. – 2017. – 47. – P. 130.
 8. Portnychenko A. P1593 Hypoxic preconditioning and metabolic rebuilding in heart ventricles of diabetic rats / Portnychenko A., Vasylenko M., Lapikova-Bryhinska T., Kolcheva M., Portnichenko H., Babicheva V., Ponomaryova I., Portnichenko V. // ESC Congress 2017, 26-30 Aug 2017, Barcelona, Spain. European Heart Journal. - 2017. – 38 (suppl 1). – P. ehx502.P1593.
 9. Портниченко А.Г. Молекулярні механізми фенотипової перебудови тканин при гіпоксії та їх вікові особливості / Портниченко А.Г., Василенко М.І., Бабічева В.В., Лапікова-Бригінська Т.Ю., Гур'янова В.Л., Портніченко Г.В., Розова К.В., Портніченко В.І. // Вікові та хронобіологічні аспекти медицини і фармації. Матер. наук.-практ. конф. з міжн. участю, Чернівці, 4-5 жовтня 2018 р. – Чернівці, БДМУ, 2018. - С. 90-91.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ЗМІСТ	9
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	11
ВСТУП	12
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	17
1.1. Ліпідне навантаження та артеріальна гіпертензія	17
1.2. Транскрипційний фактор, що зв'язується з стерол-регуляторним елементом (SREBP).....	19
1.3. Роль SREBP у розвитку патологічних процесів	28
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	40
2.1. Експериментальні умови	40
2.2. Визначення параметрів роботи серцево-судинної системи за допомогою мікрокатетерів та програмного забезпечення Millar Instruments	41
2.3. Дослідження ліпідного спектру крові	46
2.4. Гістологічні дослідження	47
2.5. Ультроструктурні дослідження за допомогою електронної мікроскопії	47
2.6. Виділення РНК з тканин серця та печінки.....	48
2.7. Зворотна транскрипція та полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі.	49
2.8. Дослідження поліморфізму гена SREBF (rs2297508) у дітей з есенціальною артеріальною гіпертензією	51
2.9. Статистичний аналіз	51
РОЗДІЛ 3. ЗМІНИ ОСНОВНИХ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ФУНКЦІОНУВАННЯ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ ЗА НОРМАЛЬНИХ УМОВ ТА ЗА УМОВ ВИСОКОХОЛЕСТЕРИНОВОЇ ДІЄТИ У СПОНТАННОГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ (SHR)	52
3.1. Функціональні параметри серцево-судинної системи спонтанногіпертензивних щурів	52
3.2. Зміни функціональних параметрів серцево-судинної системи у спонтанногіпертензивних щурів за умов високохолестеринової дієти	70
РОЗДІЛ 4. ЗМІНИ ЛІПОПРОТЕЇДНОГО СКЛАДУ КРОВІ ТА МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА АОРТИ ЗА НОРМАЛЬНИХ УМОВ ТА ЗА УМОВ ВИСОКОХОЛЕСТЕРИНОВОЇ ДІЄТИ У СПОНТАННОГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ (SHR)	86
4.1. Рівні ліпопротеїдів в крові у спонтанногіпертензивних щурів.....	86
4.2. Вміст ліпопротеїдів в крові у спонтанногіпертензивних щурів за умов високохолестеринової дієти	91
4.3 Морфометричні (гістологічні) зміни серцево-судинної системи у спонтанногіпертензивних щурів.....	96
4.4 Морфометричні (гістологічні) зміни серцево-судинної системи у спонтанногіпертензивних щурів за умов холестеринової дієти	102
4.5. Ліпідна інфільтрація стінки аорти	108

4.6. Ультроструктурні дослідження стінки аорти щурів Wistar та SHR	109
РОЗДІЛ 5. ВИЗНАЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ <i>SREBF1</i> І <i>SREBF2</i> В ТКАНИНАХ СЕРЦЯ ТА ПЕЧІНКИ СПОНТАННОГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ (SHR) ЗА УМОВ ВИСОКОХОЛЕСТЕРИНОВОЇ ДІЄТИ	115
5.1. Експресія генів <i>SREBF1</i> та <i>SREBF2</i> в тканинах серця та печінки нормотензивних щурів лінії Wistar та спонтанногіпертензивних щурів (SHR)	115
5.2. Зміни експресії генів <i>SREBF1</i> та <i>SREBF2</i> в тканинах серця та печінки нормотензивних щурів лінії Wistar та SHR за умов високохолестеринової дієти	118
РОЗДІЛ 6. ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ МРНК ГЕНІВ-МІШЕНЕЙ БІЛКА, ЩО З'ЄДНУЄТЬСЯ ІЗ СТЕРОЛРЕГУЛЯТОРНИМ ЕЛЕМЕНТОМ – <i>INSIG-1</i> ТА <i>HMGCOAR</i> – В ТКАНИНАХ СЕРЦЯ ТА ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ ЛІНІЇ WISTAR ТА SHR ЗА УМОВ ВИСОКОХОЛЕСТЕРИНОВОЇ ДІЄТИ	123
6.1. Експресія генів-мішеней SREBP – <i>Insig-1</i> та <i>HMGcoAr</i> – в тканинах серця та печінки у щурів Wistar та SHR	123
6.2. Експресія генів-мішеней SREBP – <i>Insig-1</i> та <i>HMGcoAr</i> – в тканинах серця та печінки щурів Wistar та SHR за умов високохолестеринової дієти	126
РОЗДІЛ 7. ЗВ'ЯЗОК МІЖ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНА <i>SREBF1</i> ТА ВИНИКНЕННЯМ ЕСЕНЦІАЛЬНОЇ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ У ДІТЕЙ	132
РОЗДІЛ 8. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	136
ВИСНОВКИ	154
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ:	156

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

HMGCoAr (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase) - 3-гідрокси-3-метилглутарил-коензим А-редуктаза

Insig – інсулін-індукований ген

SHR – спонтанно-гіпертензивні щури

SREBF – ген, що кодує білок SREBP

SREBP (sterol regulatory element-binding protein) – білок, що зв’язується зі стеролрегуляторним елементом

CO - хвилинний об’єм крові

EF - фракція викиду

SV - ударний об’єм

SW - ударна робота

MP - максимальна потужність

PaMP - максимальна потужність, зрівноважена на переднавантаження

ESV – кінцево-сistolічний об’єм

ESP – кінцево-сistolічний тиск

HR – частота серцевих скорочень

dP/dt_{max} - максимальна швидкість скорочення міокарда

EDV - кінцево-діастолічний об’єм

EDP – кінцево-діастолічний тиск

dP/dt_{min} - максимальна швидкість розслаблення міокарда

τ_w - ізоволіумічна константа розслаблення міокарда τ за методом Weiss

AE - артеріальна жорсткість

E_{max} - максимальна кінцево-сistolічна жорсткість міокарда

MAP – середній артеріальний тиск

TX – тотальний холестерин

ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності

ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності

ВСТУП

Актуальність проблеми

На сьогодні в світі смертність від серцево-судинних захворювань стоїть на першому місці [1], водночас все більш схожою на епідемію стає проблема ожиріння у населення [2]. При цьому ожиріння є складовою комплексного захворювання, що має назву метаболічний синдром. Зараз у світі надзвичайно актуальним є дослідження цього захворювання, його проявів і порушень в інших органах і системах людини, зокрема серцево-судинної системи [3], підшлункової залози [4], судин [5]. Ключовим фактором для метаболічного синдрому є порушення ліпідного обміну. Водночас одним з грізних супутніх ускладнень є виникнення захворювань серцево-судинної системи, гіпертензії, атеросклерозу, ліпотоксичності, тощо. Однак регуляція ліпідного обміну в серці та великих судинах є малодослідженою, а надто мало відомі генетичні передумови для виникнення функціональних та структурних порушень.

Ряд нещодавніх досліджень зауважують значення білків, що здатні зв'язувати стеролрегуляторні елементи, в фізіології й патофізіології серця, зокрема у розвитку серцевої недостатності [6] [7] [8]. Відомо, що стеролрегуляторні транскрипційні фактори SREBP (SREBP1a, SREBP1c, SREBP2) відіграють ключову роль у внутрішньоклітинній регуляції метаболізму ліпідів, які є одним з основних енергетичних субстратів для клітин серця. Недостатність холестерину індукує внутрішньоклітинне вивільнення SREBP, що регулюють транскрипцію генів, відповідальних за ендогенний синтез ліпідів [9]. Ці транскрипційні фактори мають понад 30 генів-мішеней, в тому числі, Insig-1 та HMGCoAr [10]. Роль SREBP-опосередкованого сигналіngu була здебільшого досліджена в клітинах печінки [11] [12] та інших тканин, проте лише поодинокі роботи було присвячено дослідженню SREBP в клітинах серця. Зокрема, Ho-JinPark та колеги [6] показали зв'язок ліпідного метаболізму та парасимпатичної відповіді у кардіоміоцитах курей та мишей. SREBP також залучені до АКТ/PI3K-залежної сигналізації [13], яка відіграє цитопротекторну роль в міокарді. Останнім часом досліджується генетична

асоціація стеролрегуляторного гена SCAP зі змінами артеріального тиску у дітей з ожирінням [14]. Однак в літературі немає даних стосовно змін SREBP-залежної регуляції при артеріальній гіпертензії. Також не дослідженими є експресія SREBP та його генів-мішеней в серці за умов гіперхолестеринемії.

Виходячи з цих відомостей, актуальним є визначення участі SREBP у порушеннях структури і функції серця і судин при гіперхолестеринемії та артеріальній гіпертензії, а також їх комбінованому впливі, що визначило мету цієї роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Роботу виконано в рамках тем НДР відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України: «Системні та молекулярно-генетичні дослідження механізмів розвитку гіпертрофії та недостатності серця» (№ 01104004753), «Генетичні та епігенетичні механізми регуляції вісцеральних функцій в нормі і при патології» (№ 11-3-12).

Мета дослідження

Встановити участь транскрипційних факторів, що з'єднуються із стеролрегуляторним елементом (SREBF1 і SREBF2), у морфологічних та функціональних змінах серцево-судинної системи спонтанногіпертензивних щурів (SHR) за умов високохолестеринової дієти.

Завдання дослідження

1. Оцінити зміни основних фізіологічних параметрів функціонування серцево-судинної системи за нормальних умов та за умов високохолестеринової дієти у SHR.
2. Визначити зміни ліпопротеїдного складу крові за умов високохолестеринової дієти у SHR.
3. Визначити патогістологічні зміни аорти за умов високохолестеринової дієти у SHR.

4. Визначити рівні експресії генів *SREBF1* і *SREBF2* та їх генів-мішеней *Insig-1* та *HMGCoAr* в тканинах серця нормотензивних щурів лінії Wistar та SHR за умов високохолестеринової дієти.
5. Визначити рівні експресії генів *SREBF1* і *SREBF2* та їх генів-мішеней *Insig-1* та *HMGCoAr* в тканинах печінки нормотензивних щурів лінії Wistar та SHR за умов високохолестеринової дієти.
6. Дослідити зв'язок між поліморфізмом гена *SREBF1* (rs2297508) та виникненням есенціальної гіпертензії у дітей.

Об'єкт дослідження — функціональний стан серцево-судинної системи, а також ліпідний обмін і регуляторні механізми за умов артеріальної гіпертензії та за умов високохолестеринової дієти.

Предмет дослідження — зміни параметрів кардіогемодинаміки, генетичних й біохімічних показників ліпідного обміну в тканинах серця за умов артеріальної гіпертензії та за умов високохолестеринової дієти.

Наукова новизна

В роботі вперше досліджено вплив високохолестеринової дієти на функцію серцево-судинної системи за умов артеріальної гіпертензії. Показано протективний ефект високохолестеринової дієти за умов гіпертензії, що проявилось в порівняно кращих показниках параметрів функціонування серцево-судинної системи. Водночас нами вперше виявлено та охарактеризовано зміни у рівнях експресії генів *SREBF1* та *SREBF2* та їх генів-мішеней *Insig-1* та *HMGCoA* редуктази в клітинах серця, як за умов гіпертензії, так і за умов високохолестеринової дієти. Також нами вперше було змодельовано і виявлено в ході гістологічних досліджень стінки аорти перші ознаки атерогенезу у щурів за умов артеріальної гіпертензії та високохолестеринової дієти.

Теоретичне та практичне значення роботи

Дані, отримані в ході роботи, мають як теоретичну (фундаментальну) цінність, так і практичну. Визначення змін функціонального стану серцево-

судинної системи в умовах сполученої дії патологічних факторів є внеском до фундаментальних відомостей щодо стеролрегуляторних механізмів регуляції ліпідного обміну при артеріальній гіпертензії, гіперхолестеринемії, в тому числі аліментарного походження. Одержані результати є засадою для наступних досліджень спільного впливу цих чинників і покращення розуміння роботи серцево-судинної системи, компенсаторних механізмів, які задіяні при зміні ліпідного складу крові і артеріального тиску, а також розвитку адаптації до змінених умов існування організму. Дослідження спільного впливу є необхідною умовою для розуміння реакцій організму на фактори, що можуть сукупно впливати на нього в середовищі існування.

Практична цінність отриманих даних полягає в створенні засад для розробки й корекції методів профілактики й лікування захворювань серцево-судинної системи, з огляду на синдромокомплекс метаболічного синдрому. Отримані відомості можуть бути впроваджені в навчальний процес освітніх закладів біологічного, медичного, педагогічного та спортивного профілю, зокрема, в такі дисципліни, як фізіологія, патофізіологія, кардіологія, ендокринологія, основи безпеки життєдіяльності, дієтологія та валеологія тощо.

Особистий внесок здобувача

Здобувачем спільно з науковим керівником було сформульовано мету і задачі дослідження, розроблено експериментальну модель і протоколи проведення досліджень, сформульовано висновки. Здобувач особисто проводив всі етапи експериментальної роботи: моделювання експериментального впливу, визначення параметрів кардіогемодинаміки, ліпідної формули, експресії генів, аналіз й статистичну обробку даних. Ряд експериментів було проведено спільно зі співробітниками Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, які є співавторами опублікованих робіт.

Апробація результатів дисертації

Результати роботи доповідалися на профільних наукових форумах: VII Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів та наук.-практ. конф. з міжн. участю, присв. 110-річчю з дня нар. М.Н. Зайка «Інтегративні

механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики», 11-12 жовтня 2018 р. (Полтава); Наук.-практ. конф. з міжн. участю «Вікові та хронобіологічні аспекти медицини і фармації», 4-5 жовтня 2018 р. (Чернівці); ESC Congress 2017, 26-30 Aug 2017 (Barcelona, Spain); 51st Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation, 17th - 19th May 2017 (Genoa, Italy); VI Chronic Hypoxia Symposium, Oct 10 - 16, 2016, (LaPaz, Bolivia); Frontiers in Cardio Vascular Biology 2016 (Barcelona, Spain); VII Нац. конгресі патофізіологів України з міжнар. участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції», присв. пам'яті академіка НАНУ О.О. Мойбенка, 5-7 жовтня 2016 р., (Харків); 25th Anniversary of the FEPS, 168th Anniversary of French Physiological Society, June 29th – July 1st 2016 (Paris, France); Third young physiologists and biophysicists conference: “Physiology: from molecules to the body” Kyiv, 2013; VI Нац. конгресі патофізіологів України з міжнар. участю, 3-5 жовтня 2012 р. (Сімферополь-Місхор).

Публікації

Матеріали дисертації опубліковано у 17 наукових працях, в тому числі 8 статтях у наукових журналах, а також 9 тезах доповідей, в тому числі 5 – на зарубіжних конференціях.

Структура та обсяг дисертації

Дисертація складається із вступу, основної частини (огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, 5 розділів результатів досліджень, аналізу результатів та їх обговорення), висновків та списку використаних джерел (156 найменувань). Робота викладена на 145 сторінках машинописного тексту та проілюстрована 72 рисунками.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Ліпідне навантаження та артеріальна гіпертензія

Жирова тканина є важливою частиною організму, одним з основних регуляторів енергетичного балансу й разом з печінкою – ключовим регулятором запасання, синтезу та метаболізму ліпідів. Інша її важлива функція це секретування різноманітних біологічно активних речовин, адипокінів, що здатні впливати на весь організм [15].

Формування жирової тканини й процес проліферації адипоцитів відбувається протягом всього життя [16], звідси він є об'єктом постійної регуляції багатьма транскрипційними й нетранскрипційними факторами [17]. Є різні стадії дозрівання адипоцитів включаючи мітотичну експансію (mitotic clonal expansion, MCE), після якого відбувається припинення росту. Період мітотичної експансії, як припускають використовується для розкручування спіралі ДНК та отримання доступу транскрипційними факторами до генів-мішеней, й відповідно подальшої диференціації адипоцитів [18]. До таких транскрипційних факторів відносяться інтегрини та гени раннього адипогенезу, такі як протеїн b здатний зв'язувати ССААТ/посилувач (C/EBPb) та C/EBPd, що опосередковують транскрипційну активацію гамма рецепторів, що активуються проліфераторами пероксисом (PPAR) γ , та C/EBPa, які є головними регуляторами диференціації адипоцитів та ліпогенезу [19]. Цей етап в адипогенезі є критичним, тому, що помилки під час нього можуть призвести до порушень нормального дозрівання. Такі помилки можуть виникати, наприклад, внаслідок високоенергетичної дієти. Тут варто зазначити, що один з ключових регуляторів функції й метаболізму жирової тканини – PPAR γ також приймає участь в регуляції бета-окиснення жирних кислот, зменшення активності якого є одним з симптомів, що асоціюють з ожирінням [20], також надекспресія PPAR γ у трансгенних мишей індукувала зростання активності бета-окиснення жирних кислот та розсіювання енергії, що мало протективний ефект при індукованому дієтою ожирінні та порушеннях нормального запасання жирів [21].

Однією з можливих патологій жирової тканини є експансія жирової тканини, яка здійснюється шляхом гіпертрофії, створюючи при цьому так звані «великі» адипоцити, на відміну від нормальних, або «маленьких», що утворюються внаслідок гіперплазії. Вони відрізняються між собою метаболічною активністю, зокрема вищою концентрацією й активністю ERK1 та ERK2 [22], а також у зниженні концентрації холестерину в клітинній мембрані внаслідок його переміщення в жирові вакуолі. Й експериментально показаний зв'язок між зниженням концентрації холестерину в плазматичній мембрані з ангіотензиногеном та генами прозапальних цитокінів [23]. Також є дані, що при експерименті *in-vitro* збільшений викид вільних жирних кислот з культури «великих» адипоцитів стимулював активність макрофагів та наступний розвиток запалення, а запалення зокрема є відомим фактором у розвитку артеріальної гіпертензії [24].

Відомо, що ожиріння є прямим фактором виникнення метаболічних порушень [25], але в деяких випадках це не зовсім так. Так у певної частини людей хворих на ожиріння розвиваються метаболічні порушення, такі як діабет, наприклад, а у іншої частини - ні [26]. І це є доказом того, що така пряма залежність ожиріння й порушень метаболізму не є жорсткою й водночас включає додаткові фактори регуляції, наприклад розподіл жирової тканини. Здатність жирової тканини збільшуватись й розширюватись є ключовою в даному контексті, оскільки, як відомо, запасання жирних кислот в адипоцитах запобігає явищам ліпотоксичності в інших тканинах [27]. Стан ожиріння, як відомо, характеризується порушенням швидкості реакції жирової тканини, а також вірогідним зниженням активності ліпогенезу. А також це є вірогідною причиною для виникнення явищ ліпотоксичності у нежировій тканині, наприклад гепатостеатоз, що є добре відомою ознакою ожиріння [28].

Таким чином, ми можемо припустити, що такі фактори як високожирова дієта можуть стати причиною для розладу функції жирової тканини й можливих подальших ускладнень таких як метаболічні порушення, розвиток артеріальної гіпертензії, тощо.

1.2. Транскрипційний фактор, що зв'язується з стерол-регуляторним елементом (SREBP)

Відкриття SREBP

Джо Гольдштейн та Майк Браун, Нобелівські лауреати в галузі медицини, працювали більш ніж 30 років над відкриттям регуляції холестеринового гомеостазу. Вони відкрили цілий ряд молекул, які здійснюють регуляцію та координацію захоплення екстрацелюлярного холестерину та його синтезу в клітині. І, як часто буває в науці, вони отримали несподівані результати в процесі досліджень, а саме будови та функцій внутрішньоклітинних мембран. Серед цих відкриттів були не тільки білки SREBP, а й протеїн, що активує вивільнення SREBP (SCAP) та інсулін-індукований ген 1 (Insig-1 protein), а також відомі на сьогодні механізми чутливості до холестерину та його регуляції в клітині [29].

Відкриття потребувало років досліджень й зусиль багатьох вчених. Першим відкриттям була ідентифікація 42-bp послідовності в енансерному регіоні промотора LDL рецептора, що забезпечував стерол-регульовану транскрипцію, за умов вставлення в гетерологічний промотор. Подальші дослідження цієї послідовності виявили ключовий 10-bp компонент, який був названий стерол-регуляторним елементом (SRE) [29]. Після цього з культури HeLa клітин було виділено ядерний протеїн, що специфічно з'єднується зі SRE [30]. Цей протеїн було названо протеїн, що з'єднується зі стерол-регуляторним елементом (SREBP) [31].

Будова SREBP

Сімейство SREBP складається з білків SREBP-1 та SREBP-2, що синтезуються як мембранні протеїни в ендоплазматичному ретикулумі (ЕР). Вони відносяться до широкого класу транскрипційних факторів, що містять базовий мотив спіраль-петля-спіраль лейциновий зіппер (bHLH-Zip). На відміну від інших представників родини транскрипційних факторів bHLH-Zip, новосинтезовані

молекули SREBP знаходяться в ендоплазматичному ретикулумі, як неактивні попередники [32].

До сімейства SREBP відносяться три субтипи SREBP-1a та SREBP-1c, що утворюються завдяки альтернативному сплайсингу та SREBP-2. SREBP-1c, який експресується у більшості тканин, має більш низьку активність ніж SREBP-1a внаслідок більш короткого N-кінцевого трансактиваційного домену, а також він відповідає за метаболізм жирних кислот та триацилгліцеридів. SREBP-2, як вважається, відповідає за регуляцію холестеринового метаболізму. Така функціональна різниця знаходить своє відображення в експресії в різних органах і тканинах, так SREBP-1 найбільше експресується у печінці та наднирниках, тоді як SREBP-2 експресується в усіх тканинах. Аналіз промоторів генів показав, що експресія більшості генів ензимів необхідних для біосинтезу холестерину регулюється здебільшого через SREBP-2 [33], зокрема скваленсинтаза, HMG-CoAредуктаза, регуляторний ензим у синтезі холестерину, ген рецептору до ліпопротеїнів низької щільності тощо. Молекулярні механізми, що забезпечують діяльність молекул SREBP, незважаючи на їх різні ролі у метаболізмі ліпідів, однакові – молекули SREBP синтезуються як мембранні протеїни ендоплазматичного ретикулуму, які піддаються протеолітичному розщепленню і набувають активної форми у вигляді транскрипційного фактору, включаючи N-кінцевий bHLH-Zip домен. Хоча кожна ізоформа і має власний окремий регуляторний механізм, регуляція холестерину опосередкована молекулами SREBP-2 пов'язана з залежним від рівнів холестерину механізмом вивільнення цих молекул з ендоплазматичного ретикулуму. Протеїн, що активує вивільнення SREBP (SCAP), функціонує як холестеринний сенсор. Коли рівень холестерину в клітині знижується, SCAP приєднується й ескортує SREBP в COPII везикулах до апарату Гольджі, де сайт-1- та сайт-2-протеази розщеплюють молекулу COPII [34].

Після відновлення клітинних рівнів холестерину інший ключовий регулятор мембранних протеїнів в ендоплазматичному ретикулумі – Insig, зв'язує й не дає змоги комплексу SREBP–SCAP від'єднатись від ендоплазматичного ретикулума,

таким чином, перешкоджаючи активації SREBP й забезпечуючи зниження біосинтезу холестерину та рецепторів до ліпопротеїнів низької щільності. На відміну від холестеринзалежної регуляції SREBP-2, SREBP-1с регулюється в залежності від умов наявності енергетичного й харчового субстрату - глюкози, для зберігання тригліцеридів [35]. Він відповідає за активацію транскрипції генів, що забезпечують синтез жирних кислот та тригліцеридів, наприклад ацетил-КоА карбоксилаза, синтаза жирних кислот, Elovl-6, десатуразастеарату-КоА. Система SCAP-Insig впливає на розщеплення SREBP-1с, але, на відміну від SREBP-2 залежність від рівнів холестерину не є жорсткою. На додаток, активація транскрипції SREBF-1/2 збільшує експресію мікроРНК-33a/b, що закодовані всередині інтронів генів SREBF2 та SREBF1, відповідно. miR-33a/b здійснює інгібуючий ефект на викид ліпідів та окиснення жирних кислот для забезпечення повернення гомеостазу [36].

Система зі зворотною регуляцією SREBP-2 гарантує забезпечення нормального рівня клітинного холестерину. В той час, як надлишок глюкози здатен кумулятивно активувати SREBP-1с та підвищувати синтез тригліцеридів. Такий розвиток подій пояснює фізіологічну регуляцію транскрипції генів, що забезпечують запасання енергії у відповідь на зміни енергетичного статусу. В ситуації надлишку енергетичних субстратів, ацетил-КоА використовується як субстрат для синтезу жирних кислот та холестерину. В ситуації виснажених енергетичних запасів, ацетил-КоА слугує як паливо для циклу трикарбонових кислот та продукції АТФ через окислення жирних кислот.

SREBP-1с - це ключовий регулятор ланки генів, що відповідальні за запасання енергії, і він може збільшувати розвиток патологій серцево-судинної системи. Фізіологічно, ця система важлива для виживання під час голодування. Однак в сучасному світі, де ожиріння є однією з центральних патологій, ці «ощадливі» гени прискорюють розвиток таких порушень як діабет, гіперліпідемія, та метаболічний синдром [37]. Хронічна активація SREBP-1с у випадках переїдання може, таким чином, спричинювати розвиток ожиріння та супутніх патологій.

SCAP та INSIG

Роль SCAP у переміщенні комплексів SREBP є об'єктом регуляції на трьох рівнях: протеолітичне розщеплення [38], швидка деградація убіквітин-протеасомним шляхом [39], а також сумоїлювання [40].

В ендоплазматичному ретикулумі SREBP зв'язаний зі SCAP. SCAP це мембранний протеїн, що виконує функцію транспорту SREBP з ендоплазматичного ретикулуму до апарату Гольджи [38]. Функція транспортування комплексу SCAP/SREBP регулюється рівнем холестерину завдяки його взаємодії зі стерол-чутливим доменом SCAP [41]. Такий домен мають ряд інших мембранних білків включаючи HMG-CoАредуктазу, Patched, NiemannPickC-1. Також є думка, що холестерин модулює функцію ряду мембранних білків і це спричинює конформаційні зміни в SCAP [34]

Insig людини включає першу та другу ізоформу. Обидва протеїни глибоко занурені у мембрани ендоплазматичного ретикулуму завдяки шести трансмембранним спіралям. Третя й четверта з яких відповідальні за утворенням зв'язку з оксистеролом або SCAP.

Промотор Insig-1 регулюється транскрипційно активним SREBP [42]. Ser-149 в складі Insig-1 та Ser-106 в Insig-2 призводять до різниці у часі їх існування. Період напівжиття Insig-1 менше двох годин у клітинах, що мають оверекспресію Insig-1. У холестерин-виснажених клітинах, Insig-1 деградує щонайменше у 15 разів швидше ніж Insig-2, завдяки убіквітинизації за Lys-156 та Lys-158 [43].

Дослідження в культурах клітин показують, що Insig-1 та Insig-2 мають схожі функції у зв'язуванні HMG-CoАредуктази та SCAP, але експресуються по-різному [44]. Аналіз експресії генів 17 людських типів тканин продемонстрував, що Insig-1 вискоекспресований у печінці, тоді як Insig-2 експресуються у всіх тканинах.

Контроль експресії Insig-1 та -2 ускладнюється ще більше тому, що два ці два білки по різному регулюються в аспекті білкової стабільності. Insig-1 є мішенню для pSREBP (активована частина SREBP, що йде в ядро), і рівень експресії його мРНК корелює з рівнем pSREBP [45], тоді як Insig-2 експресується на нижчому рівні але конституційно, принаймні у клітин в культурі, і негативно регулюється інсуліном [44]. Нещодавні дослідження показали, що Insig-1 швидко убіквітинується та деградується протеасомою, коли в клітині виснажується рівень холестерину, або за дефіциту SCAP. І навпаки, за умов накопичення в клітині холестерину убіквітинізація Insig-1 блокується і протеїн стабілізується. Insig-2 з іншого боку, який є функціональним аналогом Insig-1 деградує повільно, і не залежить від рівню холестерину [46].

Надекспресія Insig-1 у печінці трансгенних мишей інгібує процесинг SREBP і знижує інсулін-залежний ліпогенез [47]. Стабілізація Insig-1 збільшує здатність холестерину інгібувати протеолітичну активацію SREBP-1, що активує транскрипцію генів, залучених до синтезу жирних кислот. У досліді на мутантних клітинах яєчників китайських хом'ячків, які не синтезували ні Insig-1, ні Insig-2, холестерин не був здатний інгібувати процесинг SREBP та стимулювати убіквітинізацію чи деградацію редуктаз, а введення плазмід хоча б одної ізоформи, повністю відновлювало ці функції. Ці дослідження доводять облігатну необхідність участі Insig в регуляторній системі що забезпечує внутрішньоклітинний гомеостаз у тваринних клітинах [48].

Фізіологія та регуляція SREBP

SREBP-1 та SREBP-2 здатні формувати комплекс з іншим протеїном мембрани ендоплазматичного ретикулуму, SREBP-активуючий розщепленням протеїн (SCAP) (рис. 1.1). Формування комплексу є обов'язковою умовою для виходу молекул SREBP з ендоплазматичного ретикулуму та подальшої протеолітичної активації. Коли рівень холестерину в клітині підвищується, його концентрація

зростає і в мембрані ендоплазматичного ретикулуму, при цьому конформація SCAP зазнає змін внаслідок прямого приєднання холестерину до стерол-чутливого домену. Це стимулює SCAP до зв'язування з іншим мембранним протеїном Insig [49]. Таке зв'язування перешкоджає транспортуванню комплексу SREBP/SCAP з ендоплазматичного ретикулуму до комплексу Гольджі.

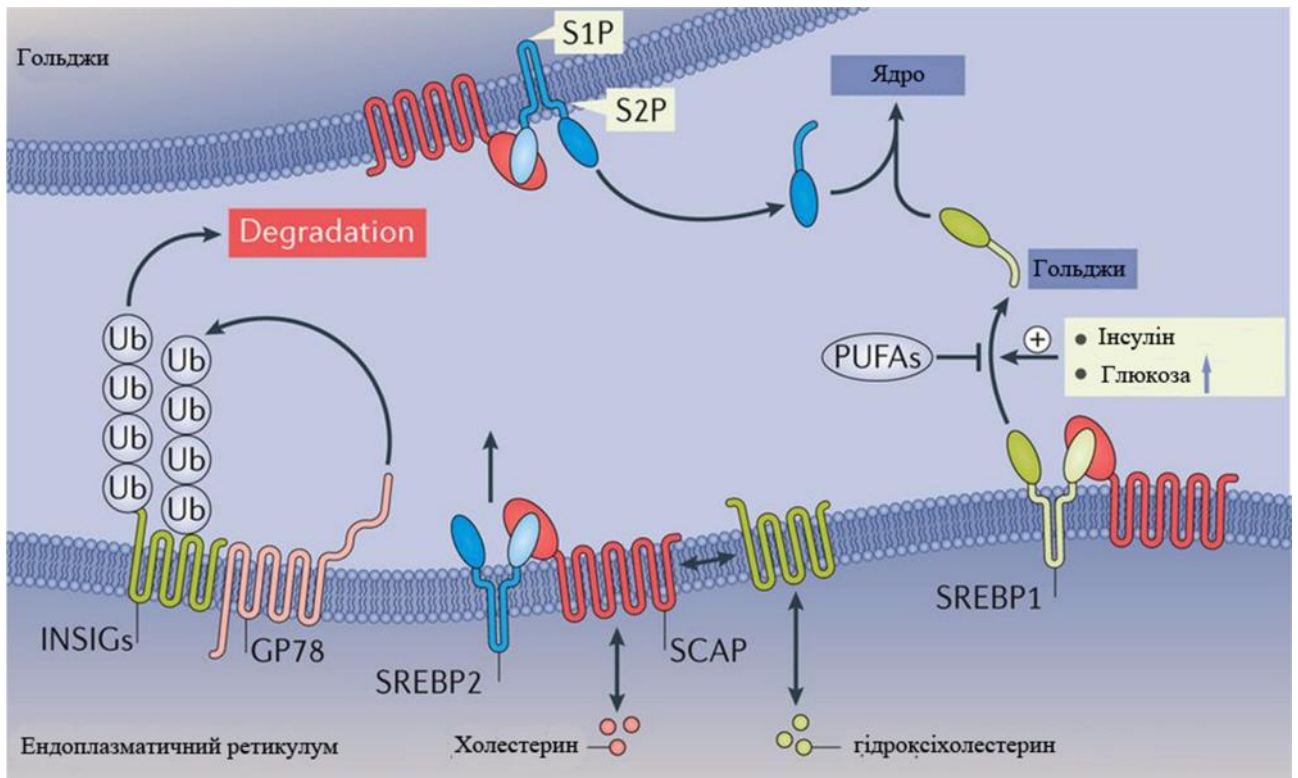


Рис. 1.1. Схема метаболізму SREBP1 та SREBP2 в клітині [50].

Транспортування комплексу SREBP/SCAP з ендоплазматичного ретикулуму до апарату Гольджі.

Коли внутрішньоклітинні запаси холестерину вичерпані, комплекс SREBP/SCAP транспортується до апарату Гольджі, де SREBP процесується двома протеазами, вивільнюючи в результаті активний транскрипційний домен. SCAP має довгу петлю між мембранопронизуючими спіралями 6 та 7, які проєктуються в цитоплазму. Гексапептид MELADL у цій петлі функціонує як сортувальний сигнал SCAP завдяки прямому з'єднанню з одним з COPII протеїнів

- Sec24. В результаті SCAP занурюється в COPII везикулу що від'єднується від ендоплазматичного ретикулума та переміщується в апарат Гольджі [51]. Внаслідок підвищення рівня холестерину SCAP реагує з Insig, що призводить до конформаційних змін в петлі SCAP та попереджує отримання доступу Sec24 до MELADL, і в результаті він залишається в ендоплазматичному ретикулумі. Достеменно невідомо чи однаково приєднується Sec24 до послідовностей MELADL в SCAP, які відповідають за SREBP-1 чи SREBP-2.

В комплексі Гольджі наявні протеази, що здатні розщеплювати SREBP, а саме сайт-1-протеаза (S1P), мембраннозв'язана серинова протеаза, розрізає молекулу SREBP в ділянці люмінальної петлі між двома внутрішньомембранними сегментами. Після цього діє друга мембраннозв'язана протеаза, сайт-2-протеаза (S2P), що відрізає N-кінцевий домен та вивільнює активний транскрипційний фактор з мембрани. Ці дві протеази також необхідні для активації білку чутливого до стресу ендоплазматичного ретикулуму ATF6. Процесинг SREBP зупиняється, якщо заблокувати роботу активності S1P [52]. Перша протеаза необхідна для виникнення конформаційних змін, що дозволять виконати відщеплення активного фрагменту другою протеазою. Важливим моментом також є убезпечення передчасної активації SREBP, це досягається тим, що в ендоплазматичному ретикулумі наявна лише неактивна форма S1P.

Таким чином, N-кінцева частина SREBP (nSREBP) потрапляє в ядро і зв'язується зі стерол регуляторним елементом (SRE) та стимулює експресію таргетних генів. Коли холестерин акумулюється в ендоплазматичній мембрані і підвищується понад чітку межу в 4-5% від тотального ліпідного складу, SCAP зв'язує холестерин, і зв'язується з Insig, що забезпечує зворотну регуляцію активності SREBP [53].

Незважаючи на різні функції лізоформ SREBP в ліпідному метаболізмі, їх метаболізм практично ідентичний. Однак, різницю можна побачити в печінці щурів чи мишей, яких почали знову годувати після голодування. Кількість активної форми SREBP-1 в ядрі, у печінці це здебільшого SREBP-1c, значно

збільшується після вживання їжі багатой на вуглеводи та бідної на жири, у порівнянні з такими без голодування, в той час як рівень SREBP-2 лишається незмінним [54]. Вважається що фактором який зумовлює таку картину є інсулін.

Інсулінзалежна регуляція SREBP.

Печінка це важливе місце синтезу та експорту ліпідів, і SREBP-1с відіграє важливу роль у зростанні синтезу жирних кислот у відповідь на інсулін [32]. Інсулін активує SREBP-1с печінки як транскрипційно так і посттранскрипційно. Інсулін-залежна регуляція транскрипції SREBP-1с потребує LXR зв'язуючих елементів у промоторі SREBP-1с, але точний механізм поки що невідомий. Надекспресія ферменту, що катаболізує оксистерол–холестеринсульфотрансфераза, припиняє інсулін індуковану експресію SREBP-1с, що дозволяє зробити припущення, що інсулін індукована активація опосередковується через активацію LXR. Хоча і інсулін, і агоніст LXR TO-901317 стимулюють транскрипцію SREBP-1с, тільки інсулін забезпечує надійну активацію таргетних генів SREBP, що виявляє критичну роль інсуліну і в посттранскрипційній активації [44].

Взагалі, інсулін-індукований каскад починається з фосфорилювання тирозину в субстраті інсулінового рецептору-1 (IRS-1) або -2 (IRS-2) [55]. IRS, в свою чергу, активує фосфатидилінозитол 3-кіназу (PI3K). PI3K далі реагує і перетворює мембранний фосфоліпід фосфатидилінозитол (4, 5)-бісфосфат (PIP2) на фосфатидилінозитол (3, 4, 5)-трисфосфат (PIP3). PIP3 може взаємодіяти з Akt, індукуючи трансфер Akt на мембрану і його активацію. Akt це важлива серин/треоніновакіназа, чиї функції пов'язані з проліферацією та виживанням, розміром клітин, ангіогенезом, метаболізмом та міграцією [56]. Добре відомо, що інсулін може індукувати ліпогенез *de novo* і регулювати активність ліпогенних ензимів. Також є ряд доказів, що свідчать про здатність інсуліну регулювати метаболізм SREBP на багатьох рівнях включаючи транскрипцію, протеолітичний процесинг, стабільність та наявність nSREBP.

Інсулін-індукована активація SREBP-1c опосередковується через фосфатидилінозитол 3-кіназу, кіназу мішені рапаміцину у ссавців (mTOR) є основним ефектором через який опосередковується вплив PI3K/Akt каскаду. Активація PI3K/Akt призводить до прямого фосфорилювання комплексу трубчастого склерозу 1/2 (TSC1/2) і фармакологічного засобу PRAS40, який використовується для визначення залежності від mTOR. Варто зазначити, що інгібування mTOR варіює в різних типах клітин ускладнюючи дослідження впливу SREBP на mTOR. Наприклад, рапаміцин інгібує інсулінзалежну активацію SREBP в гепатоцитах щура, але навіть у більш високій концентрації це не вдається у NIH3T3 фібробластах мишей [57]. В той час як Torin-1, новий інгібітор mTOR, надійно блокує активацію SREBP у фібробластах мишей. Загалом можна сказати, що mTOR задіяний у забезпеченні інсулінзалежної активації SREBP.

Експериментальні роботи з використанням генетично модифікованих мишей доводять, що mTORC1 є ключовим регулятором через який опосередковується каскад PI3K/Akt. У нокаutowаних за Tsc1/2 ембріональних фібробластів мишей (MEFs), mTORC1 є конститутивно активним і незалежним від впливу попередників у каскаді. SREBP-1c активний у MEFs, водночас його активація може бути пригнічена за допомогою рапаміцину, що говорить про достатність активації mTORC1 за допомогою Tsc1/2 для стимуляції активності SREBP-1 [58]. Так само інактивація mTORC1 призводить до інгібування SREBP-1 та ліпогенезу. Інактивація mTORC1 в печінці шляхом нокаутування субодиниці Raptor захищає організм мишей від гепатостеатозу зумовленого дієтою збагаченою жиром та холестериним [57]. Інгібування S6 кінази, мішені mTORC1, інгібує процесинг SREBP-1 у нокаutowаних за Tsc1/2 MEFs [58], але не досягає результату в інсулін-індукованій активації SREBP-1c в гепатоцитах щура [55], що може свідчити про існування незалежної від S6 кінази регуляції SREBP-1c через mTORC1. Загалом ці дослідження свідчать про наявність іншого механізму регуляції SREBP-1c через mTORC1.

Під час голодування (низький рівень інсуліну) спостерігається підвищена транскрипція та трансляція Insig-2 у мишей. Цей механізм забезпечує блокування транспорту SREBP-1 до комплексу Гольджи та його подальшу активацію. Концентрація як мРНК, так і білка Insig-1 при цьому зменшена, так як він є геном-мішенню SREBP-1. Після відновлення харчування (високий рівень холестерину), транскрипція Insig-2 пригнічується, і він швидко деградує шляхом gp78-індукованої убіквітинізації [59], водночас активується SREBP-1, це забезпечує відновлення концентрації Insig-1. Такі результати показують, що інсулін може впливати на SREBP через регуляцію Insig-2.

1.3. Роль SREBP у розвитку патологічних процесів

Накопичення ліпідів пов'язане з функціональними порушеннями у різних органах та тканинах часто називають ліпотоксичністю [60]. Стеатоз печінки пов'язаний з інсулінорезистентністю печінки та проявами ліпотоксичності у бета-клітинах острівців Лангерганса, обидва ці фактори впливають на розвиток діабету. SREBP-1с контролює ендогенний синтез жирних кислот [61]. Можна припустити, що хронічний дисбаланс в енергетичному метаболізмі буде спричиняти хронічній активації SREBP-1с, який, в свою чергу, буде стимулювати розвиток гепатостеатозу та панкреатичної дисфункції бета-клітин [62].

Цукровий діабет

SREBP здатен прямо пригнічувати транскрипцію субстрату інсулінового рецептору 2 (IRS-2), основної сигнальної молекули інсуліну в печінці та панкреатичних бета-клітинах [63]. Придушення IRS-2 в печінці інгібує процеси, які регулюються інсулінзалежними механізмами, зокрема синтез глікогену, а також стимулює фізіологічний процес переключення з синтезу глікогену до синтезу жирних кислот після відновлення енергетичних запасів в організмі. Хронічна активація SREBP-1с в печінці, гіпертригліцеридемія, та інсулінорезистентність призводять до розвитку метаболічного синдрому.

Активация SREBP-1c спричинює дисфункцію бета-клітин, що веде до порушення секреції інсуліну [64]. IRS-2 це ключова молекула, що забезпечує збереження маси панкреатичних бета-клітин, регулюючи життєдіяльність та, можливо, проліферацію цих клітин. Зменшення маси бета-клітин є одним з основних факторів у розвитку діабету. SREBP-1c, інгібуючи IRS-2, впливає на масу бета-клітин та провокує розвиток діабету. Іншими факторами на які може впливати SREBP-1c, провокуючи розвиток діабету, це екзоцитоз інсулінвмісних гранул за допомогою роз'єднуючого протеїну-2 через поглинання АТФ, та грануфіліну через інгібування механізмів везикулярного з'єднання [65].

Діабет другого типу

Частота випадків цукрового діабету другого типу зросла через епідемію ожиріння, прогнозується, що кількість хворих на діабет досягне чверті населення США в 2050. Для діабету другого типу характерна гіперінсулінемія, гіперглікемія та гіпертригліцеридемія, а також гепатостеатоз, який може призвести до цирозу та печінкової недостатності. Регуляція печінкового SREBP-1c інсуліном, та факт, що гіперактивація SREBP-1 індукує гепатостеатоз дозволяє припустити, що SREBP грає центральну роль у розвитку ожиріння печінки. Horton та колеги продемонстрували, що SREBP є ключовим у розвитку гепатостеатозу на прикладі генетичних та аліментарних моделей розвитку ожиріння у гризунів [66]. Нокаут SCAP у печінці, специфічного транспортера SREBP, знижує активність всіх трьох ізоформ SREBP й попереджає стеатоз у мишей. На додаток, нокдаун печінкового SCAP за допомогою siRNA пригнічує розвиток гіпертригліцеридемії індукованої вуглеводами у генетичної моделі ожиріння у хом'яків, що демонструє терапевтичний потенціал інгібування SREBP-залежного шляху. Цікавим є також той факт, що існують докази зворотньої регуляції інсулінового сигналіngu від SREBP. Ядерна форма SREBP може знижувати експресію IRS-2, інгібувати PI3K/Akt шлях, а також знижувати синтез глікогену. Підтверджуючи

це, висока активність SREBP-1c внаслідок гіперінсулінемії негативно корелює з рівнями експресії IRS-2 у генетично модифікованих мишей з ожирінням [44]. Ці дані дозволяють говорити про вклад SREBP у розвиток печінкової інсулінорезистентності, однак дані з досліджень нокауту печінкового SCAP свідчать про інше, що не дивлячись на попередження стеатозу внаслідок нокауту, ефекту на печінкову

Нефропатія

Припускають, що гломерулярний SREBP-1c пов'язаний з розвитком діабетичної нефропатії та гломерулопатії асоційованою з гіперліпідемією, через активацію активних форм кисню, НАДФ оксидази і таким чином впливаючи на перетворення фактору росту-b [67].

Ожиріння

SREBP-1c відомий також як ADD1, який був виділений, як регулятор адіпогенезу [68]. Водночас уявлення про роль SREBP-1c в адіпогенезі наразі контрверсійні.

В адипоцитах 3T3L1 оверекспресія ADD1/SREBP-1c дещо підвищує накопичення тригліцеридів. Однак, хронічна активація SREBP-1c в жировій тканині трансгенних мишей з порушеним адіпогенезом викликає ліподистрофічний фенотип [69], з огляду на це можна припустити що неадекватна активація SREBP-1c порушує нормальний адіпогенез. Однак, ні адіпогенез, ні ліпогенез не був змінений у мишей з нокаутуванням SREBP-1c [70], що свідчить про те, що його хронічна відсутність може бути компенсована іншими факторами, потенційно SREBP-2. Експресія SREBP-1c була неочікувано пригнічена у ob/ob мишей з гіпертрофованими жировими тканинами [71]. Ці дані суперечать поширеним уявленням про роль SREBP-1c в адіпогенезі. Не дивлячись на те, що вірогідно SREBP-1c/ADD1 впливає на адіпогенез та ліпогенез у нормальних адипоцитах, час та рівень впливу SREBP-1c важливі для ефекту на функцію адипоциту. Ген, що кодує циклінзалежний кіназний інгібітор p21 є мішенню SREBP [72]. Цей зв'язок дає можливість

пов'язати регуляцію ліпідного циклу з клітинним ростом. В адипоцитах p21 приймає участь в адипогенезі та розвитку ожиріння пов'язаного з інсулінореозистентністю [73]. Водночас точна роль SREBP-1c/ADD1 ще не визначена.

Ліпотоксичність

Метаболічний синдром, причиною якого по суті є дисбаланс між нутрієнтами, які організм отримує та енергією, яка витрачається, пов'язаний з утворенням нетипових депо ліпідів (стеатоз) у нежировій тканині, наприклад підшлункова залоза, нирки, судини, печінка, скелетні м'язи, та серце. Не дивлячись на те, що ці органи можуть на початкових стадіях зберігати якусь частину цього профіциту енергії у вигляді тригліцеридів, надлишок ліпідів в решті решт зміщує метаболізм в неоксидативні шляхи, що призводить до накопичення токсичних форм ліпідів, які змінюють клітинний сигналінг, сприяють виникненню мітохондріальної дисфункції та збільшують апоптоз [74]. Однак, порядок, розвиток і роль кожної з цих клітинних змін в розвитку ліпотоксичності чітко не визначена та залежить від композиції ліпідів та різниться між типами клітин [75].

Гіпергліцеридемія та підвищена кількість циркулюючих вільних жирних кислот корелює з розвитком ліпотоксичності у багатьох тканинах, зокрема печінці та бета-клітинах, але необов'язково у серці [76]. На додаток до підвищеної концентрації ліпідів, супутня гіперглікемія та підвищена концентрація прозапальних цитокінів може прискорювати розвиток клітинної дисфункції та смерті. Це об'єднується концепцією глюколіпотоксичності [77]. Так, численні механізми можуть призводити до порушення серцевої функції розвитку ожиріння та діабету [78]

Ожиріння впливає на структуру та функцію серця багатьма шляхами. Серцеві тригліцериди позитивно корелюють з індексом маси тіла, масою лівого шлуночка в осіб з порушеною толерантністю до глюкози чи ожирінням та зворотно корелюють з систолічною функцією [79]. Ожиріння пов'язане як зі

структурними, так і з функціональними змінами в серці, включаючи лівошлуночкову гіпертрофію, контрактильну дисфункцію, апоптоз, фіброз, надлишкове накопичення ліпідів, переключення метаболічних субстратів, тощо [78].

Порушення у різноманітних клітинних молекулярних шляхах, таких як стрес ендоплазматичного ретикулуму [80] та мітохондріальна дисфункція [81], відносять до ліпідіндукованих змін функції кардіоміоцитів. Численні молекулярні медіатори, які наразі досліджуються, зокрема активні форми кисню [82], монооксид азоту [83], цераміди [84], фосфатидилінозитол-3-кіназа, ліганди ядерних рецепторів до PPAR [85], та інші адіпокіни були запропоновані в якості медіаторів ліпотоксичних ефектів.

Окремо варто зазначити роль SREBP-1 в індукції ліпотоксичності, його надмірна активація є одним з факторів, що обумовлює виникнення таких метаболічних патологій, як ожиріння, цукровий діабет, гепатостеатоз [50]. Водночас є дані, що вказують на позитивну роль SREBP у захисті від ліпотоксичності, оскільки *de novo* ліпогенез, опосередкований SREBP, дозволяє перетворювати більш токсичні метаболіти жирних кислот, такі як вільні жирні кислоти, ацилкарнітини, ацил-КоА та цераміди на набагато безпечніші тригліцериди [86]. Саме тому накопичення тригліцеридів можна розглядати, як одну з первинних захисних реакцій клітин для уникнення ліпотоксичності [87], що однак не виключає негативного впливу на клітину, зокрема її функцію в організмі, внаслідок такого накопичення. Відповідно до цих даних надмірна або патологічна активація SREBP-залежної ланки ліпогенезу є маркером розвитку ліпотоксичності в клітинах, а можливо і фактором.

Дослідження ролі насичених та ненасичених жирних кислот у функціонуванні кардіоміоцитів виявило, що пальмітоолеїнова чи олеїнова жирні кислоти не впливають на виживання клітин, в той час як обробка пальмовою чи стеариновою жирними кислотами протягом доби викликають апоптоз [88]. Обробка культури кардіоміоцитів, подібно до досліджень бета-клітин,

надлишками насичених жирних кислот призводить до акумуляції керамідів та клітинної смерті [89]. Підвищення концентрації керамідів викликає апоптоз через вивільнення цитохрому С з мітохондрій. Пряме використання керамідів або підвищення синтезу керамідів за допомогою цитокінзалежної активації синтезу сфінголіпідів може призвести до апоптозу в кардіоміоцитах [90], через вивільнення цитохрому С.

Нещодавно було показано, що циркулюючі фактори, зокрема адіпокіни можуть викликати кардіоспецифічні ефекти. Адіпонектин та лептин це сигнальні молекули, похідні з жирової тканини, які є важливими регуляторами енергетичного метаболізму. Обробка адіпонектином інтактного неонатального серця чи культури кардіоміоцитів [91] викликає підвищення окиснення жирних кислот. Потенційна кардіоспецифічна роль адіпонектину підтверджується також тим фактом, що адіпонектин накопичується в міокарді після ішемічного ушкодження [92]. Таке накопичення може мати кардіопротективну роль через інгібування експресії індукцибельної NO-синтази (iNOS) та НАДФ-оксидази, що зменшує оксидативний стрес. Низький рівень адіпонектину в плазмі крові при діабеті, патологіях коронарних артерій, постінфарктному періоді [93] корелює з підвищеним кардіоваскулярним ризиком. Ожиріння у тварин і у людей пов'язують зі зниженням концентрації адіпонектину в крові [94]. Разом ці факти свідчать про те, що частиною ускладнень ожиріння є порушення сигналінгу адіпонектину.

Одним з супутніх факторів ожиріння є гіперлептинемія [95]. На додаток до відомих функцій лептину на відчуття ситості завдяки своєму впливу на центральну нервову систему, лептин також здатен підвищувати окиснення жирних кислот в жировій тканині, печінці, скелетних м'язах, серці [96] тощо. Також припускають, що лептинорезистентність яка розвивається при ожирінні є специфічною відносно його метаболічних функцій [97]. Ізольовані скелетні м'язи від осіб, що страждали ожирінням мали притуплену відповідь на лептин-залежне окиснення жирних кислот [98]. Лептинзалежна гіпертрофія в культурі неонатальних кардіоміоцитів зумовлена ендотеліном-1 викликає підвищення

концентрації активних форм кисню [99]. Культура кардіоміоцитів однак отримує протективний від впливу перекису водню ефект [100]. Таким чином лептин може бути медіатором складних взаємозв'язків між клітинним редокс станом та клітинною гіпертрофією чи апоптозом. Але чи вплив лептину на серце модулює утилізацію субстрату, чи оксидативний стрес в серці при ожирінні невідомо і потребує досліджень. Але ці дані свідчать про підтримку думки, що деякі зміни у серці у відповідь на надлишок ліпідів можуть бути непрямо регульовані сигналами з жирової тканини.

Ці дослідження *in vitro* дають змогу стверджувати, що утилізація надлишку ліпідів може призводити до клітинної смерті, що потребує однак виявлення механізмів, зокрема й на моделях *in vivo*.

Накопичення ліпідів в кардіоміоцитах у людей хворих на ожиріння та діабет

Кореляцію між міокардіальним накопиченням ліпідів та порушенням серцевої функції помічали вже більше ніж 150 років. Однак, тільки нещодавно відродився інтерес до такого зв'язку між накопиченням ліпідів та порушенням серцевої функції [101]. Вивчення ліпідного складу та характеру утилізації субстрату наразі переходить з моделей гризунів з ожирінням до досліджень людей з такими патологіями. Інтраміокардіальне накопичення ліпідів при недостатності серця багато в чому нагадує модель серця щура з розвиненою ліпотоксичністю [102]. Порівнюючи здорових і худих людей з тими, хто має розвинуте ожиріння (індекс маси тіла, 28-33 кг/м²), можна помітити, що накопичення тригліцеридів зі збільшенням маси тіла схоже передуює гіпертрофії лівого шлуночка [103]. Було виявлено, що міокардіальне накопичення ліпідів збільшується у хворих на ожиріння, з порушеною толерантністю до глюкози та хворих на діабет, і передуює розвитку діабету, гіпертрофії лівого шлуночку чи систолічної дисфункції, до того ж пов'язане з діастолічною дисфункцією [104].

Міокардіальний пул тригліцеридів дуже динамічний і може збільшуватися в три рази за 48 годин голодування у здорових людей [105], у 4 рази за 3 дні

голодування, або від 55% до 2 разів при обмеженні калорій у здорових людей [106]. Однак, у здорових людей не спостерігається накопичення ліпідів в тканинах серця після одного прийому їжі багатої на жири, навіть, не дивлячись на двократне збільшення рівню тригліцеридів у плазмі, навіть за умов триденної високоенергетичної та багатої на жири дієти [107]. В деяких з цих короткотермінових дослідженнях було виявлено кореляція з порушенням діастолічної функції [106]. Таким чином, у худих людей голодування чи обмеження калорій збільшує накопичення тригліцеридів, в той час як короткотермінове вживання надлишку ліпідів не викликає змін. У людей з діабетом другого типу триденне обмеження калорій викликало збільшення концентрації тригліцеридів в міокарді й погіршило діастолічну функцію лівого шлуночку [108]. Однак, після 16 тижнів обмеження калорій у людей хворих на діабет, рівень міокардіальних тригліцеридів впав, й спостерігалось відновлення діастолічної функції поряд з нормалізацією толерантності до глюкози [109]. Лікування худих людей, хворих на діабет за допомогою метформіну чи тіазолідону, піоглітазону покращувало функцію серця, не змінюючи при цьому серцевий метаболізм чи вміст тригліцеридів [110]. Ці дослідження ілюструють те, що пул серцевих тригліцеридів динамічний і чутливий до змін харчування, але знову ж таки не показують прямого впливу акумуляції тригліцеридів на функцію серця, але, водночас, можуть бути біомаркером певних змін в міокарді, пов'язаних з виникненням ліпотоксичності, як описано вище.

У пацієнтів з артеріальною гіпертензією надлишкова вага є фактором, що корелює з меншою смертністю, та ускладненнями пов'язаними з функцією серця, у порівнянні з худими пацієнтами [111]. Ці дані співзвучні з дослідженнями, що проводилися на щурах, у яких виявлено протективний ефект високожирової дієти після перенесеного інфаркту міокарду чи таких, що мають артеріальну гіпертензію [112]. Варто відмітити, що найбільша смертність була, як у самих худих так і з найбільш вираженим ожирінням [112], а також, що підвищена смертність в групі худих людей була пов'язана більше зі шкідливими звичками (вживання алкоголю, паління, тощо) ніж з індексом маси

тіла [113]. В будь-якому випадку протективний ефект високожирової дієти існує, але варто зважати на те, що розвиток ожиріння підвищує ризик розвитку патологій серцево судинної системи, і механізм внаслідок якого виникає «парадокс ожиріння» потребує додаткових досліджень.

Шлуночкова аритмія

Парасимпатична стимуляція в серці викликає активацію зчеплених з G-білком калієвих каналів внутрішнього випрямлення 1/4. Цей канал є новою мішенню SREBP [6]. Регуляція відповіді на парасимпатичну стимуляцію в серці і розвиток шлуночкової аритмії, особливо після інфаркту міокарду, може регулюватися за допомогою міокардіального SREBP-1с, що свідчить про зв'язок між метаболізмом ліпідів та парасимпатичною відповіддю, що може грати роль в аритмогенезі. Роль SREBP у регуляції калієвих каналів була виявлена, зокрема, і при дослідженнях бета-клітин, що overeкспресують SREBP-1с, в контексті впливу на порушення інсулінової секреції.

Онкологія

Підвищений синтез ліпідів *de novo* є одним з маркерів онкології [56]. Експресія декількох генів мішеней SREBP, таких як синтаза жирних кислот чи рецептор до ліпопротеїнів низької щільності підвищена у клітин пухлин. Оскільки пухлинні клітини мають підтримувати синтез ліпідів для пухлинного росту, а SREBP є ключовими регуляторами ліпогенезу, то цілком очевидно, що SREBP є активним і ця ланка клітинного метаболізму є потенційною мішенню для антипухлинної терапії. При вивченні гліобластоми було виявлено, що мутації рецептора епідермального фактора росту та гіперактивація фосфоінозитол-3-кінази стимулюють ріст пухлини та виживання за допомогою стимуляції активності SREBP-1. Блокування споживання холестерину через рецептори до ліпопротеїнів низької щільності пухлинної клітини призводило до клітинної смерті *in vivo* [114]. Не дивлячись на те, що ці дослідження лише опосередковано стосуються SREBP, вони демонструють, що порушення обміну ліпідів є потенційною стратегією лікування раку. Зважаючи на те, що і

споживання холестерину і його синтез *de novo* контролюється через SREBP, його інгібування може бути суттєвою ланкою протипухлинної терапії.

Нещодавно, було встановлено прямі взаємовідносини між пухлинним супресором p53 та SREBP. У гені p53 при багатьох онкологічних захворюваннях людей виявляють мутацію TP53, яка є найбільш частою мутацією в пухлинах (>50% TP53). Більшість мутацій це міссенс-мутації, наслідком яких є експресія мутантного p53 з пролонгованим періодом напівжиття та зміненою функціональною активністю [115]. За допомогою 3Д-культури раку грудей було продемонстровано, що мутантний p53 стимулює синтез ліпідів мевалонатним шляхом для забезпечення злоякісного фенотипу. Ці дані дають змогу припустити, що p53 взаємодіє з промотором ліпідних ензимів через взаємодію зі SREBP, а також те, що в пухлинах, які мають мутантний p53, мевалонатний шлях є потенційною мішенню для терапії. Разом ці дані дають уявлення про роль SREBP у туморогенезі, а також показують його як можливу ціль для протипухлинної терапії.

Імунна система

В імунній системі фагоцитоз є одним з основних механізмів для знешкодження мікроорганізмів. Фагоцитоз потребує біогенезу мембрану задля компенсації втрат плазматичної мембрани, що охоплює екзооб'єкти. Тому фагоцитоз здатен стимулювати біогенез мембран, активуючи процесинг SREBP-1a та SREBP-2 [32]. SREBP-1a активується внаслідок дії бактеріального подразника, що зумовлює пряму стимуляцію експресії антиапоптотичного гену Aрі6 та забезпечення клітинного виживання [116]. Порівняно з SREBP-1c, експресія SREBP-1a у метаболічно активних тканинах порівняно низька і механізми його регуляції здебільшого маловідомі, однак нещодавно було виявлено, що в клітинах імунної системи (макрофаги та дендритні клітини), SREBP-1a високоекспресований [117]. У макрофагах при стимуляції ліпосахаридами починається ліпогенез, але у тварин нокаutowаних за SREBP-1a цього не відбувається. Аналіз SREBP-1a промотора виявив елементи, що зв'язують NF-

кВ. Експерименти з використанням імунопреципітації хроматину у макрофагів показали, що макрофаги використовують опосередкований NF-кВ шлях для активації SREBP-1a і подальшої активації ліпогенезу.

Нейропротекція

Нейрональна ексайтотоксичність спричинена оверактивацією N-метил-D-аспартатними рецепторами є основним нейропатологічним процесом, який призводить до нейрональних ушкоджень після інсульту чи травматичних ушкоджень мозку. Активація SREBP-1 це ключовий крок в індукції клітинної смерті, опосередкований оверактивацією N-метил-D-аспартатних рецепторів [118]. Стимуляція процесингу SREBP-1 відбувається за рахунок деградації Insig-1. Водночас, введення Insig-1-похідного інтерферуючого пептиду, що блокує деградацію Insig-1 і відповідно блокує активацію SREBP-1, зменшує нейрональні ушкодження у модельних тварин з інсультом. Однак, механізм впливу SREBP-1 на розвиток нейронального пошкодження невідомий.

За останні роки уявлення про ліпідний обмін і пов'язані з його порушеннями патології значно розширилися, так було пов'язано ряд патологій різних систем, в єдину картину метаболічного синдрому. Підґрунтям для цього стало відкриття спільних молекулярно-генетичних механізмів, зокрема регуляторів ліпідного обміну в клітині, а саме SREBP-залежного синтезу ліпідів та холестерину, що задіяні в системних порушеннях нормальної роботи органів та систем.

Але, як показує світовий досвід, підхід до лікування та профілактики окремих патологій метаболічного синдрому, наприклад атеросклерозу, є не досить ефективним, так статини, що блокують ендогенний синтез холестерину в клітині не показали очікуваних клінічних ефектів. Щоб покращити цю ситуацію необхідно більш ґрунтовне розуміння процесів, які відбуваються під час розвитку метаболічного синдрому. Зокрема це стосується необхідності досліджень спільного впливу на організм кількох факторів, таких як порушення ліпідного обміну, артеріальна гіпертензія тощо, так як саме це відповідає

умовам розвитку метаболічного синдрому. З огляду на наведені вище патології, в яких тим чи іншим способом задіяно SREBP й опосередковану ним регуляцію, ми вбачаємо необхідним дослідити роль SREBP в умовах поєднаного впливу гіперхолестеринемії та артеріальної гіпертензії, що є на нашу думку перспективним для кращого розуміння змін ліпідного метаболізму, а саме його ендогенної ланки, а також для подальших перспектив профілактичного й терапевтичного впливу на організм людини за даних умов.

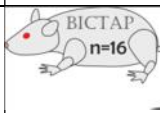
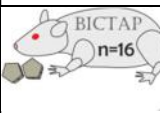
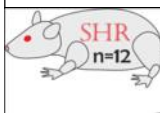

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Експериментальні умови

Експерименти проводилися на 6-місячних щурах лінії Wistar та спонтанногіпертензивних щурах (SHR), всі щури взяті в експеримент були чоловічої статі. Для індукування атерогенезу тварини були переведені на стандартний раціон гризунів збагачений холестеринном до 3%, термін годування склав 8 тижнів. Схема експерименту була побудована на 4 досліджуваних групах щурів (вага 303 ± 40 г):

- 1) щури лінії Wistar (n=16, стандартна дієта)
- 2) щури лінії Wistar (n=16, 3% холестеринна дієта)
- 3) SHR (n=12, стандартна дієта)
- 4) SHR (n=16, 3% холестеринна дієта)

Всі спонтанногіпертензивні щури були протестовані, й було підтверджено їх спонтанногіпертензивний статус (артеріальний тиск більше 150 мм.рт.ст.). Ця процедура проводилася за допомогою сфігмоманометру S-2 («HSE», Німеччина). Щури обережно поміщалися у циліндричну ємність, таким чином, щоб їхні хвости були доступні для проведення дослідження. Безпосередньо перед вимірюванням щурів на певний час залишали в спокої, щоб вони адаптувалися й заспокоїлися, а їх показники тиску стабілізувалися.

Етапи дослідження	Дослідження впливу гіпертензії	Дослідження впливу холестеринної дієти
Групи дослідження	 1) щури Wistar, n=16	 3) щури Wistar, n=16
	 2) Спонтанно-гіпертензивні щури, n = 12	 4) Спонтанно-гіпертензивні щури, n=16
Експериментальні	Стандартні умови й стандартний	Дієта з додаванням 3% холестерину на

умови	раціон. Спонтанно гіпертензивний статус SHR підтверджено дослідженням тиску у хвостовій артерії (>150мм.рт.ст).	протязі 8 тижнів. Спонтанно гіпертензивний статус SHR підтверджено дослідженням тиску у хвостовій артерії (>150мм.рт.ст).
Забір матеріалу	Щурів наркотизували (в/о введення розчину уретану, 1,5г/кг), після чого проводилося визначення кардіогемодинаміки, та подальший забір крові, зразків серця, печінки та аорти для досліджень.	Після 8 тижнів вигодовування 3% холестериновою дієтою щурів наркотизували (в/о введення розчину уретану, 1,5г/кг), після чого проводилося визначення кардіогемодинаміки, та подальший забір крові, зразків серця, печінки та аорти для досліджень.
Методи дослідження	<ul style="list-style-type: none"> Визначення параметрів кардіогемодинаміки <i>in vivo</i> за допомогою мікрокатетерів Millar Instruments, з подальшою обробкою отриманих даних на спеціалізованому програмному забезпеченні ChartTMv.5.4.2 та PVAN 3.6 Забір крові для подальшого біохімічного аналізу холестеринових фракцій Забір зразків аорти для морфо-гістологічних та ультраструктурних досліджень Забір зразків серця та печінки для подальших генетичних досліджень за допомогою ПЛР реального часу генів <i>SREBF1</i> та <i>SREBF2</i>, а також їх відповідних генів мішеней <i>INSIG1</i> та <i>HMGcoAr</i> 	
Отримані результати	<ul style="list-style-type: none"> Параметри кардіогемодинаміки Концентрація холестеринових фракцій в плазмі крові Кількісні та якісні дані по морфо-гістологічних та ультраструктурних змінах у тканинах аорти досліджуваних тварин Експресія генів <i>SREBF1</i> та <i>SREBF2</i>, а також їх відповідних генів мішеней <i>INSIG1</i> та <i>HMGcoAr</i> в тканинах серця та печінки Статистичний аналіз 	

2.2. Визначення параметрів роботи серцево-судинної системи за допомогою мікрокатетерів та програмного забезпечення Millar Instruments.

Щурів наркотизували уретаном із розрахунку 1,5 г на 1 кг маси тіла. Тварину фіксували на операційному столі, препарували праву сонну артерію. Стандартний 2F катетер для реєстрації тиску з відстанню між сигнальними електродами у 9,0 мм (SPR-838; Millar Instruments, Houston, TX) калібрували за

об'ємом шляхом занурення катетера у калібрувальну кювету (P/N 910-1048), яка складає ряд циліндричних отворів відомого діаметру (від 2 до 15 мм) та об'єму (від 28,27 до 1590 мкл), залитих кров'ю щура з додаванням гепарину. Катетер вводили через праву сонну артерію (right common carotid artery) ретроградно у ЛШ для запису показників гемодинаміки в умовах закритої грудної порожнини за допомогою ChartTMv.5.4.2 (ADInstruments, Millar Instruments, Houston, TX). Співвідношення тиску-об'єму ЛШ аналізували за допомогою пакету програм PVAN 3.6 (ADInstruments, MillarInstruments, Houston, TX) з конвертацією відносних одиниць об'єму (RVU) в абсолютні одиниці об'єму за допомогою формули ($\text{slope } 20,25 \times \text{RVU} - \text{intercept } 29,05$). При цьому розрахунки базувалися відповідно до рекомендацій виробників на початковому калібруванні катетера і повторних калібруваннях приладу MPVS 400 Systems для реєстрації показників.

Застосування системи MPVS 400 та катетеру, на якому розташовані сенсорні електроди для визначення тиску та об'єму, дозволяє отримувати криві, що описують залежність тиску та об'єму протягом кожного серцевого циклу (рис. 2.1.). Схематично фази серцевого циклу та окремі показники механічної функції серця зображено на рис. 2.2.

Запис показників кардіодинаміки було здійснено у двох режимах: у вихідному стані та за умов тимчасової (протягом 7-10с) оклюзії задньої порожнистої вени.

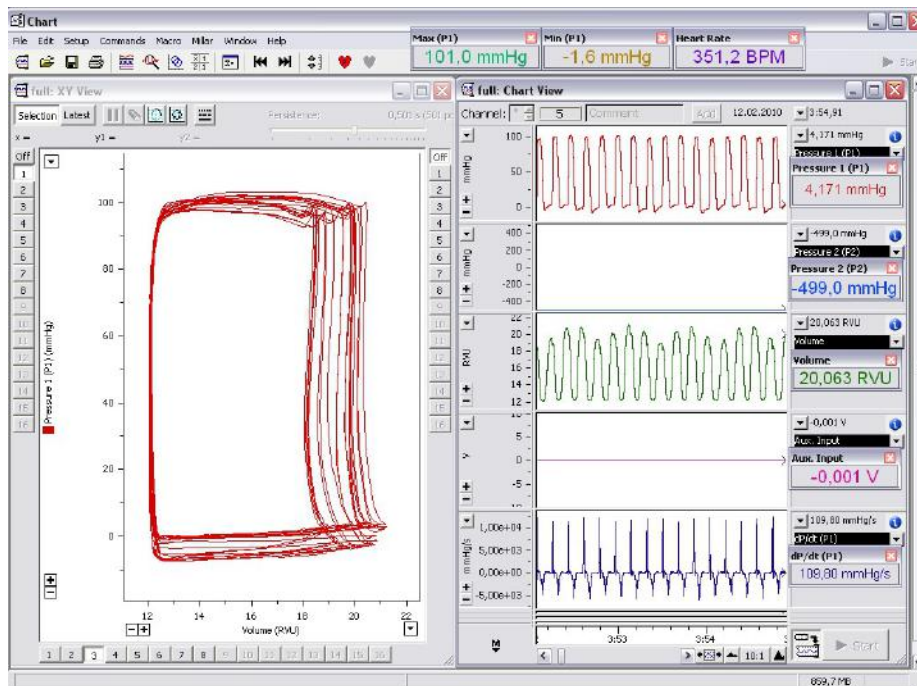


Рис. 2.1. Оригінальні криві залежності тиску та об'єму

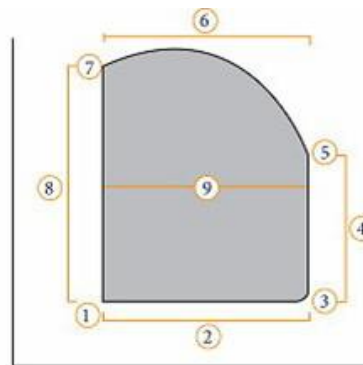


Рис. 2.2. Схематичне зображення серцевого циклу. Прим. 1 - відкриття мітрального клапану, 2 - діастолічне наповнення, 3 - закриття мітрального клапану, 4 - ізоволіумічне скорочення, 5 - відкриття аортального клапану, 6 - викид крові, 7 - закриття аортального клапану, 8 - ізоволіумічне розслаблення, 9 - ударний об'єм, ділянка сірого кольору – робота серця по викиду крові.

Основні кардіогемодинамічні параметри, які реєструвалися та аналізувалися, ми розділяли на декілька груп: насосна функція, діастолічна функція, скоротлива функція.

Насосна функція оцінювалася за комплексом показників: хвилинний об'єм крові (CO), фракція викиду (EF), ударний об'єм (SV), ударна робота

(SW), а також показниками максимальної потужності (MP) і максимальної потужності, зрівноваженої на переднавантаження (PaMP), що є співвідношенням максимальної величини потужності під час серцевого циклу до квадрату кінцево-діастолічного об'єму [119].

$$CO = SV \times HR,$$

$$EF = SV \times 100\% / EDV,$$

$$SV = EDV - ESV$$

$$SW = SV \times MAP$$

$$MP = SV \times (0,133 \times MAP) \times HR / 3600$$

$$PaMP = SV \times MAP \times HR / EDV^2$$

Діастолічну функцію досліджували за допомогою наступних показників: кінцево-діастолічний об'єм (EDV) та тиск (EDP), максимальна швидкість розслаблення міокарда (dP/dt_{min}), ізовольюмічна константа розслаблення міокарда τ за методом Weiss (τ_w).

Скоротливу функцію вивчали за результатами визначення максимальної швидкості скорочення міокарда (dP/dt_{max}), показниками кінцево-сistolічного тиску (ESP) й об'єму (ESV), частоти серцевих скорочень (HR).

Артеріальна жорсткість відображає скоріше комплекс властивостей судин, ніж напряду свідчить про їх жорсткість. За поглядами Sunagawa K. [120], артеріальна жорсткість одночасно описує такі основні елементи судинного навантаження: загальний периферичний опір судин, податливість судин, показник імпедансу, тривалість систоли та діастолі. В контексті аналізу гемодинамічних параметрів цей показник може слугувати для оцінки постнавантаження серця і розраховується за формулою:

$$AE = ESP / SV$$

Застосування системи MPVS 400 за умов тимчасової оклюзії черевної порожнистої вени дає змогу оцінити незалежні від навантаження показники кардіодинаміки.

Надалі здійснювали невеликий розріз нижче мечовидного відростку для запису показників гемодинаміки в умовах відкритої черевної порожнини (рис. 2.3). На основі кривих, отриманих під час тимчасових оклюзій задньої порожнистої вени в умовах відкритої черевної порожнини, було отримано наступні параметри: коефіцієнт кінцево-сistolічного співвідношення тиску-об'єму, що використовується, як показник максимальної кінцево-сistolічної жорсткості міокарда (E_{\max}).

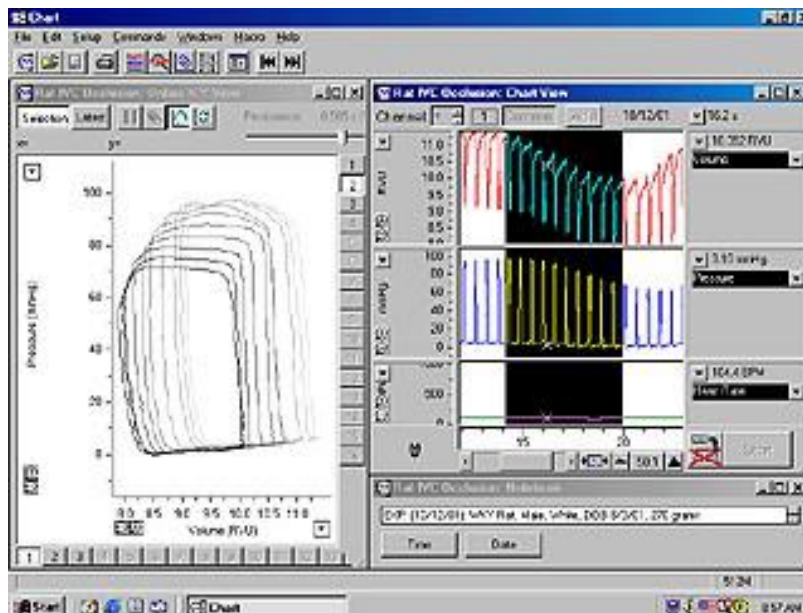


Рис. 2.3. Зміни показників кардіодинаміки при тимчасовій оклюзії нижньої порожнистої вени.

За концепцією SugaH. і SagawaK. [121], ЛШ серця характеризується змінною у часі жорсткістю (time-varying elastance). В кожній точці серцевого циклу еластичні властивості ЛШ можна оцінити за допомогою жорсткості міокарда (E), яка збільшується при переході серця із діастолічної фази у систолу. Згідно з цією концепцією при тимчасовій оклюзії нижньої порожнистої вени визначають такі показники: кінцево-сistolічне співвідношення тиску-об'єму, коефіцієнт нахилу (slope) якого є індексом

кінцево-сistolічної жорсткості міокарда (E_{es}), максимальне значення жорсткості міокарда (E_{max}), кінцево-діастолічне співвідношення тиску-об'єму, коефіцієнт нахилу (slope) якого відображує здатність міокарда до розтягнення, або його кінцево-діастолічну жорсткість (E_{ed}) (рис. 2.4). Зазначений підхід дає можливість оцінити максимальний резерв скоротливої активності (E_{max} та E_{es}), що у дослідженнях Меєрсона [122] досягалося встановленням величини максимального тиску ЛШ (P_{max}) із подальшою можливістю побудови кривої, аналогічної кінцево-сistolічному співвідношенню тиску-об'єму. Індеси E_{max} та E_{es} широко використовуються для оцінки скоротливої функції міокарда. Ці показники вказують на ступінь максимального або кінцево-сistolічного стискання міокарда ЛШ, нормалізованого до об'єму ЛШ. Відомо, що вказані індеси є відносно незалежними від перед- та постнавантаження.



Рис. 2.4. Схематичне зображення залежності тиску-об'єму та похідних: кінцево-сistolічного та кінцево-діастолічного співвідношень, $ЖМ_{кс}$, $АЖ$.

2.3. Дослідження ліпідного спектру крові

Концентрацію холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів високої, низької та дуже низької щільності було досліджено в крові щурів, за допомогою біохімічного аналізатору BioSystemA25 (Bio-SystemsS.A., Іспанія).

2.4. Гістологічні дослідження

Індекс маси серця було вираховано, як відношення ваги серця (мг) до ваги тіла (г). Ліпідна інфільтрація тканин аорти була визначена за допомогою специфічного барвника OilRed (Sigma-Aldrich). Заморожені дуги аорти від досліджуваних тварин були використані для гістологічних досліджень. За допомогою кріомікротома були зроблені зрізи товщиною 10-12 мкм з 3 сегментів дуги аорти з інтервалом 3-4 мм. Після чого зрізи фіксувалися на склі. Базовий розчин OilRed розводився ізопропанолом у співвідношенні 3:2, відфільтровувався і використовувався надалі для забарвлення мікропрепаратів на протязі 10 хв. Після чого, зразки промивалися дистильованою водою, й забарвлювалися гематоксиліном на протязі 3хв, зразки аналізувалися за допомогою світлового мікроскопа. Для електронної мікроскопії, кардіоміоцити поміщалися на покривні скельця NUNC (Thermanox) й фіксувалися у 2% параформальдегіді з 2,5% глутаральдегідом у 0,1М фосфатному буфері (pH 7,4) на протязі 2 годин і постфіксувалися в 1% буфері тетроксиду осмію. Після чого зразки були дегідратовані за допомогою етанолу й вміщені в епоксидну смолу (Fluka). Ультратонкі секції, двічі пофарбовані ураніл ацетатом та плюмбум цитратом, були проаналізовані за допомогою електронної мікроскопії Jem-100CX (Jeol, Japan).

2.5. Ультраструктурні дослідження за допомогою електронної мікроскопії

Відібрані зразки тканин серця чи аорти фіксували протягом 120 хв розчином наступного складу: глутаральдегід (2,5%) в 0,1 М фосфатному буфері (pH 7,4) з подальшою постфіксацією 1% буферним розчином осмію тетроксиду. Потім зразки дегідрували, проводячи їх через батарею спиртів (від 60% до 100%), та заключали в епоксидні смоли. Полімеризацію смол проводили при 60°C протягом 24 год. Ультратонкі зрізи клітин обробляли ураніл ацетатом та цитратом свинцю для контрастування матеріалу. Зразки досліджували із застосуванням електронного мікроскопу Jem – 100 CX (Японія).

2.6. Виділення РНК з тканин серця та печінки.

Виділення РНК із кардіоміоцитів із тканин серця та печінки щурів проводили із використанням фенол-хлороформового методу для виділення тотальної РНК. Метод базується на використанні Trizol-реагенту, що містить гуанідинізоціонат, який призначений для лізису клітин, солюбілізації клітинного дебрису, денатурації клітинних рибонуклеаз, а також білків. Після цього РНК екстрагується в розчин фенол-хлороформу при центрифугуванні, відмивається від білків та переноситься у стерильні вільні від ДНК та РНК мікропробірки. Отримана РНК може безпосередньо використовуватися для проведення зворотної транскрипції. Набір дозволяє виділяти із свіжого біологічного матеріалу високомолекулярну нативну РНК високої чистоти ($OD_{260/280 \text{ нм}}$ 2.0). В процесі виділення РНК ми дотримувалися рекомендацій, наведених у комерційному наборі, та проводили маніпуляції згідно наступного протоколу.

Протокол виділення РНК.

1. У пробірку об'ємом 1.5 мл внести 100 мкл гомогенізату тканини та додати 1 мл *Trizol* реагенту. Інтенсивно перемішати вміст пробірок до гомогенного стану.
2. Термостатування суміші 5 хв при температурі 4°C.
3. Додавання в пробірку 200 мкл суміші хлороформу та ізоамілового спирту у співвідношенні 49 : 1 та інтенсивне перемішування вмісту пробірок.
4. Термостатування суміші 5 хв при температурі 4°C.
5. Центрифугування пробірок протягом 6 хв при 13 400 об/хв.
6. Перенесення прозорої верхньої фази до чистої пробірки того ж об'єму.
7. Додавання до проб рівного об'єму ізопропанолу (500 мкл).
8. Інтенсивне перемішування пробірок та розміщення їх у морозильній камері при -20°C на 30 хвилин.

9. Центрифугування пробірок протягом 16 хв при 13 400 об/хв.
10. Видалення супернатанту декантуванням.
11. Додавання 1 мл холодного (4°C) 75% розчину етилового спирту, перемішування вмісту пробірок 5 разів та центрифугування пробірок протягом 6 хв при 13 400 об/хв.
12. Видалення супернатанту декантуванням.
13. Висушування осаду при температурі 65°C протягом 5 хв.
13. Додавання в пробірки 50 мкл ЕкстраГена™ при постійному перемішуванні останнього розчину.
14. Суспензування вмісту пробірок на вортексі до отримання гомогенної суспензії та термостатування при температурі 65°C протягом 5 хв.
15. Суспензування вмісту пробірок на вортексі та негайне застосування для проведення зворотної транскрипції.

2.7. Зворотна транскрипція та полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі.

Зворотну транскрипцію (ЗТ) проводили із використанням First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, Литва), застосовуючи 1,2-1,5 мкг загальної РНК та гексамерний праймер. Отриману внаслідок ЗТ одноланцюгову ДНК використовували для кількісної оцінки експресії генів із використанням полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі із застосуванням праймерів для відповідних генів (таблиця 2.1.)

Target gene	Primers sequence	PCR product size, bp
<i>HMGcoAr</i>	5'-CTGTATACGGTTCCTTGCTTC-3' 5'-AGCCAGAACCGTAAGAGAACAC-3'	161
INSIG1	5'-GTGGGAAACATAGGACGACAGT-3' 5'CAGTGTCTCCACATTCTGCTTC-3'	90

Таблиця 2.1. Нуклеотидна послідовність специфічних праймерів для ПЛР-аналізу експресії генів

Експресію генів стандартизували відносно експресії гена β -актину, як ендogenousного контролю (одного із так званих «генів домашнього господарства»). ПЛР-ампліфікація генів *INSIG1* та *HMGCoAr* проводилася у 10 мкл SYBRGreen PCRMasterMix, що містив 40 пмоль кожного праймеру. Об'єм доводили до 20 мкл дейонізованою водою. Ампліфікацію здійснювали за допомогою термоциклеру “7500 FastReal-TimePCRSystem”. Програма ампліфікації починалася із попередньої активації AmpliTaqGold® ДНК-полімерази протягом 10 хв при 95 та включала 45 циклів, кожен з яких складався з денатурації при 95 °C (19 с), приєднанні праймерів та елонгації при 58°C (1 хв). Для контролю специфічності проводили стадію плавлення ампліфікатів – послідовне підвищення температури від 58 до 95°C із реєстрацією падіння інтенсивності флуоресценції комплексів двохланцюгових ДНК з SYBRGreen. Визначали відносний рівень експресії генів із застосуванням загальноприйнятої методики (рівень експресії = $2^{-\Delta Ct}$, де Ct – пороговий цикл ампліфікації).

Експресію генів *SREBF1* (*Rn01495769_m1*), *SREBF2* (*Rn01502638_m1*) нормалізували відносно актину як ендogenousного контролю. Для кількісної оцінки експресії генів використовували набори, що були розроблені на основі послідовності мРНК щура компанією «Applied Biosystems», (США)

Ампліфікаційна суміш містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 2.5 мМ сульфата магнія, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 30 пМ кожного з праймерів та 0.5 ОД Таq-полімерази (“АмпліСенс”, Росія), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою.

ПЛР-ампліфікація складалася з 50 наступних циклів: початкова денатурація при 95°C впродовж 20 с, з наступною обробкою при 95°C протягом 3 с, приєднання праймерів та елонгація – 60°C, 30 с. Аналіз отриманих даних проводився за допомогою 7500 FastReal-timePCR Software.

2.8. Дослідження поліморфізму гена SREBF (rs2297508) у дітей з есенціальною артеріальною гіпертензією

Для дослідження було включено 84 дитини віком від 9 до 17 років хворих на первинну артеріальну гіпертензію (АГ), що проходили лікування в Київському міському центрі діагностики та лікування вегетативних функцій у дітей на базі дитячої клінічної лікарні №6 м. Києва. Обстеження, постановка діагнозу та лікування хворих проводилося співробітниками кафедри педіатрії №4 Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (завідувач – член-кор. АМН України Майданник В.Г.). Відбір крові проводився кваліфікованими спеціалістами в клінічних умовах із використанням стерильних моновет виробництва фірми „Sarstedt” (Німеччина) із дотриманням усіх правил медичної асептики та антисептики. Усі особи підписали згоду на використання своєї крові для генетичних досліджень. ДНК виділяли з цільної крові із використанням наборів Неоген (Україна). Алельний поліморфізм гена *SREBF1* (rs2297508) визначали із застосування зондів C__3085829_20 компанією «Applied Biosystems», (США) із застосуванням термоциклеру “7500 FastReal-TimePCRSystem”(Applied Biosystems», (США) та відповідного програмного забезпечення .

2.9. Статистичний аналіз

Для статистичного аналізу було використано за умови нормального розподілу та гомоскедантичності вибірок – однофакторний дисперсійний аналіз з апостеріорними попарними t-тестами з поправкою Геймса-Хоуела. В інших випадках використовувався аналіз Краскела-Уолеса з апостеріорними попарними тестами Манна-Уїтні з поправкою Бонфероні. Також було проведено регресійно-кореляційний аналіз. Результати вважалися статистично достовірними за умови $p < 0.05$. Використане програмне забезпечення MSExcel 2010, SPSS Statistics 18.0, Plotus 0.2.

РОЗДІЛ 3. ЗМІНИ ОСНОВНИХ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ФУНКЦІОНУВАННЯ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ СИСТЕМИ ЗА НОРМАЛЬНИХ УМОВ ТА ЗА УМОВ ВИСОКОХОЛЕСТЕРИНОВОЇ ДІЄТИ У СПОНТАННОГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ (SHR)

3.1. Функціональні параметри серцево-судинної системи спонтанногіпертензивних щурів

Здатність серця виконувати насосну функцію й забезпечувати потреби організму оцінювалася нами за допомогою ряду кардіогемодинамічних параметрів. Оскільки насосна функція є життєвоважливою для організму то в її забезпеченні так чи інакше задіяно більшість процесів серцево-судинної системи та самого серця. Тому параметри насосної функції дають нам досить глибоке уявлення про стан серцево-судинної системи в цілому, а будь-які хронічні порушення в них є результатом серйозних порушень в діяльності організму.

В роботі досліджено насосну функція за допомогою ряду показників як у щурів Wistar так і у SHR. Ударний об'єм є буквально різницею між кінцево-діастолічним й кінцево-сistolічним об'ємом. На нього мають вплив багато факторів, зокрема це зміна переднавантаження (у відповідності до закону Франка-Старлінга), також зміна постнавантаження (в залежності від тяжкості артеріальної гіпертензії або коарктації аорти тощо). Так, разом з іншими параметрами це є мірою ефективності серця.

Встановлено зменшення величини ударного об'єму лівого шлуночка сердець щурів SHR на 69% у в порівнянні з такою у Wistar (рис.3.1).

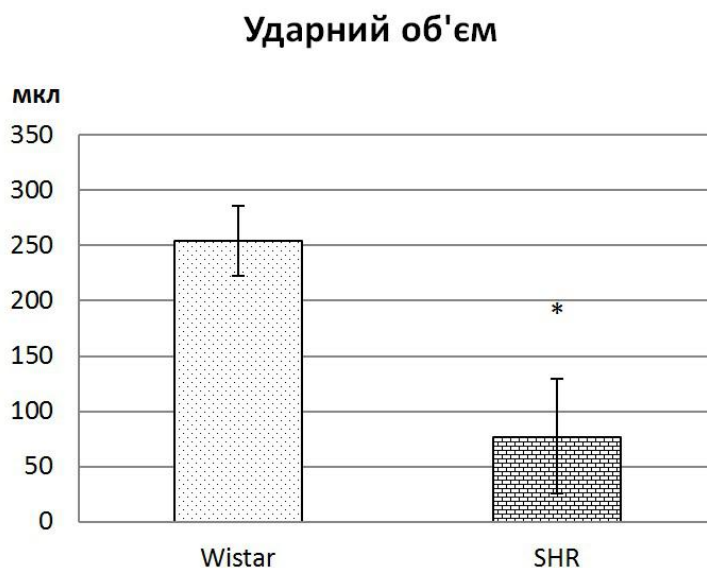


Рис. 3.1. Ударний об'єм лівого шлуночка сердець щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Фракція викиду це частка крові, що викидається з лівого шлуночка під час систоли. Цей параметр є одним з основних для оцінки ефективності роботи серця, а також цей параметр є відносним.

Встановлено зменшення величини фракції викиду у SHR на 56% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис. 3.2).

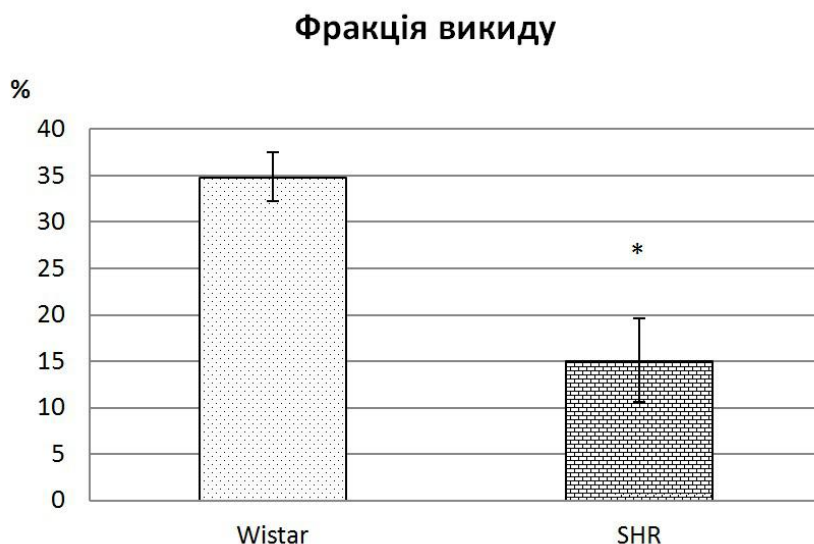


Рис.3.2. Фракція викиду лівого шлуночка серцець у щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Хвилинний об'єм крові є складним параметром, що характеризує ефективність роботи серця та навантаження в даний проміжок часу. Цей параметр може бути використаний для оцінки здатності серця витримувати потреби організму.

Встановлено зменшення величини хвилинного об'єму серця у SHR на 74% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.3.3).

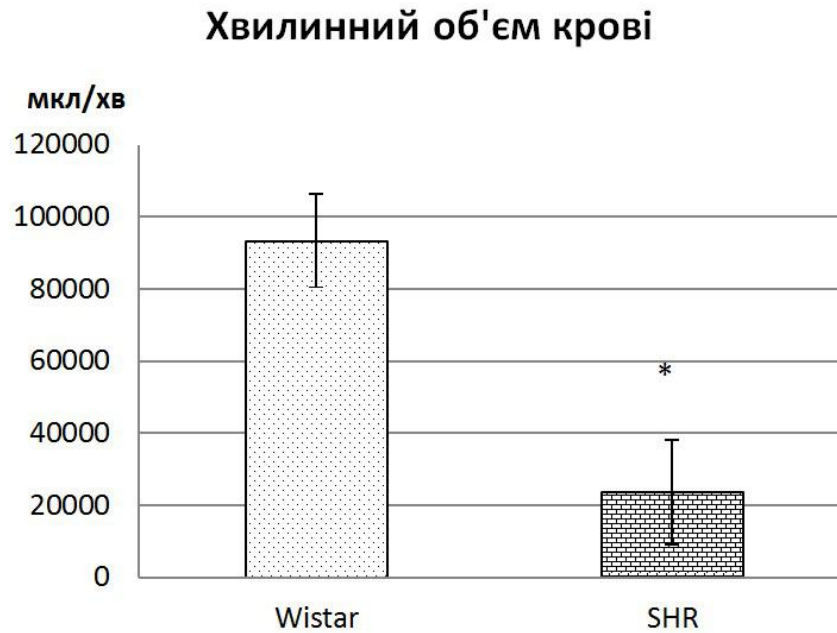


Рис.3.3. Хвилинний об'єм крові у щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Ударна робота це параметр що характеризує роботу, яку виконує шлуночок щоб здійснити викид крові проти тиску аорти. Це також складний параметр, який характеризує роботу серця, так як включає ударний об'єм та є чутливим до змін постнавантаження.

Встановлено зменшення ударної роботи сердець у SHR на 67% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.3.4).

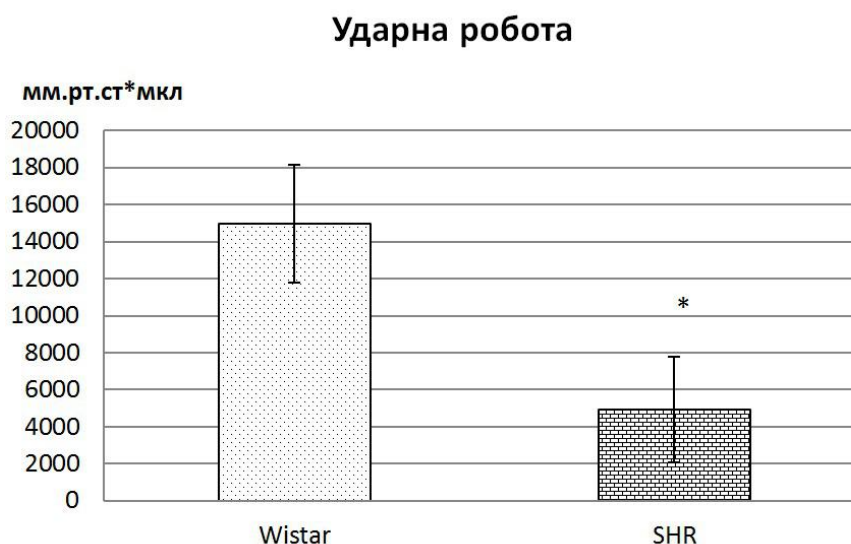


Рис.3.4. Ударна робота сердець щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Систолічна функція описує здатність серця здійснювати скорочення. Кількість серцевих скорочень є цінним параметром, що характеризує стан серцево-судинної системи, оскільки він є одним з найбільш легких й доступних способів регуляції серцевої діяльності організмом у відповідь на велику кількість екзо- та ендогенних факторів, тому хронічні зміни цього параметру можуть бути ознакою регуляторної дисфункції.

Встановлено зменшення кількість серцевих скорочень у SHR на 15% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.3.5).



Рис. 3.5. Кількість серцевих скорочень у щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Кінцево-сistolічний об'єм є найменшим об'ємом шлуночка в серцевому циклі, тому він залежить від здатності серця до скорочення та від постнавантаження.

Встановлено зменшення величини кінцево-сistolічного об'єму у SHR на 12% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис. 3.6).

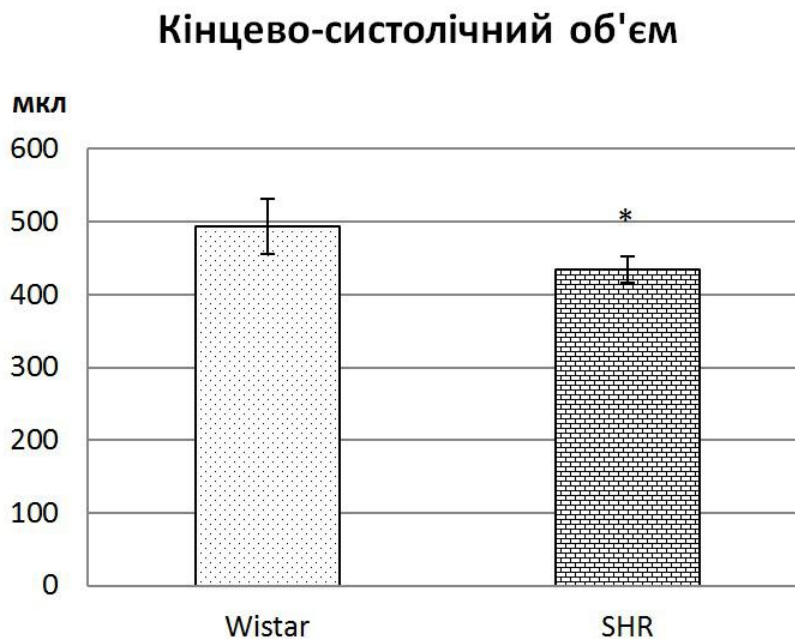


Рис. 3.6. Кінцево-сistolічний об'єм лівого шлуночка сердець щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Кінець фази систолічного скорочення характеризується найвищим тиском у серцевому циклі. Тому він є залежним від переднавантаження згідно з законом Франка-Старлінга, постнавантаженням, так здатність серця до скорочення.

Встановлено зменшення величини кінцево-сistolічного тиску у SHR на 16% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.3.7).



Рис. 3.7. Кінцево-сistolічний тиск у лівому шлуночку сердець Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

dP/dt , або максимальна швидкість зміни тиску в шлуночку є важливим параметром в оцінці ефективності скорочення шлуночка. Він залежить від багатьох факторів, зокрема, перед- та постнавантаження, кількість серцевих скорочень, здатність кардіоміоцитів до скорочення.

Встановлено зменшення величини максимальної швидкості зміни тиску в шлуночку у SHR на 23% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.3.8).



Рис. 3.8. Максимальна швидкість зміни тиску в лівому шлуночку сердець Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Еmax або максимум кінцево-систолическої об'ємної жорсткості лівого шлуночка є більш новітнім параметром оцінки здатності шлуночка до скорочення. Цей параметр також є практично незалежним від перед- чи постнавантаження, а також кількості серцевих скорочень. Це робить його надзвичайно зручним для оцінки стану серця.

Встановлено збільшення величини максимуму кінцево-систолическої об'ємної жорсткості лівого шлуночка у SHR в 2.6 разів у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис. 3.9).

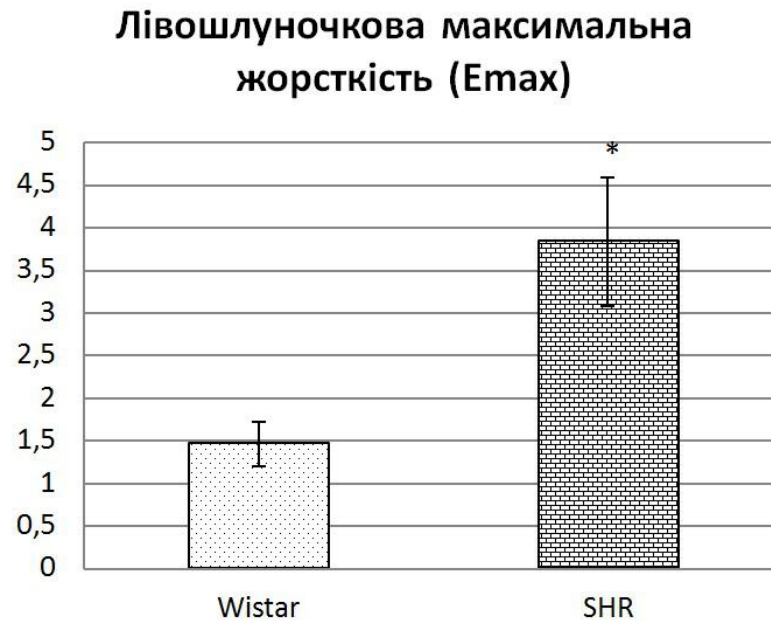


Рис.3.9. Максимум кінцево-систолічної об'ємної жорсткості лівого шлуночка сердець щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

dV/dt або максимальна швидкість зміни об'єму у лівому шлуночку є спеціалізованим показником, що показує максимальний об'єм крові, що може бути викинутий зі шлуночка за одиницю часу. Цей параметр залежить від нормальної функції клапанів, а також постнавантаження.

Встановлено зменшення величини максимальної швидкості зміни об'єму у лівому шлуночку у SHR на 40% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.3.10).



Рис. 3.10. Максимальна швидкість зміни об'єму лівого шлуночка у серцець щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Ще один специфічний параметр це об'єм лівого шлуночка в момент максимальної швидкості зміни тиску ($V@dP/dt_{max}$).

Він показує об'єм шлуночка під час систоли в момент найбільш ефективної роботи шлуночка по зміні тиску.

Встановлено зменшення величини об'єму лівого шлуночка в момент максимальної швидкості зміни тиску у SHR на 26% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис. 3.11).



Рис. 3.11. Об'єм лівого шлуночка в точці максимальної швидкості зміни тиску в серцях щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Діастолічна функція описує здатність серця розслаблятися після скорочення, що є умовою підтримання серцевої діяльності. Кінцево-діастолічний об'єм це параметр, що показує об'єм лівого шлуночка в кінці діастоли, номінально точці максимального його значення. Кінцево-діастолічний об'єм залежить від параметрів легеневого кола кровообігу, зокрема тиску. Цей параметр також відомий як переднавантаження. Як показник діастолічної функції кінцево-діастолічний об'єм залежить від швидкості розслаблення шлуночку, характеризуючи таким чином його жорсткість.

Встановлено зменшення величини кінцево-діастолічний об'єму лівого шлуночка у SHR на 32,5% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.3.12).

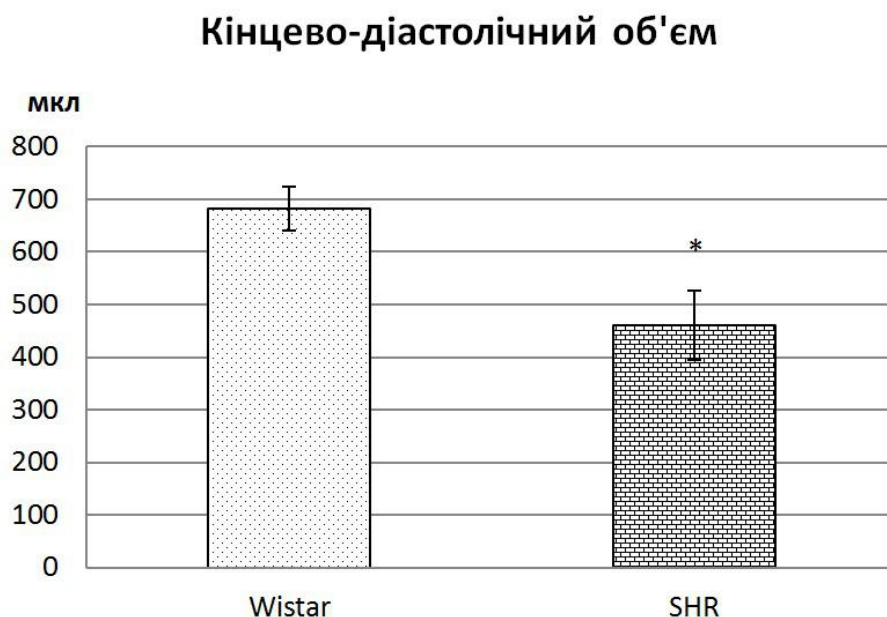


Рис. 3.12 Кінцево-діастолічний об'єм лівого шлуночка сердець щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Кінцево-діастолічний тиск є важливим параметром, що характеризує здатність серця до розслаблення в діастолічній фазі серцевого циклу. Він є залежним від шлуночкової жорсткості та від переднавантаження.

Встановлено збільшення величини кінцево-діастолічного тиску у SHR у 4,1 рази у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис. 3.13).



Рис. 3.13. Кінцево-діастолічний тиск у лівому шлуночку сердець щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Ізовольюмічна константа розслаблення лівого шлуночка τ_{au} є одним з найбільш достовірних показників діастолічного розслаблення. τ_{au} є залежною від переднавантаження.

Встановлено збільшення величини ізовольюмічної константи розслаблення лівого шлуночка τ_{au} у SHR на 29% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис. 3.14).

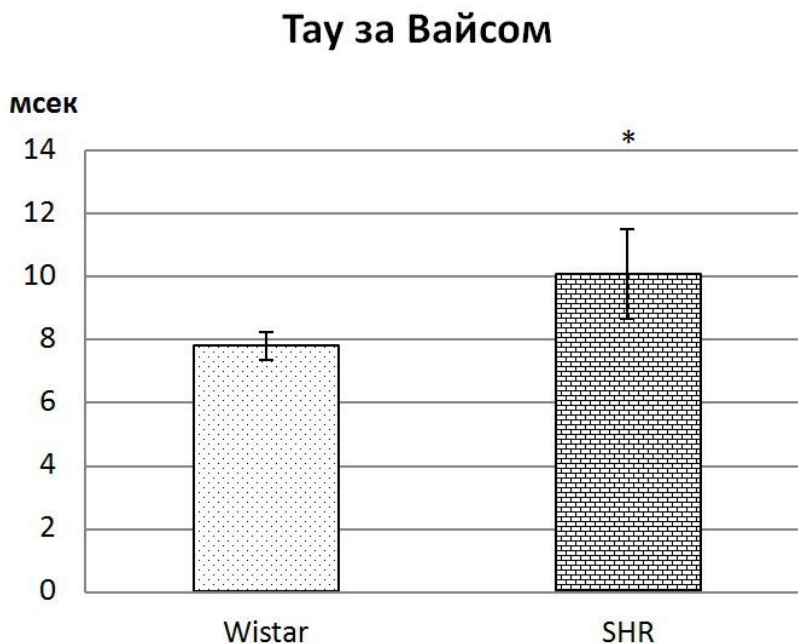


Рис. 3.14. Ізоволіумічна константа розслаблення лівого шлуночка Тау визначена за методом Вайса в лівому шлуночку сердець щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

dP/dt_{min} або максимальна швидкість розслаблення міокарду є спеціалізованим показником, що дозволяє оцінити ефективність розслаблення шлуночка в діастолі.

Встановлено зменшення величини максимальної швидкості розслаблення міокарду у SHR на 26% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.3.15).



Рис. 3.15. Максимальна швидкість розслаблення лівого шлуночка в серцях щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

dV/dt_{min} або максимальна швидкість збільшення об'єму шлуночка є параметром, що описує ефективність розслаблення серця.

Встановлено зменшення величини максимальної швидкості зменшення об'єму шлуночка у SHR на 58% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.3.16).

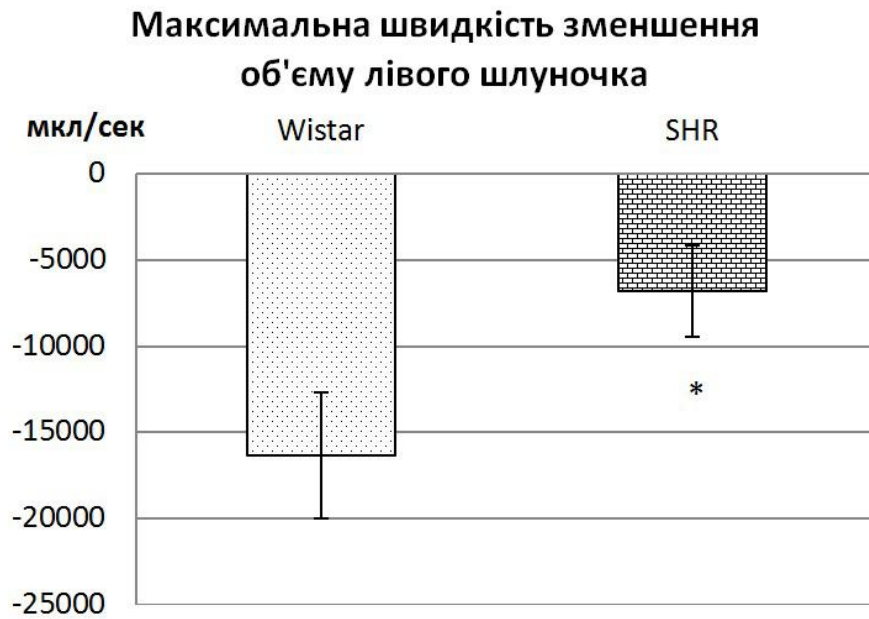


Рис. 3.16. Максимально швидкість зменшення об'єму лівого шлуночка сердець щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Ще одним важливим параметром є артеріальна жорсткість, яка є одним з основних показників постнавантаження.

Встановлено збільшення величини артеріальної жорсткості у SHR в 4,8 разів у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.3.17).

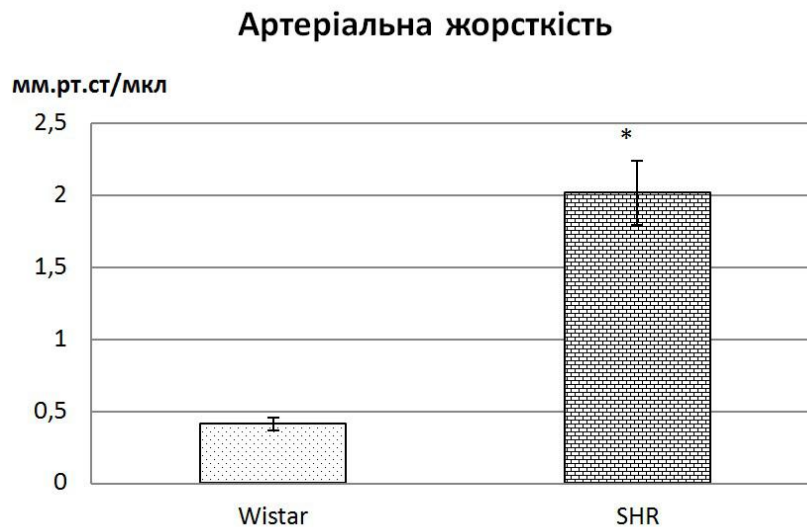


Рис. 3.17. Артеріальна жорсткість у щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Таким чином, оцінюючи функціональний стан серця у спонтанногіпертензивних щурів встановлено зменшення величин: 1) ударного об'єму лівого шлуночка сердець на 69%; 2) фракції викиду на 56%; 3) хвилинного об'єму серця на 74%; 4) ударної роботи сердець на 67%; 5) кількість серцевих скорочень на 15%; 6) кінцево-сistolічного об'єму на 12%); 7) кінцево-сistolічного тиску на 16%; 8) максимальної швидкості зміни тиску в шлуночку на 23%; 9) максимальної швидкості зміни об'єму у лівому шлуночку на 40%; 10) об'єму лівого шлуночка в момент максимальної швидкості зміни тиску на 26%; 11) кінцево-діастолічний об'єму лівого шлуночка на 32,5%; 12) максимальної швидкості розслаблення міокарду на 26%; 13) максимальної швидкості збільшення об'єму шлуночка на 58% у порівнянні з такою у щурів Wistar, а також збільшення величин 1) кінцево-діастолічного тиску у 4,1 рази; 2) ізоволічної константи розслаблення лівого шлуночка T_{au} на 29%; 3) артеріальної жорсткості R в 4,8 разів; 4) максимуму кінцево-сistolічної

об'ємної жорсткості лівого шлуночка в 2.6 разів у щурів SHR у порівнянні з такими у щурів Wistar.

3.2. Зміни функціональних параметрів серцево-судинної системи у спонтанногіпертензивних щурів за умов високохолестеринової дієти

Зміни насосної функції серцево-судинної системи досліджуваних щурів за умов холестеринової дієти визначалися рядом кардіогемодинамічних параметрів.

Спостерігалось зниження величини ударного об'єму сердець на 20% у щурів Wistar за умов холестеринової дієти порівняно з такими величинами у тварин за умов стандартної дієти. Величина ударного об'єму сердець у щурів SHR зросла на 72% (рис. 3.18.).



Рис. 3.18. Ударний об'єм сердець щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високо холестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

Величина фракції викиду сердець була незмінною у щурів Wistar, тоді як у SHR щурів зростала на 31% (рис. 3.19.).



Рис.3.19. Фракція викиду сердець щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

Встановлено зниження на 33% величини хвилинного об'єму крові у щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти; у SHR щурів цей параметр збільшився на 69% (рис. 3.20.)

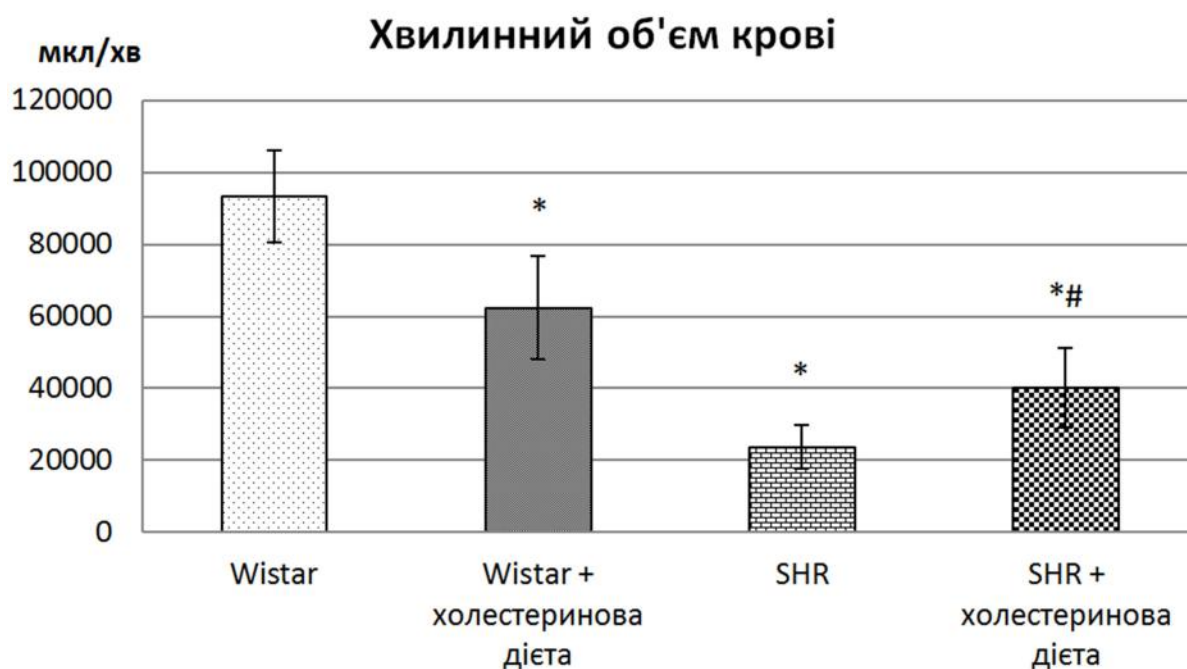


Рис. 3.20. Хвилинний об'єм крові сердець щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

Разом з іншими параметрами насосної функції ударна робота серця щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти знизилася на 13%; в той час як у SHR щурів - зросла на 77% (рис. 3.21).

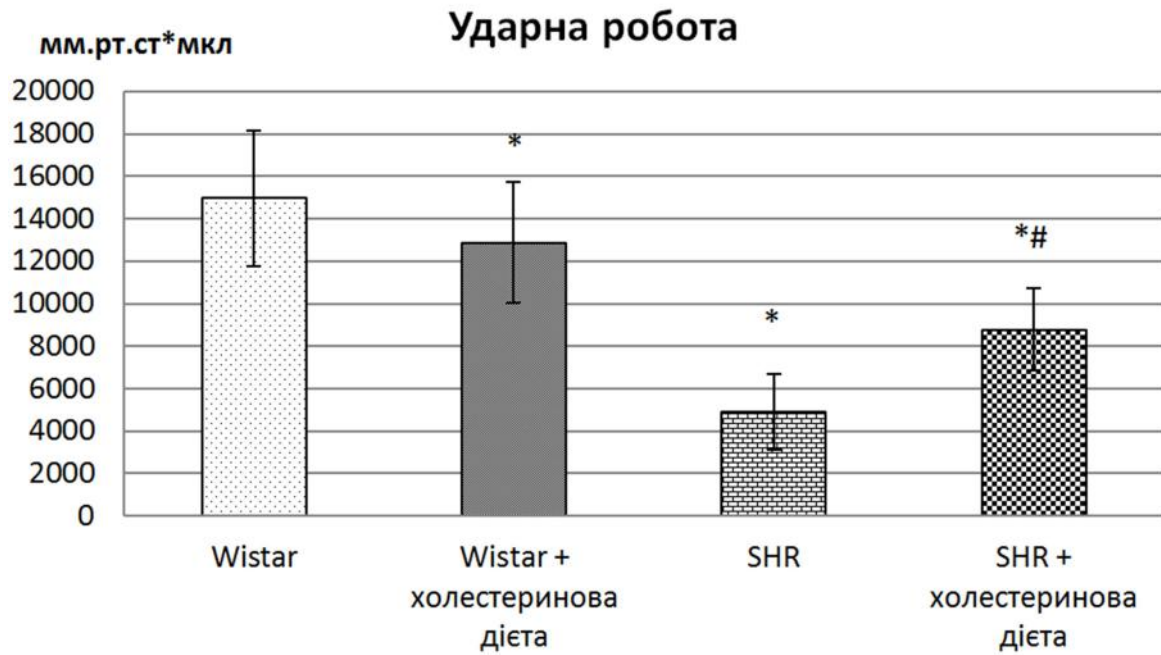


Рис.3.21. Ударна робота сердець щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

Систолічна функція зазнала змін, знизилася кількість серцевих скорочень, відповідно, на 11% та 6% у щурів Wistar і SHR за умов високохолестеринової дієти (рис. 3.22).



Рис.3.22. Кількість скорочень сердець щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

Встановлено зниження на 33% величини кінцево-сistolічного об'єму у щурів Wistar й, водночас, зростання на 22% такої у SHR щурів за умов високохолестеринової дієти (рис.3.23).



Рис.3.23. Кінцево-сistolічний об'єм в серцях щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

Встановлено зростання на 34% величини кінцево-сistolічного тиску у щурів Wistar, що разом з параметром об'єму може свідчити про адаптацію до навантаження; однак у SHR щурів величина кінцево-сistolічного тиску зменшилася на 22% за умов високохолестеринової дієти (рис.3.24).

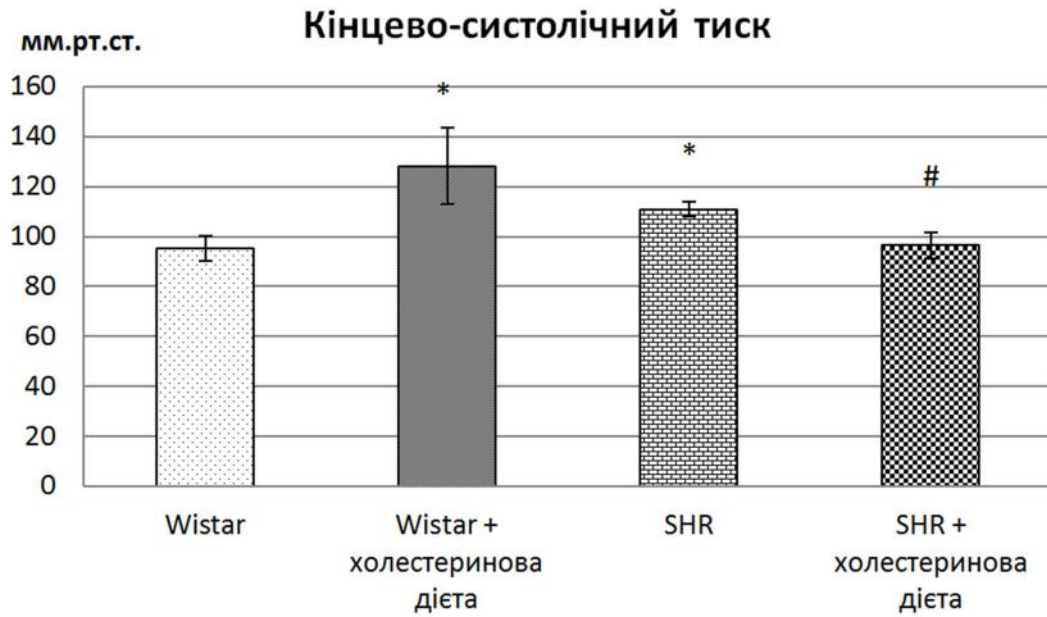


Рис.3.24. Кінцево-систолический тиск в серцях щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

Встановлено збільшення на 22% величини максимальної швидкості зміни тиску у щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти; у щурів SHR цей параметр знизився на 9% (рис. 3.25).



Рис.3.25. Максимальна швидкість зміни тиску (dPdt) в серцях щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

Встановлено збільшення на 99% величини кінцево-систолічної максимальної об'ємної жорсткості лівого шлуночка (E_{\max}) у щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти, сигналізуючи про погіршення здатності до скорочення; водночас спостерігалось зменшення цього параметру на 37% у щурів SHR (рис. 3.26).



Рис.3.26. Кінцево-систолічна максимальна об'ємна жорсткість лівого шлуночка в серцях щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти.

Діастолічна функція сердець щурів обох ліній змінилася за умов високохолестеринової дієти. Так, величина кінцево-діастолічного об'єму сердець у щурів Wistar зменшилася на 27%, тоді як у щурів SHR - зросла на 33% (рис. 3.27).

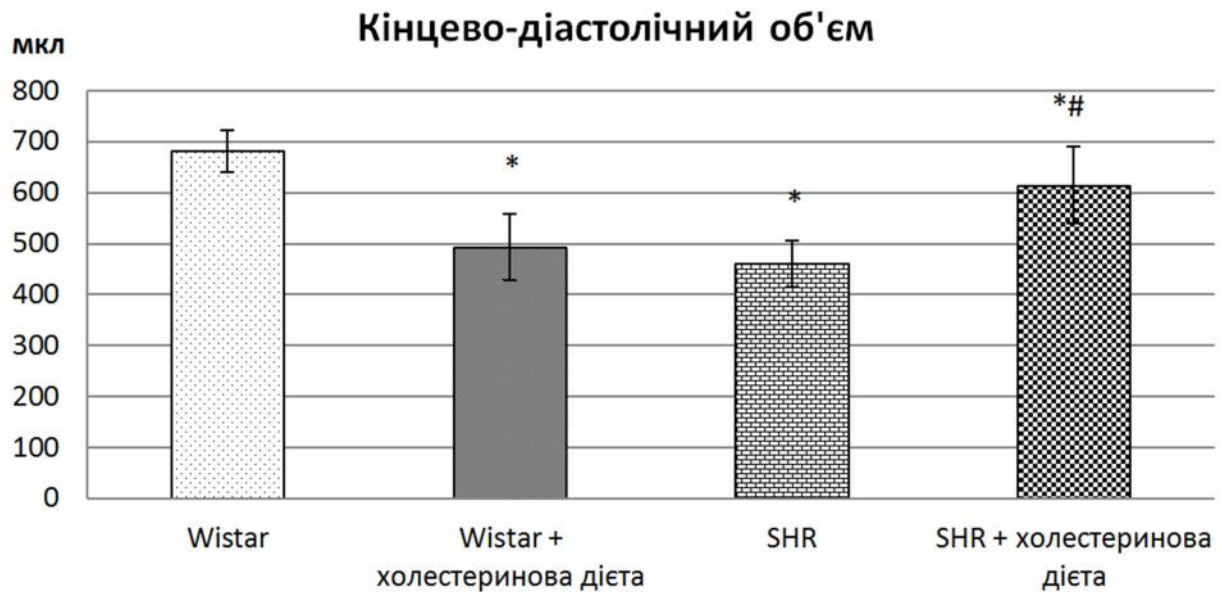


Рис. 3.27. Кінцево-діастолічний об'єм сердець щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

Встановлено збільшення на 93% величини кінцево-діастолічного тиску в серцях щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти й разом з попереднім параметром, вказуючи на напруженість діастолічної функції; у SHR щурів величина цього параметру вірогідно не змінюється (рис. 3.28).

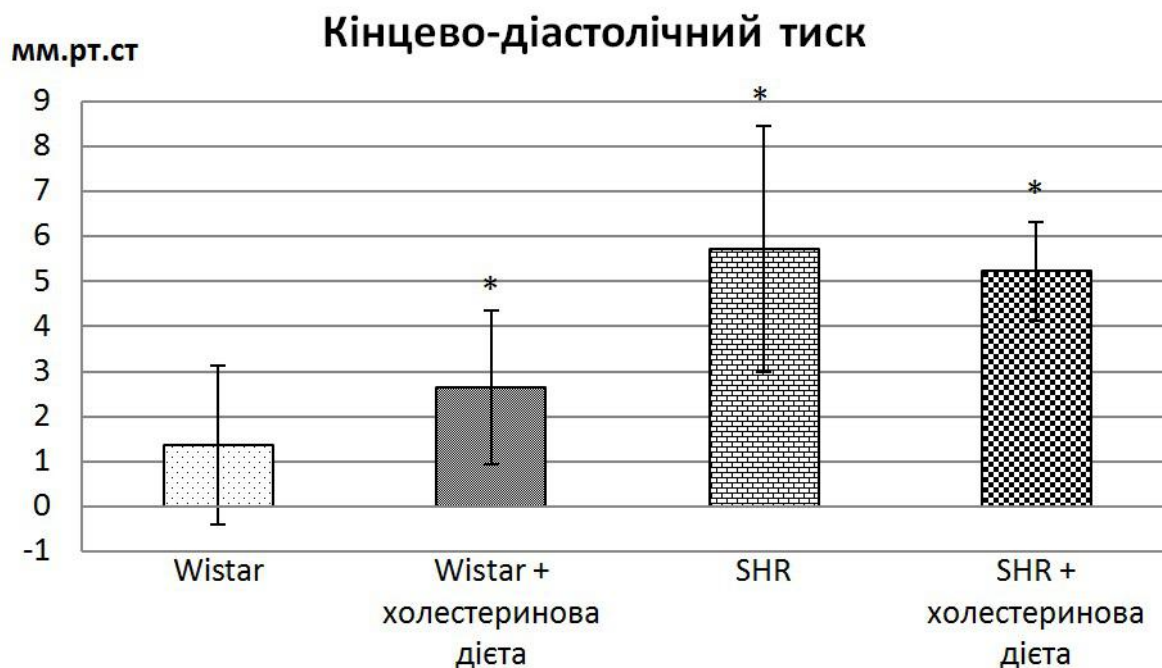


Рис.3.28. Кінцево-діастолічний тиск в серцях щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти.

Встановлено збільшення на 23% величини ізовольюмічної константи розслаблення лівого шлуночка Tau , за Вайсом у щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти; у SHR щурів реєструється зростання Tau на 6% (рис. 3.29).

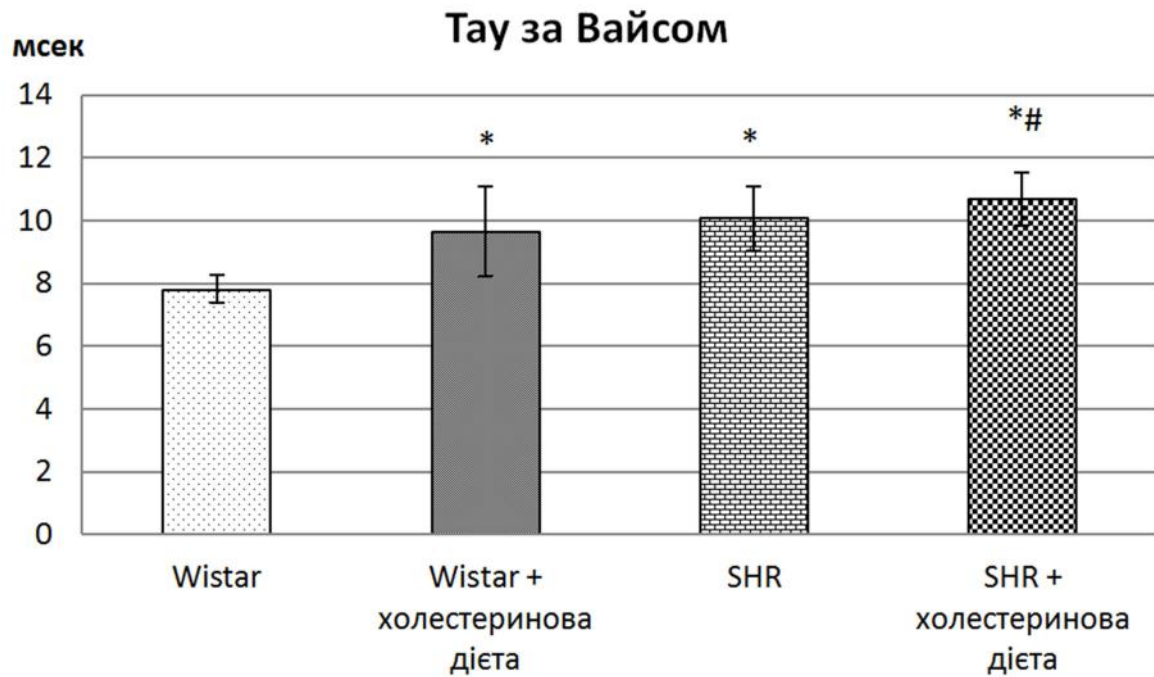


Рис.3.29. Ізоволумічна константа розслаблення сердець щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

Встановлено зменшення, відповідно, на 23% і на 6% максимальної швидкості розслаблення міокарду ($dPdt \text{ min}$) у щурів Wistar і SHR за умов високохолестеринової дієти (3.30).

Максимальна швидкість розслаблення міокарду

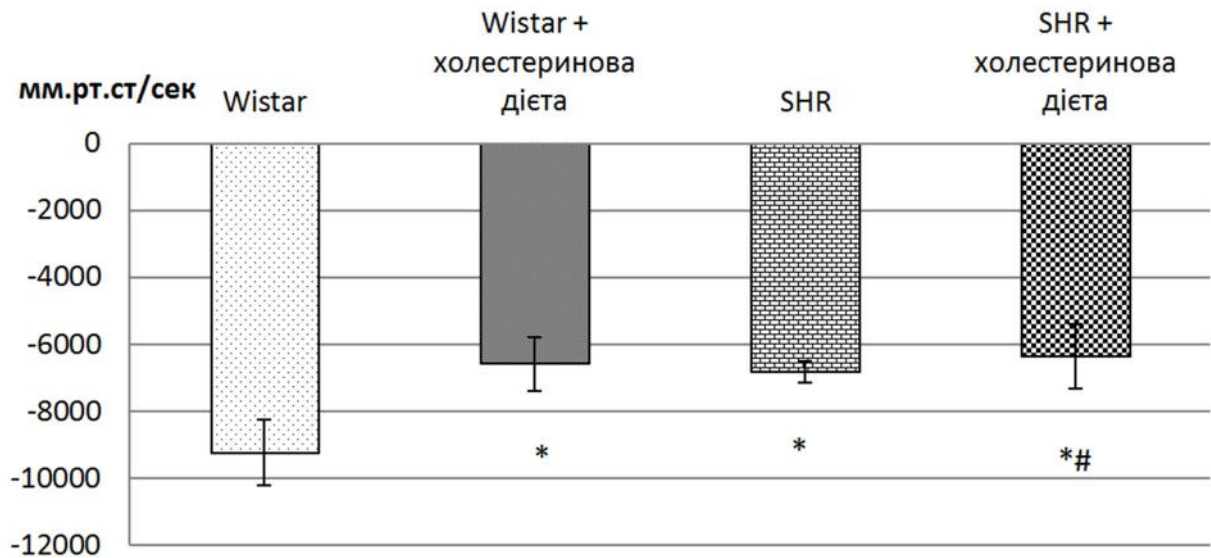


Рис. 3.30. Ізоволюмічна константа розслаблення сердець щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

За умов високохолестеринової дієти у щурів Wistar зросла у 2,3 рази величина артеріальної жорсткості, очевидно додаючи до навантаження лівому шлуночку; у SHR цей параметр знизився на 47% й, частково, цей факт пояснює зменшення навантаження на серцево-судинну систему (Рис. 3.31).

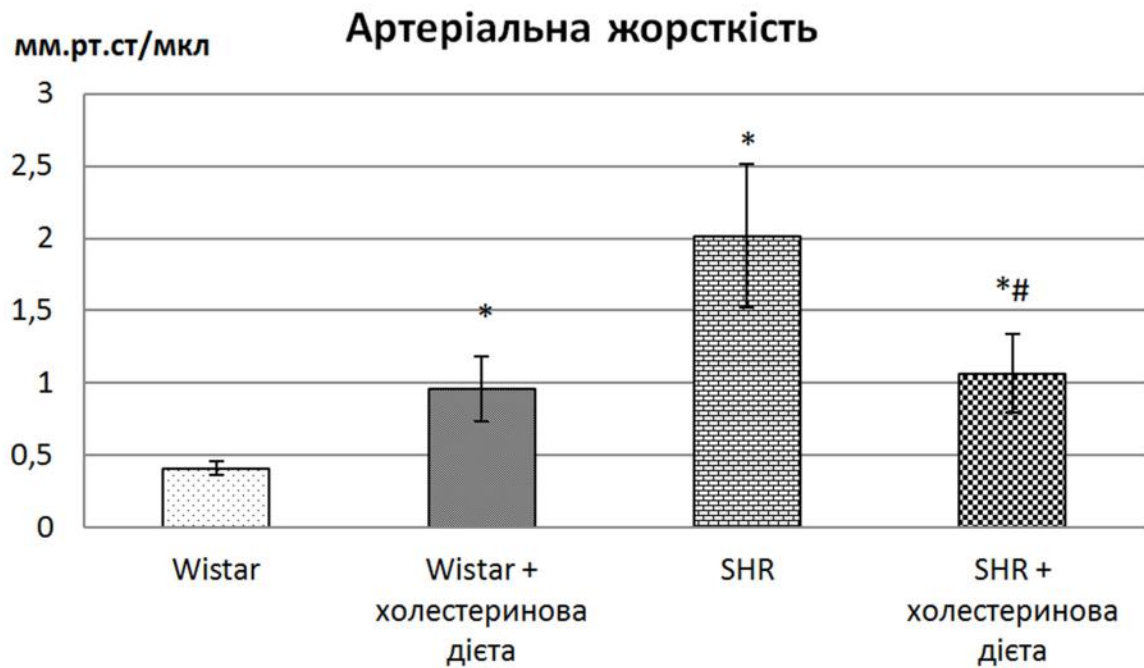


Рис.3.31. Артеріальна жорсткість щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні такими величинами у щурів Wistar за умов стандартної дієти, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця середніх груп даних у порівнянні з такими величинами у SHR щурів за умов стандартної дієти.

Таким чином, у щурів Wistar за умов холестеринової дієти порівняно з такими величинами у тварин за умов стандартної дієти спостерігалось зниження величин ударного об'єму лівого шлуночка на 20%; хвилинного об'єму крові на 33%; ударної роботи серця на 13%; кількості серцевих скорочень на 11%; кінцево-сistolічного об'єму на 33%; кінцево-діастолічного об'єму серця на 27%; максимальної швидкості розслаблення міокарду ($dPdt \min$) на 23%; зростання величин кінцево-сistolічного тиску на 34%; максимальної швидкості зміни тиску на 22%; кінцево-сistolічної максимальної об'ємної жорсткості лівого шлуночка (E_{\max}) на 99%; кінцево-діастолічного тиску в серцях на 93%; ізоволіумічної константи розслаблення лівого шлуночка Tau , за

Вайсом на 23%; артеріальної жорсткості у 2,3 рази; величина фракції викиду сердець була незмінною.

У щурів SHR за умов холестеринової дієти порівняно з тваринами на стандартній дієті спостерігалось зростання величин ударного об'єму лівого шлуночка на 72%; фракції викиду на 31%; хвилинного об'єму крові на 69%; ударної роботи серця на 77%; кінцево-сistolічного об'єму на 22%; кінцево-діастолічного об'єму сердець на 33%; ізоволюмічної константи розслаблення лівого шлуночка Тау на 6%; зменшення величин кінцево-сistolічного тиску на 22%; кількості серцевих скорочень на 6%; максимальної швидкості зміни тиску на 9%; кінцево-сistolічної максимальної об'ємної жорсткості лівого шлуночка (E_{\max}) на 37%; максимальної швидкості розслаблення міокарду ($dP_{dt \min}$) на 6%; артеріальної жорсткості на 47%; величина кінцево-діастолічного тиску в серцях не змінюється.

Ми можемо стверджувати, що холестеринова дієта впливає на кардіогемодинаміку щурів Wistar та спонтанногіпертензивних щурів по різному, вірогідно погіршуючи функцію перших, але покращуючи гемодинаміку останніх.

Пояснення отриманих даних на нашу думку здебільшого пов'язане з різким зменшенням артеріальної жорсткості, що таким чином знижує постнавантаження і можливо є причиною покращення інших кардіогемодинамічних показників.

Оцінено зміни функціонального стану серцево-судинної системи за умов гіпертензії, зокрема, менша на 67% насосна функція. За умов високохолестеринової дієти відмічено зниження насосної функції на 19% у щурів Wistar. Також на відміну від Wistar відмічено покращення в кардіогемодинаміці SHR за насосною функцією в середньому на 63%, що свідчить про протективний вплив високохолестеринової дієти. Зокрема, виявлено зменшення артеріальної жорсткості на 47%, що є значним фактором у зменшенні постнавантаження на серцевий м'яз.

Результати представлені в розділі опубліковані:

1. Portnichenko G.V. Cholesterol-rich diet induced improvement of hemodynamic system indices in SHR / Portnichenko G.V., Goncharov S.V., Stroy D.O., Dosenko V.E. // Фізіологічний журнал. – 2019. – 65, №2. – С. 68-75.
2. Лапікова-Бригінська Т. Ю, Гончаров С. В., Портніченко Г. В., Тумановська Л. В., Портніченко А.Г., Досенко В. Є., Мойбенко О. О. Вікові зміни структури і функції серця у спонтанно-гіпертензивних щурів // Вісник морфології. – 2014. – 20, №2. – С.383-388.
3. Linnik O., Drevytska T., Tarasova K., Portnichenko G., Dosenko V., Mankovska I.. Doxorubicin-induced disturbances of cardiomyocyte contractile activity// Fiziol. Zh. 2016; 62(6): 65-71.

РОЗДІЛ 4. ЗМІНИ ЛІПОПРОТЕЇДНОГО СКЛАДУ КРОВІ ТА МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА АОРТИ ЗА НОРМАЛЬНИХ УМОВ ТА ЗА УМОВ ВИСОКОХОЛЕСТЕРИНОВОЇ ДІЄТИ У СПОНТАННОГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ (SHR)

4.1. Рівні ліпопротеїдів в крові у спонтанногіпертензивних щурів

Досліджуючи рівень ліпідів в крові щурів Wistar та SHR ми не очікували суттєвої різниці, оскільки гіпертензія не є відомим фактором ризику порушень ліпідного обміну.

Рівень тотального холестерину відображає стан загального ліпідного гомеостазу. Й, оскільки, гомеостаз є завжди системою протидії механізмів продукування й поглинання, то цей параметр дає нам зрозуміти, чи наявні в організмі порушення пов'язані з ліпідним обміном.

Не встановлено вірогідної відмінності концентрації тотального холестерину у SHR відносно Wistar (рис. 4.1).

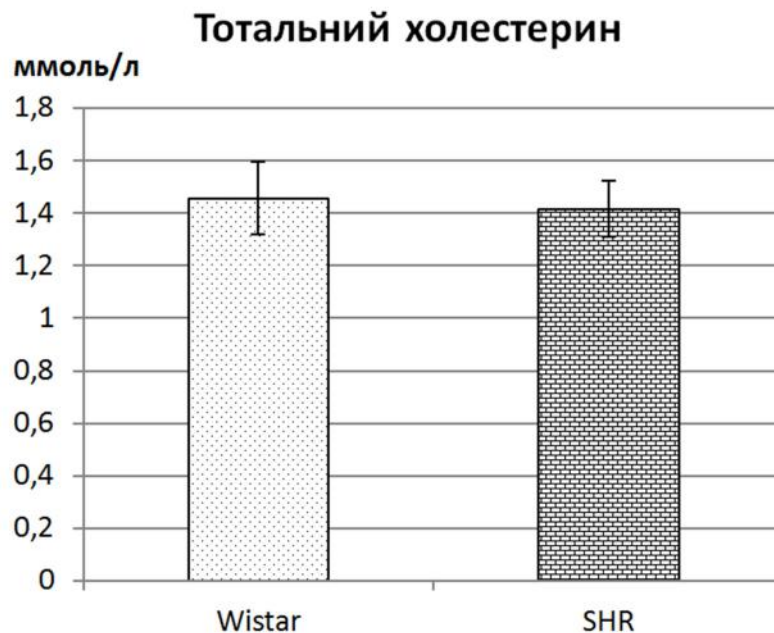


Рис. 4.1. Рівень тотального холестерину в крові щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Рівень тригліцеридів є ще одним важливим для ліпідного гомеостазу параметром, що показує концентрацію одного з основних енергозберігаючих субстратів в організмі.

Встановлено збільшення рівня тригліцеридів у SHR на 34,75% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис. 4.2).

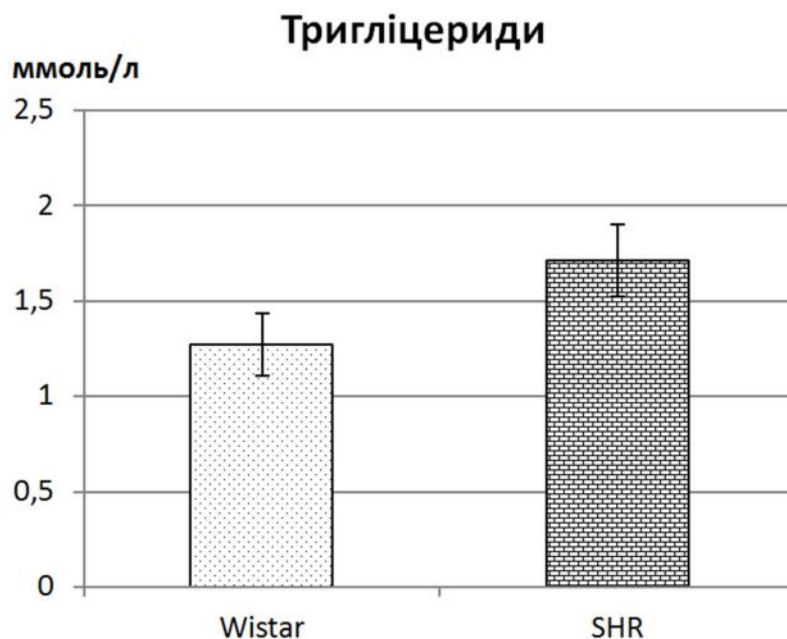


Рис.4.2. Рівень тригліцеридів в крові щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Ліпопротеїди високої щільності є однією з основних ліпопротеїдних фракцій, їх основна функція це доставка молекул холестерину від клітин до печінки та інших тканин. І оскільки ця фракція негативно корелює з ризиком

виникнення атеросклерозу то вона є дуже важливим параметром у ліпідному метаболізмі.

Встановлено зменшення рівня ліпопротеїдів високої щільності у SHR на 12% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.4.3).

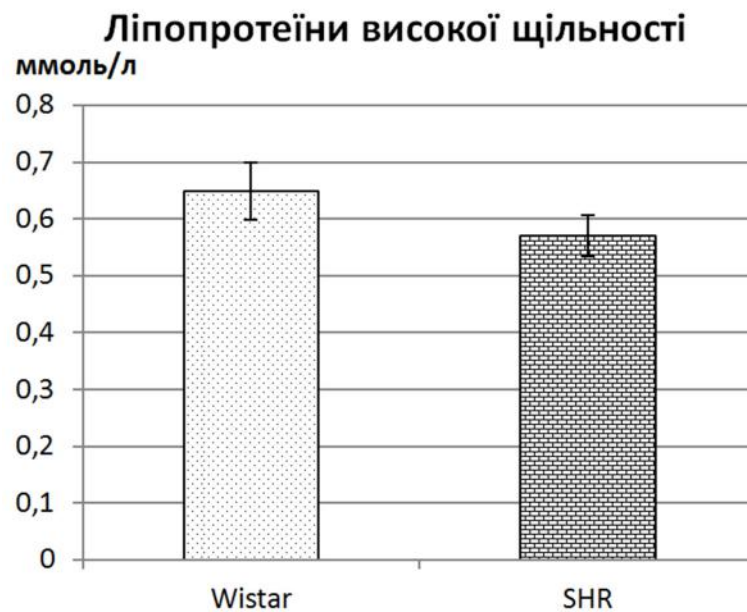


Рис. 4.3. Рівень ліпопротеїдів високої щільності в крові щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Ліпопротеїди низької щільності також є однією з основних фракцій ліпопротеїдів. Вони є продуктом метаболізму ліпопротеїдів дуже низької та середньої щільності й здебільшого захоплюються з крові печінкою, а решта є джерелом холестерину та різноманітних ліпідів для клітин. Рівень ліпопротеїдів низької щільності позитивно корелює з ризиком атерогенезу.

Встановлено зменшення рівня ліпопротеїдів низької у SHR на 13% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис. 4.4).



Рис.4.4. Рівень ліпопротеїдів низької щільності в крові щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Ліпопротеїди дуже низької щільності також відносяться до основних ліпопротеїдних фракцій. Вони продукуються печінкою й доставляють різні ліпідні молекули, зокрема до жирових клітин, можуть також бути метаболізовані різними клітинами. Рівень ліпопротеїдів дуже низької щільності залежить від надлишку ліпідів у печінці.

Встановлено збільшення рівня ліпопротеїдів дуже низької щільності у SHR на 34,8% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.4.5).

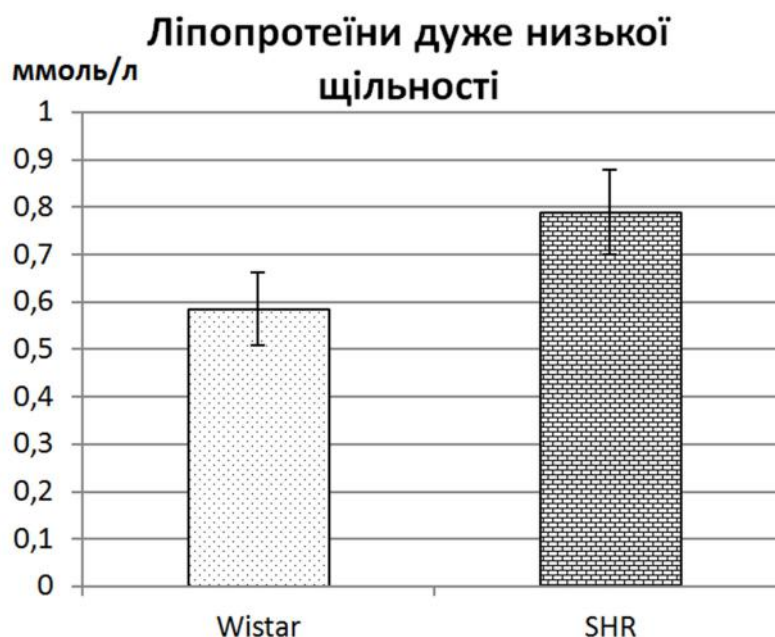


Рис. 4.5. Рівень ліпопротеїдів дуже низької щільності в крові щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Індекс атерогенності є параметром що визначається рівнем ліпопротеїдів високої щільності по відношенню до загального пулу холестерину. Він використовується для оцінки ризику атерогенезу.

Встановлено збільшення величини Індекса атерогенності у SHR на 22% у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.4.6).



Рис. 4.6. Індекс атерогенності у щурів Wistar та SHR.

Примітки: тварини перебували на стандартній дієті; * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у SHR відносно таких величин у Wistar.

Отже, оцінюючи рівні ліпопротеїдів в крові спонтанногіпертензивних щурів встановлено зменшення величин: 1) ліпопротеїдів високої щільності на 12%; 2) рівня/концентрації ліпопротеїдів низької на 13% у порівнянні з такою у щурів Wistar; збільшення величин: 1) рівня тригліцеридів на 34,75%; 2) рівня/концентрації ліпопротеїдів дуже низької щільності на 34,8%; 3) індекса атерогенності на 22% у порівнянні з такою у щурів Wistar, а також не встановлено вірогідних відмінностей величини середніх груп даних (рівня) тотального холестерину у SHR відносно таких величин у Wistar.

4.2. Вміст ліпопротеїдів в крові у спонтанногіпертензивних щурів за умов високохолестеринової дієти

Так, показники ліпідного складу крові щурів Wistar за умов холестеринової дієти відрізнялися від таких величин у тварин за умов стандартної дієти, зокрема: тотальний холестерин збільшився на 84%,

ліпопротеїди високої щільності на 26%, ліпопротеїди низької щільності зросли в 6 разів. Також ми спостерігали зміни таких показників у спонтанно-гіпертензивних щурів за умов холестеринової дієти у порівнянні з відповідними величинами у таких тварин за умов стандартної дієти: тотальний холестерин збільшився на 81%, ліпопротеїди високої щільності на 37%, а низької щільності в 3,9 разів (рис. 4.7).

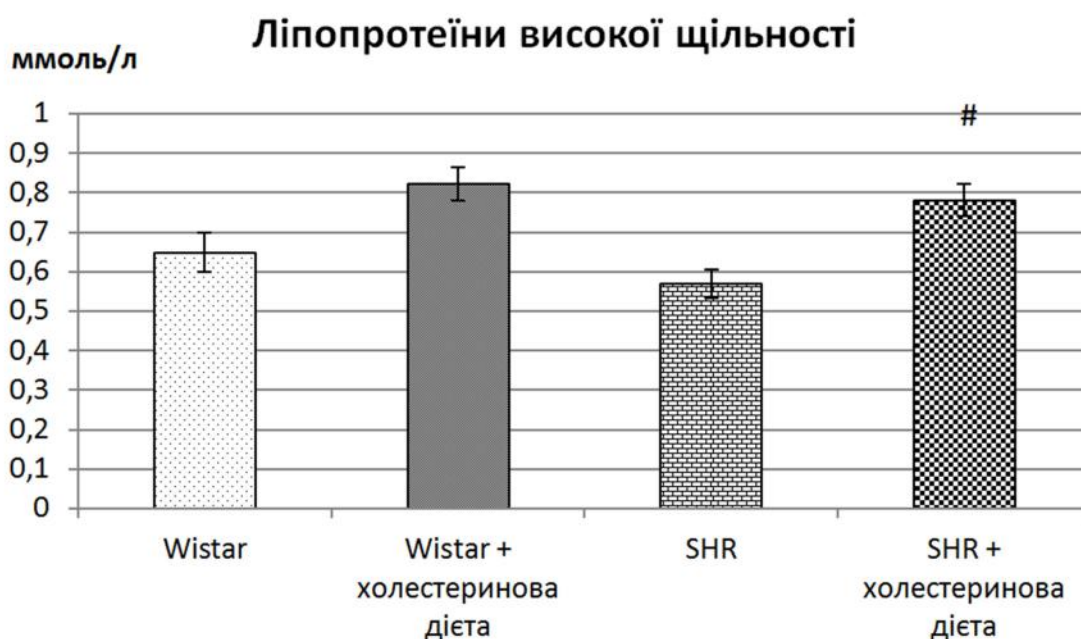
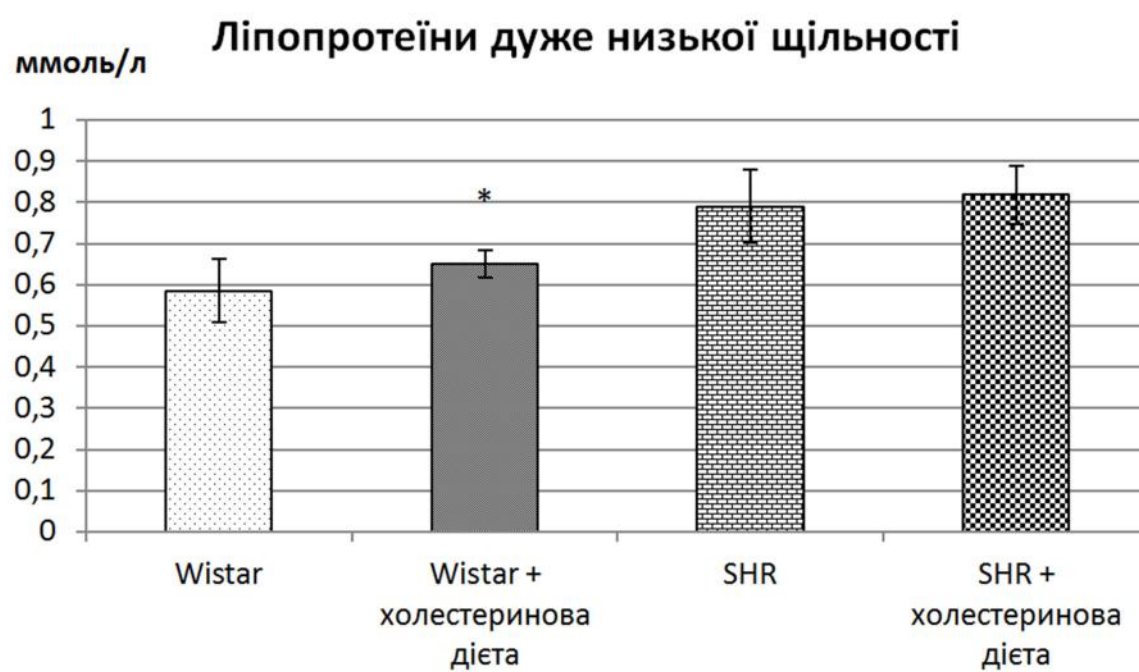
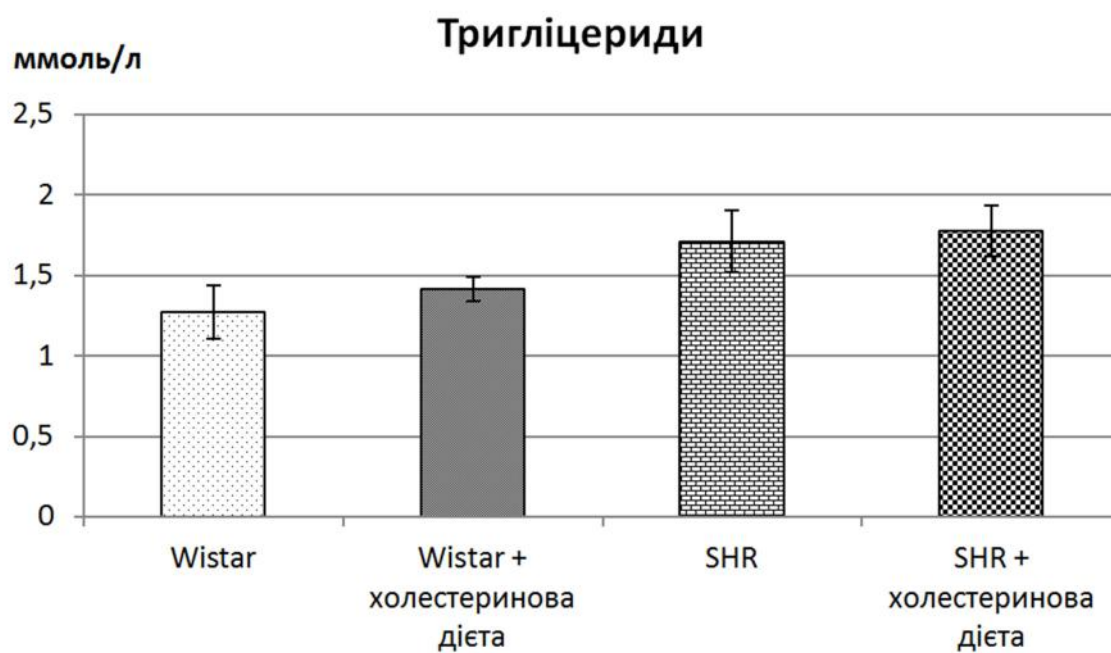




Рис. 4.7. Рівні загального холестерину, ліпопротеїнів високої та низької щільності у крові щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти (3%).

Примітки: * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у порівнянні з Wistar на стандартній дієті, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця у порівнянні зі спонтанногіпертензивними щурами на стандартній дієті.

Не виявлено статистично достовірних відмінностей у рівнях тригліцеридів, ліпопротеїнів дуже низької щільності та індексу атерогенності у крові щурів SHR та Wistar за умов високохолестеринової дієти. Однак порівнюючи середні значення в групах маємо відмітити ріст тригліцеридів на 11%, ліпопротеїнів дуже низької щільності на 10%, а індексу атерогенності в 2,1 рази у Wistar за умов високохолестеринової дієти. Тоді як у спонтанногіпертензивних тварин за умов високохолестеринової дієти рівень тригліцеридів зріс на 3%, ліпопротеїнів дуже низької щільності також на 3%, а індекс атерогенності на 47% (рис. 4.8).



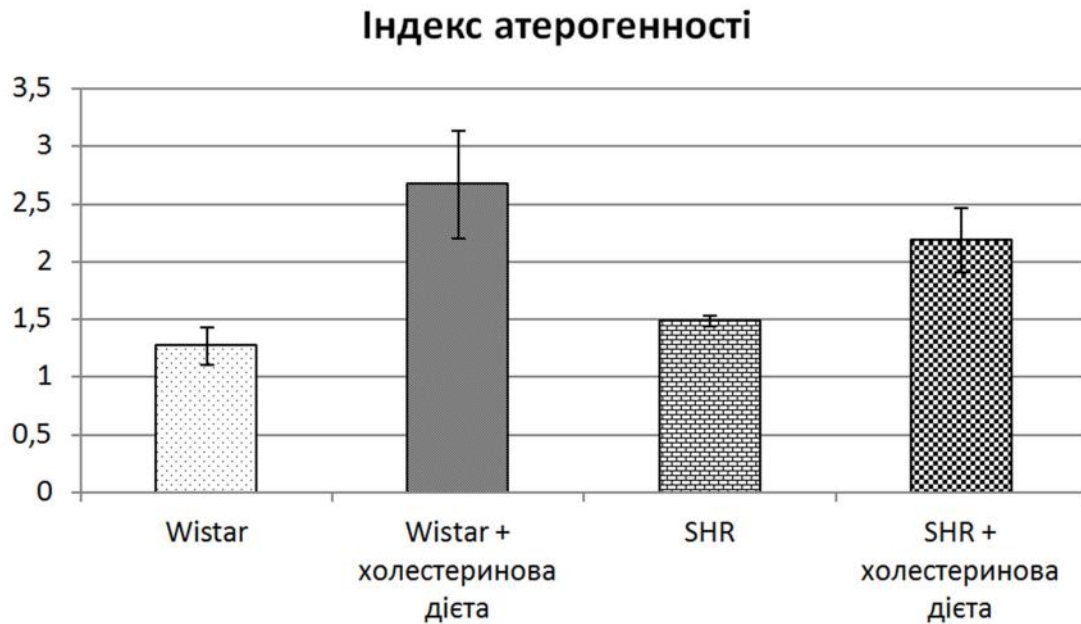


Рис.4.8. Рівень тригліцеридів, ліпопротеїнів дуже низької щільності та індексу атерогенності у крові щурів Wistar та SHR за умова стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп даних у порівнянні з Wistar на стандартній дієті, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця у порівнянні зі спонтанногіпертензивними щурами на стандартній дієті.

Ми вважаємо, що SHR менш сприйнятливі до впливу холестеринової дієти на величину рівня ліпідних фракцій в крові оскільки рівень їх ліпопротеїнів низької щільності порівняно з таким за умов стандартної дієти зростає меншою мірою ніж у Wistar, водночас, зростання рівня ліпопротеїнів високої щільності порівняно з таким за умов стандартної дієти було більш вираженим у SHR.

Ще одним показником, що дає нам змогу оцінити характер змін є величина індексу атерогенності. Останній, як було показано за умов високохолестеринової дієти зростає в обох групах тварин, однак більш виражено у Wistar. Такі дані, мабуть, зумовлені певним прекодиціюванням SHR як наслідок впливу високого тиску.

Таким чином, за умов холестеринової дієти у щурів Wistar відбуваються зміни показників ліпідного складу, зокрема: збільшення рівнів: загального холестерину - на 84%, ліпопротеїдів високої щільності - на 26%, ліпопротеїдів низької щільності у 6 разів у порівнянні з такими за умов стандартної дієти; у щурів SHR за умов холестеринової дієти відбувається збільшення рівнів: загального холестерину на 81%, ліпопротеїдів високої щільності на 37%, а низької щільності в 3,9 разів у порівнянні з відповідними величинами за умов стандартної дієти. За умов високохолестеринової дієти не виявлено статистично достовірних відмінностей у рівнях тригліцеридів, ліпопротеїнів дуже низької щільності та індексу атерогенності у SHR у порівнянні з відповідними величинами у Wistar.

4.3 Морфометричні (гістологічні) зміни серцево-судинної системи у спонтанногіпертензивних щурів

Індекс маси серця є одним з базових параметрів, що характеризує стан серця. Він дозволяє оцінити рівень навантаження на серце показуючи його вагу відносно ваги тіла.

Порівнюючи SHR щурів з Wistar ми отримали статистично достовірні зміни в індексі маси серця.

Встановлено збільшення величини індексу маси серця у щурів SHR на 29% у порівнянні з такою у Wistar (рис.4.9).

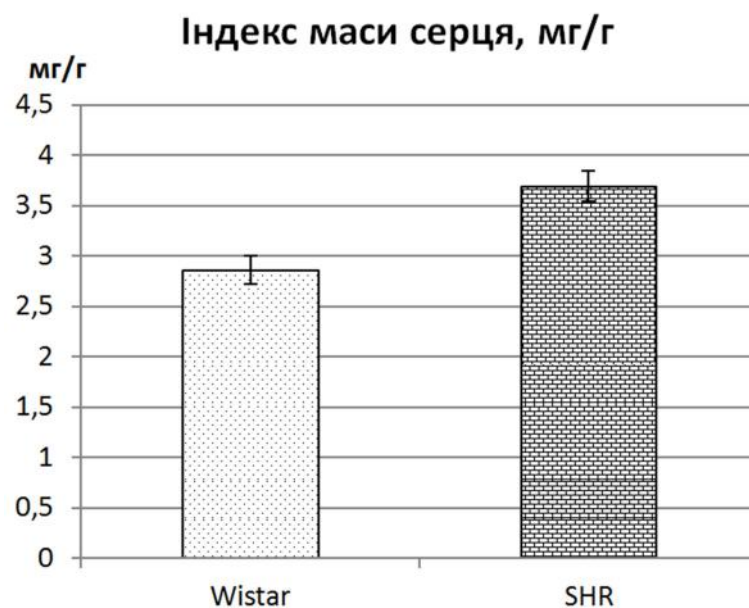


Рис. 4.9. Індекс маси серця щурів SHR і Wistar.

Примітка: Щури перебували на стандартній дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп експериментальних (SHR) і контрольних (Wistar) даних.

Морфометричний аналіз зразків аорти показав нам певні відмінності між щурами Wistar та спонтанно-гіпертензивними щурами.

Так у щурів SHR товщина стінки аорти була на 36,3% більша за таку у Wistar (Рис. 4.10.).

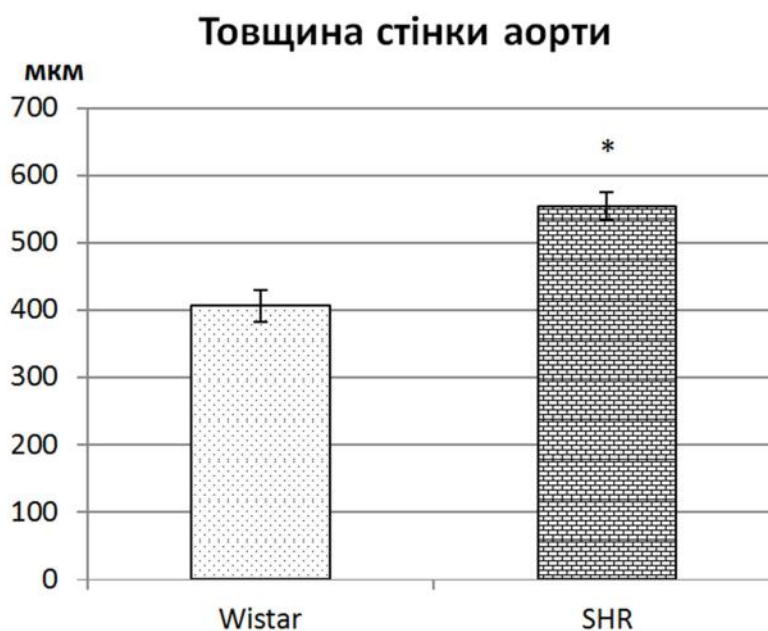


Рис. 4.10. Товщина стінки аорти щурів SHR і Wistar.

Примітка: Щури перебували на стандартній дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп експериментальних (SHR) і контрольних (Wistar) даних.

Товщина інтими є важливим параметром для оцінки стану судини й гемодинамічного навантаження, оскільки інтима є першим шаром, що витримує тиск крові. Так можна оцінити стан судини й адаптації до навантаження тиском.

Встановлено збільшення товщини інтими в аортах у щурів SHR на 92% у порівнянні з такою у Wistar (рис.4.11).

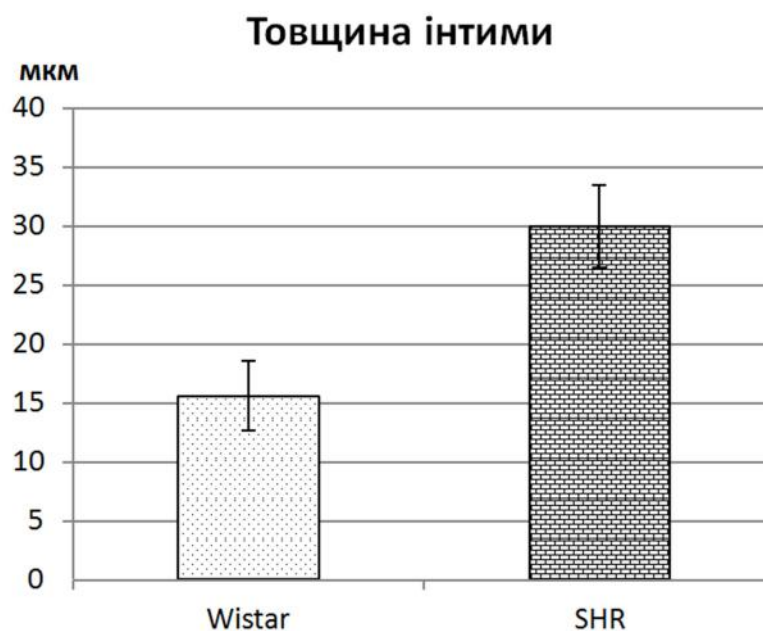


Рис. 4.11. Товщина інтими аорти у щурів SHR і Wistar.

Примітка: Щури перебували на стандартній дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп експериментальних (SHR) і контрольних (Wistar) даних.

Співвідношення інтима/медіа є параметром що характеризує морфологічні зміни у судинній стінці.

Встановлено збільшення величини співвідношення інтима/медіа в аортах у щурів SHR на 45% у порівнянні з такою у Wistar (рис.4.12).

Ми можемо припустити що ці зміни у SHR щурів більше пов'язані з потовщенням інтими аніж м'язового шару.

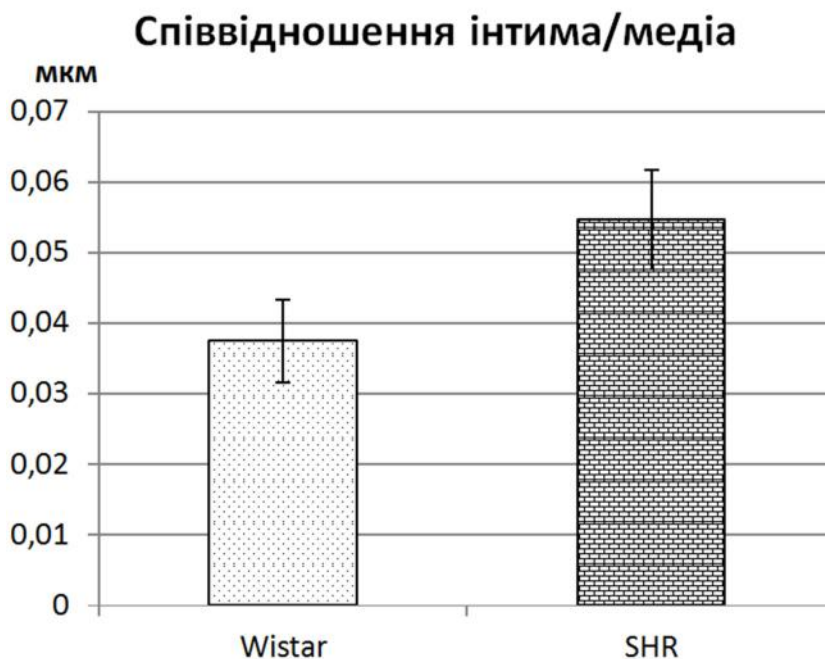


Рис. 4.12. Співвідношення Інтима/медіа у аортах щурів SHR і Wistar.

Примітка: Щури перебували на стандартній дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп експериментальних (SHR) і контрольних (Wistar) даних.

Кількість та товщина шарів гладко-м'язових клітин – це параметри, що характеризують стан медії у артерії.

Встановлено збільшення кількості шарів гладко-м'язових клітин у аортах на 13% й більшу товщину шару гладко-м'язових клітин у аортах на 18,5% у щурів SHR у порівнянні з такими у Wistar (рис.4.13 і 4.14).



Рис. 4.13. Кількість шарів гладко-м'язових клітин у аортах щурів SHR і Wistar.

Примітка: Щури перебували на стандартній дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп експериментальних (SHR) і контрольних (Wistar) даних.



Рис. 4.14. Товщина шарів гладко-м'язових клітин у аортах щурів SHR і Wistar.

Примітка: Щури перебували на стандартній дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп експериментальних (SHR) і контрольних (Wistar) даних.

Таким чином, встановлено збільшення величин: 1) індексу маси серця на 29%; 2) товщини стінки аорти на 36,3%; 3) товщини інтими в аортах на 92%; 4) величини співвідношення інтима/медіа в аортах на 45%, а також 5) кількості шарів гладко-м'язових клітин у аортах на 13% і 6) більшу товщину шару гладко-м'язових клітин у аортах на 18,5% у щурів SHR у порівнянні з такими у Wistar.

4.4 Морфометричні (гістологічні) зміни серцево-судинної системи у спонтанногіпертензивних щурів за умов холестеринової дієти

На напівтонких зрізах у щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти відмічено невелике потовщення інтими, однак без суттєвих змін (рис. 4.15B).

У щурів SHR за умов стандартної дієти відмічено більш значне потовщення інтими, ознаки відшарування ендотелію, потовщення окремих шарів ГМК й потовщення стінки аорти загалом (рис. 4.15C).

У щурів SHR за умов високохолестеринової дієти відмічено значне потовщення всієї стінки аорти, шарів ГМК й інтими (рис. 4.15D).

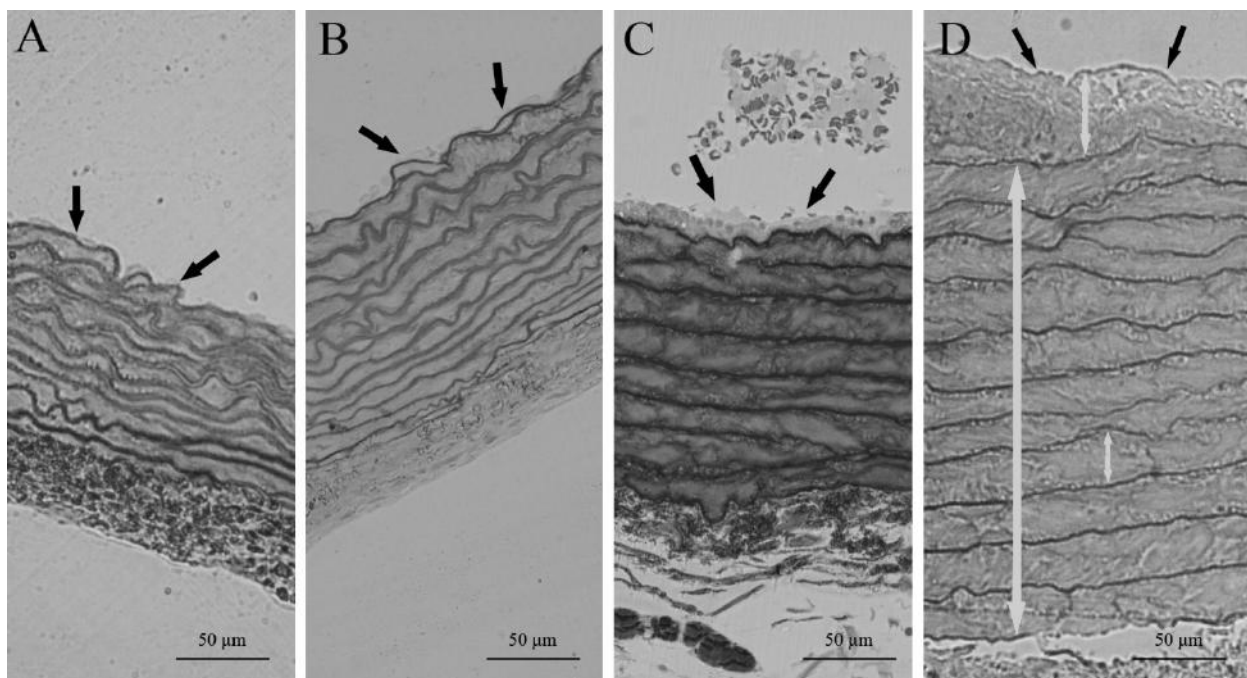


Рис.4.15. Стінки аорти щурів Wistar та SHR за умов нормальної та високохолестеринової дієти, зб $\times 1000$.

Примітки: А – щури Wistar за умов стандартної дієти; В – щури Wistar за умов високохолестеринової дієти; С – щури SHR за умов стандартної дієти; D – щури SHR за умов холестеринової дієти.

Нами також було проведено кількісний аналіз гістологічних зрізів й визначено зміни показників.

Індекс маси серця був вищим у SHR щурів, як уже зазначено вище (розділ 3). За умов високохолестеринової дієти було відмічено зростання величини індекса маси серця на 11,6% у щурів Wistar, і на 4,3% у SHR щурів (рис.4.16). Проте, такі зміни не були статистично достовірними, тому немає підстав стверджувати, що маса серця змінюється за умов високохолестеринової дієти.

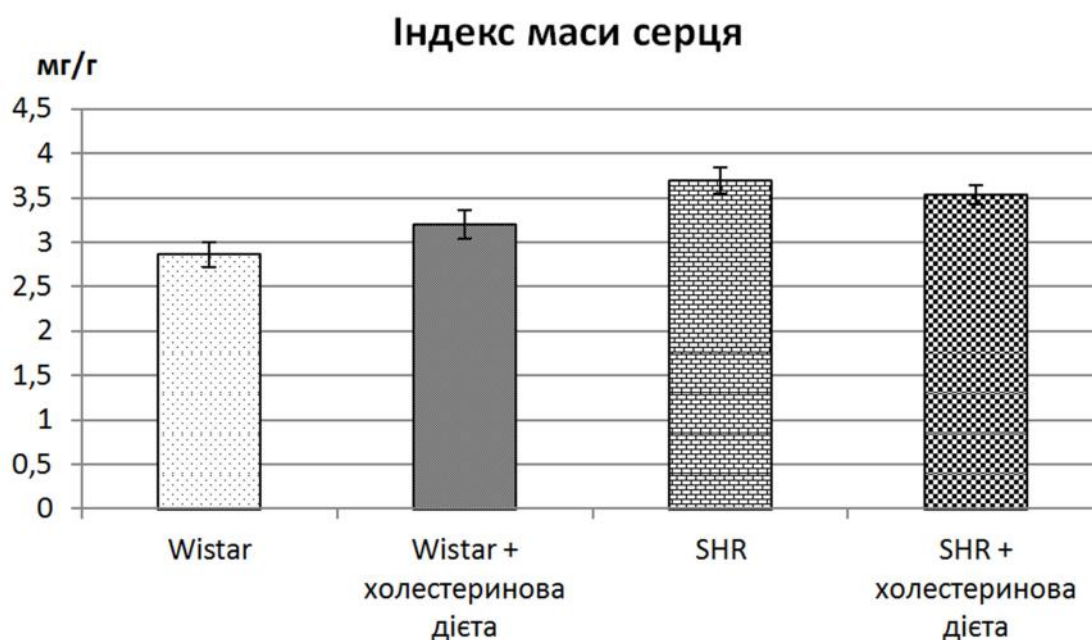


Рис. 4.16. Індекс маси серця у щурів Wistar та SHR за умов нормальної і високохолестеринової дієти.

Примітка: Щури перебували на стандартній та холестериновій дієті.

Товщина стінки аорти була вищою у SHR щурів (розділ 3). За умов високохолестеринової дієти спостерігається незначне (на 7,1%) зменшення товщини стінки аорти у щурів Wistar, тоді як у SHR щурів величина цього параметру не змінюється (рис. 4.17).



Рис.4.17. Товщина стінки аорти у щурів Wistar та SHR за умов нормальної і високохолестеринової дієти.

Примітка: Щури перебували на стандартній та високохолестериновій дієті.

* - $p < 0.05$ - вірогідність рівності величин середніх значень даних досліджуваної групи і контрольної (Wistar) даних.

За умов стандартної дієти величина шару інтими була більшою у щурів SHR у порівнянні з такою у щурів Wistar. За умов високохолестеринової дієти величина шару інтими зменшується на 24% у щурів Wistar; товщина інтими збільшується на 78% у SHR щурів (рис.4.18).

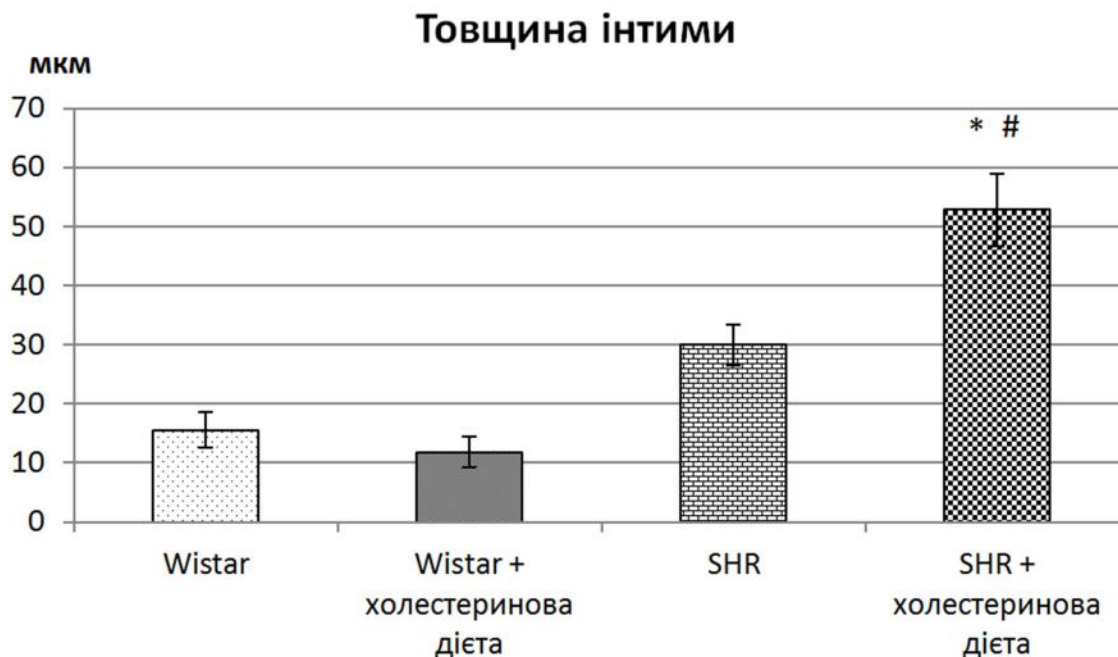


Рис.4.18. Товщина інтими стінки аорти у щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітка: Щури перебували на стандартній та холестериновій дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність рівності величин середніх значень даних досліджуваної групи і контрольної (Wistar) даних. # - $p < 0.05$ - вірогідність рівності величин середніх значень даних досліджуваної групи і контрольної (SHR).

Встановлено зростання на 8,8% кількості шарів гладко-м'язових клітин у щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти, і на 7,8% у SHR (рис.4.19).

Товщина шарів гладко-м'язових клітин була вищою у SHR щурів порівняно з Wistar (розділ 3). За умов високо холестеринової дієти відбувається зменшення товщини шарів гладко-м'язових клітин на 20,7% у щурів Wistar і на 10,6% у щурів SHR (рис. 4.19).

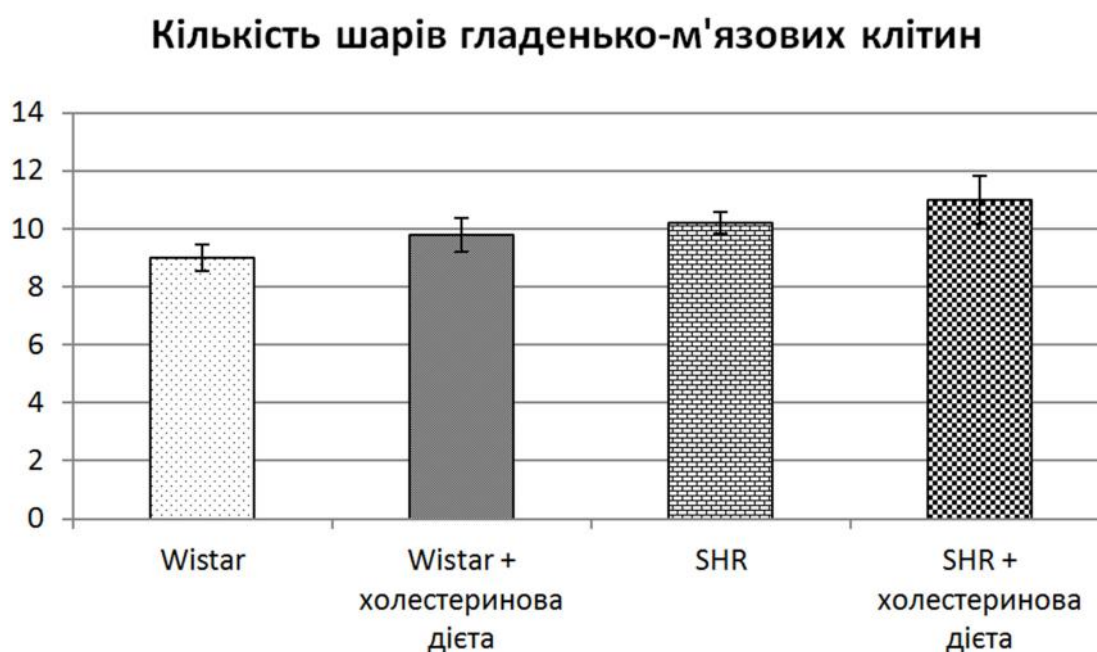
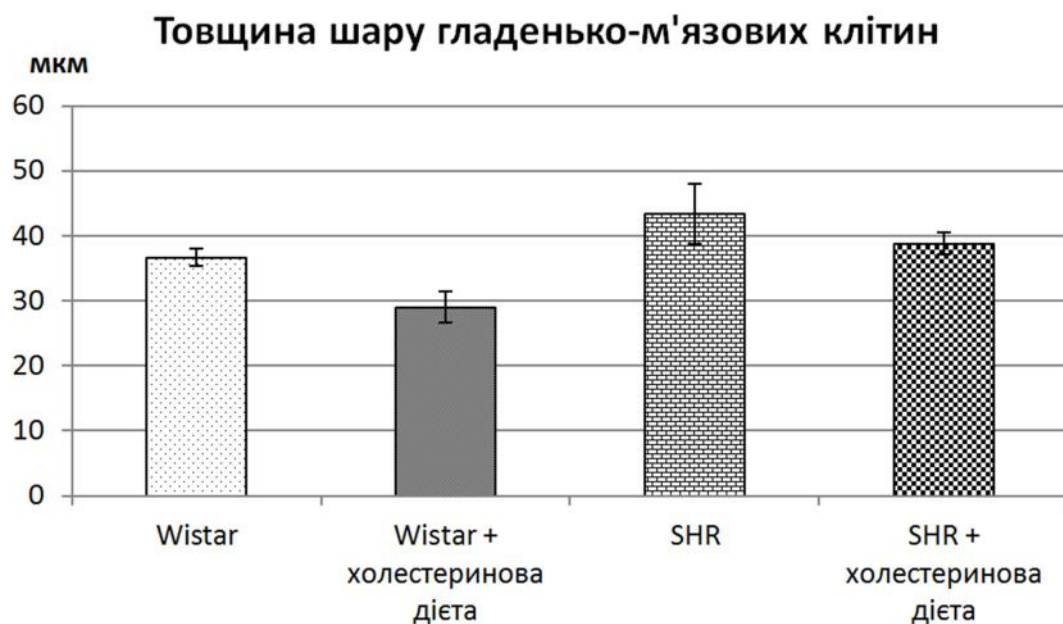


Рис.4.19. Товщина та кількість шарів гладко-м'язових клітин в стінці аорти щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітка: Щури перебували на стандартній та холестериновій дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність рівності величин середніх значень даних досліджуваної групи і контрольної (Wistar) даних. # - $p < 0.05$ - вірогідність рівності величин середніх значень даних досліджуваної групи і контрольної (SHR).

4.5. Ліпідна інфільтрація стінки аорти

Встановлювали наявність ліпідної інфільтрації в тканинках стінки аорти, а також здійснювали кількісний обрахунок її величин. З цією метою ми використали специфічний до ліпідів барвник з наступним мікроскопічним дослідженням й кількісним аналізом отриманих фотографій.

Специфічного забарвлення у щурів Wistar не спостерігалось (рис. 4.20A,B). У щурів SHR відмічено незначну забарвленість (рис.4.20C), що може свідчити про незначну інфільтрацію; за умов високохолестеринової дієти реєструється помірна інфільтрація (рис.4.20D).

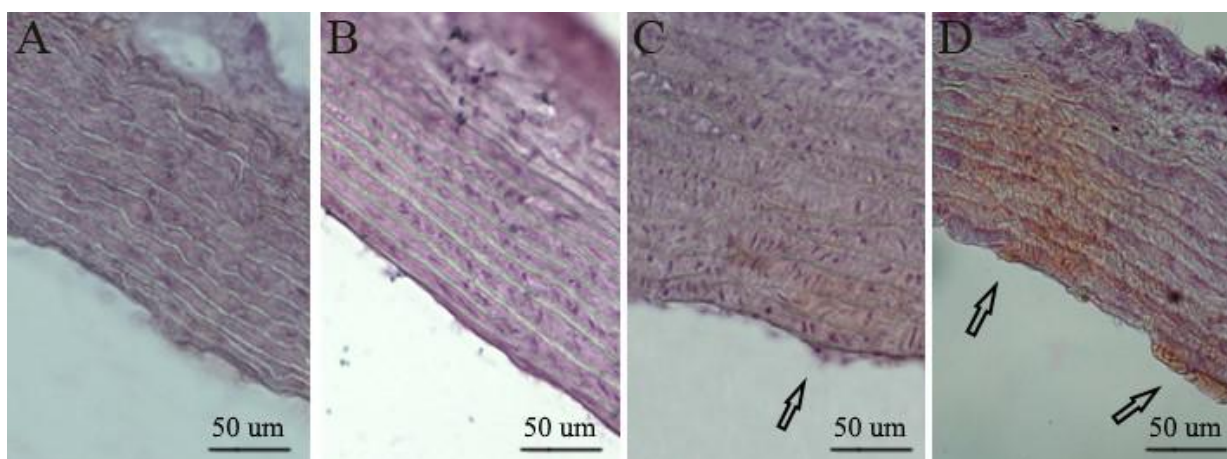


Рис.4.20. Ліпідна інфільтрація стінки аорти у щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високо холестеринової дієти, зб $\times 1000$.

Примітки: Для специфічного забарвлення ліпідів використано методику забарвлення Oil-Red. А, В — зразки стінки аорти щурів Wistar за умов стандартної та високохолестеринової дієти, ліпідної інфільтрації не виявлено; С — зразки стінки аорти у щурів SHR за умов стандартної дієти, відмічено незначний ліпідоз; D — зразки стінки аорти у щурів SHR за умов високо холестеринової дієти, виражений ліпідоз.

Кількісний аналіз отриманих зразків дає чітке розуміння прогресування ліпідної інфільтрації. Так у щурів Wistar не спостерігалось ліпідної інфільтрації

в жодному з отриманих зразків, тому є підстави стверджувати, що у щурів Wistar не встановлено зміни стінки аорти за умов високохолестеринової дієти.

У щурів SHR встановлено ліпідну інфільтрацію за умов стандартної дієти (0,48%); встановлено вірогідне підвищення ліпідної інфільтрації до 2,79% за умов високохолестеринової дієти (рис.4.21).

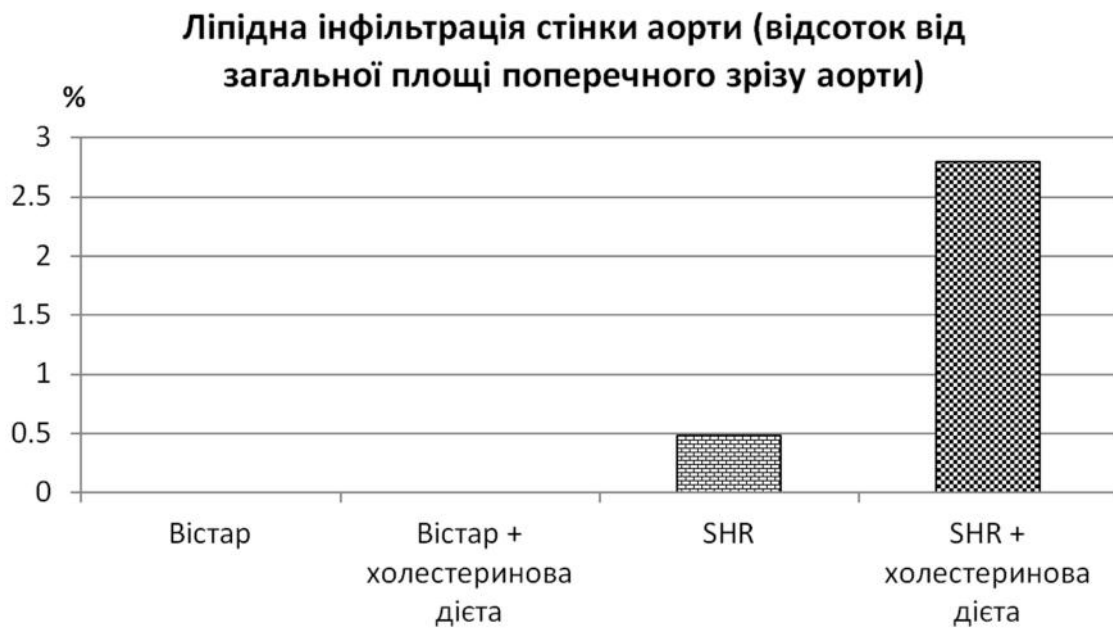


Рис.4.21. Відсоток ліпідної інфільтрації стінки аорти у щурів Wistar та SHR за умов стандартної та високо холестеринової дієти.

Примітка: Щури перебували на стандартній та холестериновій дієті.

4.6. Ультраструктурні дослідження стінки аорти щурів Wistar та SHR

У щурів Wistar за умов високо холестеринової дієти встановлено потовщення інтими за рахунок вип'ячувань базальної мембрани, що формують вакуолеподібні утворення з інсудатом всередині. Також нами було відмічено дещо змінену орієнтацію ендотеліоцитів (рис.4.22 В).

У щурів SHR спостерігалось більш виражене потовщення інтими, наявність великої кількості сполучнотканинних елементів в інтимі, ознаки відшарування ендотелію, порушення контактів між ендотеліоцитами, ознаки

десквамації; відмічено порушення ультраструктури мітохондрій (рис.4.22 С). Виявлені порушення у SHR були вогнищевими.

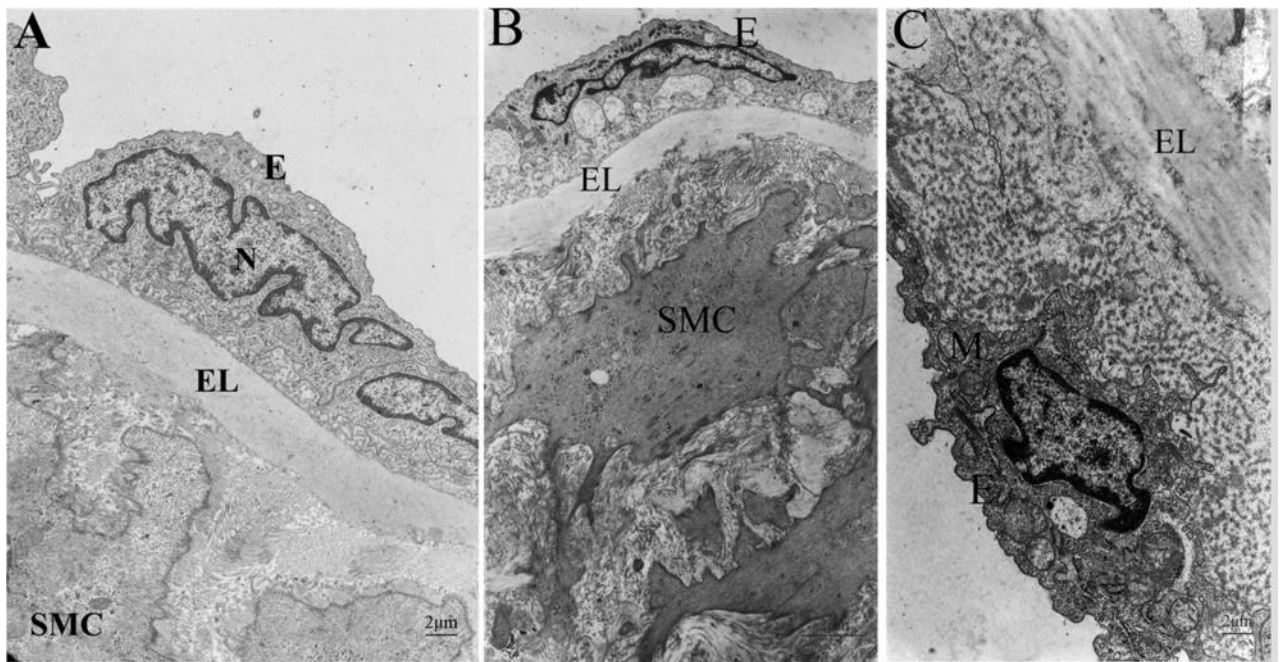


Рис.4.22. Стінки аорти щурів Wistar і SHR за умов стандартної та високохолестеринової дієти, зб $\times 1000$.

Примітки: А - стінки аорти щурів Wistar за умов стандартної дієти, В - стінки аорти щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти; С - стінки аорти щурів SHR за умов стандартної дієти. SMC – гладком'язові клітини, EL– еластична мембрана, Е – ендотеліоцити, М – мітохондрії.

За умов високохолестеринової дієти встановлено збільшення кількості таких вогнищ ураження, а також з'являються великі вакуолі з інсудатом (рис. 4.23А, F), порушення нормальної структури ендотеліоцитарної вистілки аж до повної десквамації ендотеліоцитів та оголення базальної мембрани (рис. 4.23), місцями пошкодження та порушення її цілісності, в деяких місцях колагенові волокна зі складу еластичної мембрани втрачали когерентність і однонаправленість (Рис.4.23В, С, Е, F, G). Крізь такі розриви спостерігалася міграція гладком'язових клітин, що змінювали свій фенотип на секреторний (рис. 4.23В) й одним з таких секретів були прозапальні цитокіни, що приваблювали мононуклеарні клітини (рис. 4.23А, Е). Також спостерігаються

залишки гладком'язових клітин, мононуклеарів, везикули з ліпідним вмістом (рис. 4.23В, С, D), ознаки деградації клітин в інтимі, аутофагосоми, лізосоми і мієліноподібні фігури (рис. 4.23Н, I).

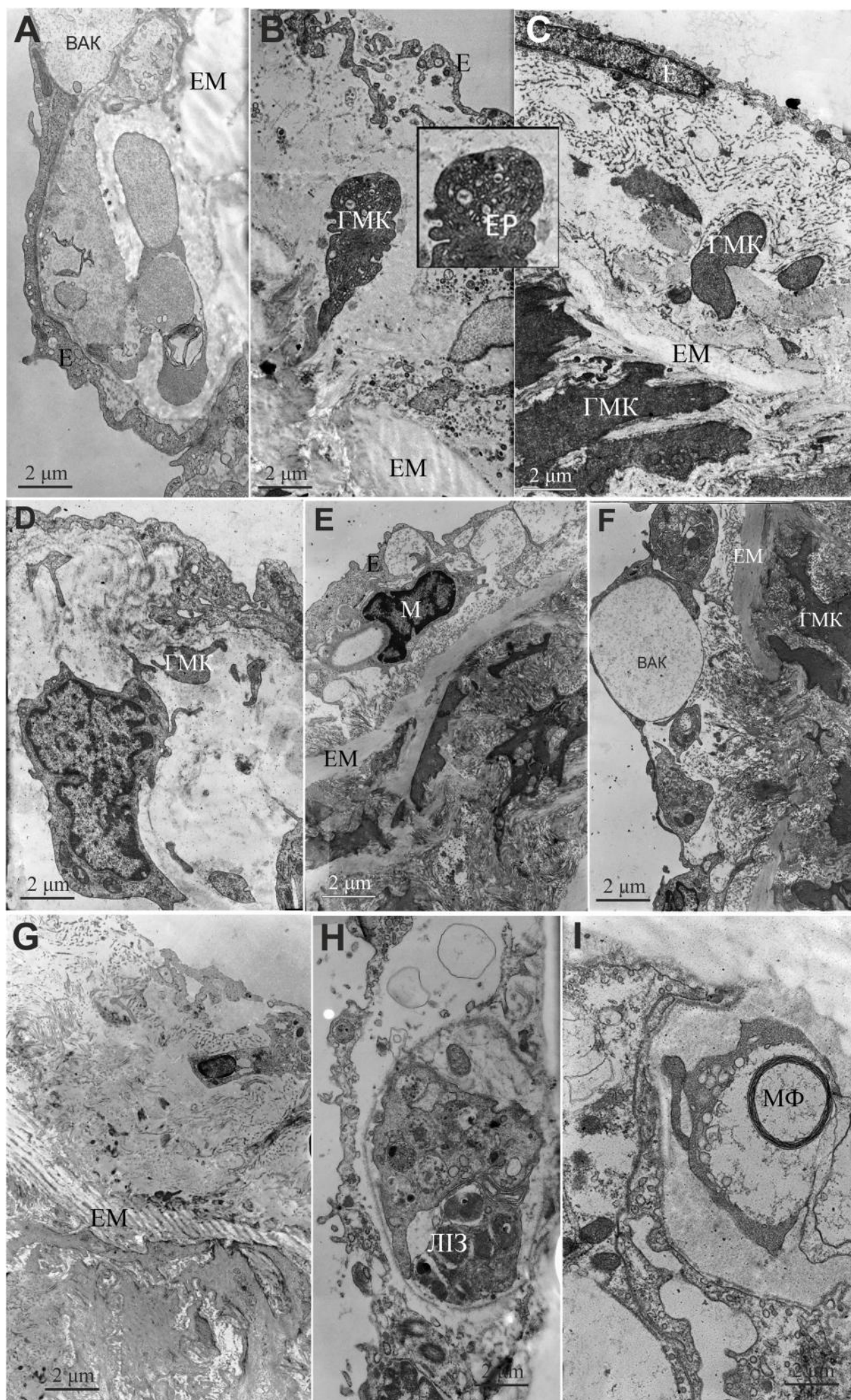


Рис. 4.23. Стінки аорти щурів SHR за умов високо холестеринової дієти, зб $\times 1000$.

Примітки: ГМК – гладко-м'язові клітини, ЕМ – еластична мембрана, ЕР – ендоплазматичний ретикулум, Е – ендотеліоцити, М – мононуклеарні клітини, ЛПЗ – лізосоми, МФ – мієліноподібні утворення, ВАК – вакуолі з інсудатом.

Таким чином за умов високохолестеринової дієти встановлено значні зміни стінки (в інтимі) аорти щурів SHR.

Отже, за умов гіпертензії значних змін ліпопротеїдного складу крові не виявлено, однак у SHR зменшилась концентрація холестерину ліпопротеїдів високої щільності на 12% та низької щільності на 13%. За умов високохолестеринової дієти виявлено зміни ліпідного складу крові, більшою мірою у Wistar і менш виражено у спонтанно-гіпертензивних щурів, зокрема загальний холестерин зріс на 84% у Wistar і на 81% - SHR, ЛПВЩ – на 26% й 37%, ЛПНЩ – у 5.2 та 2.9 рази, відповідно, що свідчить про меншу чутливість до впливу дієти у SHR.

Встановлено наявність морфологічних відмінностей у будові стінки аорти спонтанногіпертензивних щурів, а саме, потовщення стінки аорти, зокрема інтими, виявлено зміни ультраструктури тканин, а саме вогнищеве порушення цілісності ендотеліоцитарної вистілки, набряк тощо. Водночас, за умов високохолестеринової дієти у SHR виявлено зростання товщини інтими та співвідношення інтима/медіа, посилення порушень ультраструктури тканин, збільшення ділянок ураження, міграцію гладеньком'язових клітин, ознаки клітинної деградації й запалення в інтимі. Разом з тим у SHR спостерігалось зростання кількості ліпідних включень в тканинах стінки аорти порівняно з Wistar, що збільшувалося за умов високохолестеринової дієти.

Результати представлені в розділі опубліковані:

1. Портніченко Г.В., Портніченко В. І., Бічекуева Ф. Х., Бакуновський О. М., Василенко М. І., Портниченко А. Г. Зміни ліпідного обміну та експресії

регуляторних білків в умовах середньогір'я // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2011. - N2. - С. 101-103.

2. Гончаров С.В., Портніченко Г. В., Тумановська Л. В., Пашевін Д. О., Кузьменко М. О., Мойбенко О. О., Досенко В. Є.. Вплив кверцетину на протеасомну активність в аорті та серці щурів зі спонтанною гіпертензією // Фізіологічний журнал. - 2014. - Т. 60, № 3. - С. 3-10.

3. Лапікова-Бригінська Т. Ю, Гончаров С. В., Портніченко Г. В., Тумановська Л. В., Портниченко А.Г., Досенко В. Є., Мойбенко О. О. Вікові зміни структури і функції серця у спонтанно-гіпертензивних щурів // Вісник морфології. – 2014. – 20, №2. – С.383-388.

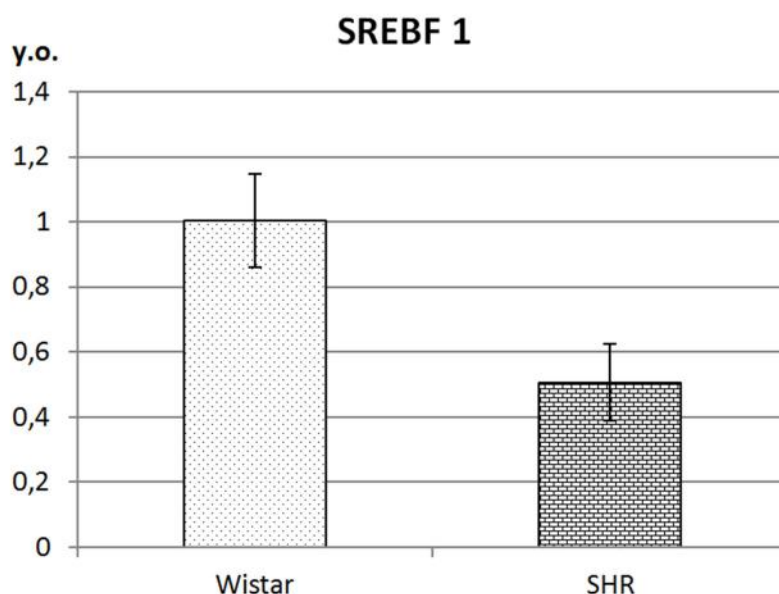
РОЗДІЛ 5. ВИЗНАЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ *SREBF1* І *SREBF2* В ТКАНИНАХ СЕРЦЯ ТА ПЕЧІНКИ СПОНТАННОГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ (SHR) ЗА УМОВ ВИСОКОХОЛЕСТЕРИНОВОЇ ДІЄТИ

5.1. Експресія генів *SREBF1* та *SREBF2* в тканинах серця та печінки нормотензивних щурів лінії Wistar та спонтанногіпертензивних щурів (SHR)

Експресія генів *SREBF1* та *SREBF2* та їх відповідних генів-мішеней *Insig-1* та *HMGCoAr* є індикаторами біосинтезу ліпідів та холестерину в клітині. Частиною нашої роботи було визначити активність ліпідного метаболізму, зокрема в серцево-судинній системі у спонтанногіпертензивних щурів.

Дослідження тканин серця

Встановлено зменшення експресії *SREBF1* на 49%, а *SREBF2* - на 65% у клітинах серця у щурів SHR у порівнянні з такою у Wistar (рис. 5.1).



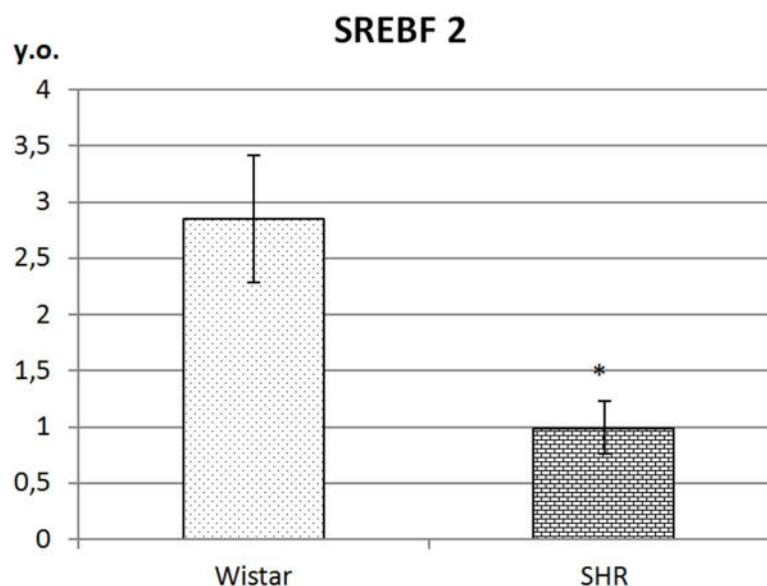


Рис. 5.1. Експресія генів *SREBF1* та *SREBF2* у тканині серця щурів SHR і Wistar. Примітка: Щури перебували на стандартній дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп експериментальних (SHR) і контрольних (Wistar) даних.

Дослідження тканин печінки

Печінка є центральним органом для метаболізму ліпідів у цілому організмі. Для виявлення потенційних змін ми оцінювали експресію генів *SREBF1* та *SREBF2*, а також їх відповідних генів-мішеней *Insiga* та *HMGCoAr*.

Встановлено збільшення експресії *SREBF1* в 3,9 разів, і не встановлено вірогідної різниці в експресії *SREBF2* (на 5% вища у SHR) у тканинах печінки у щурів SHR у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.5.2).

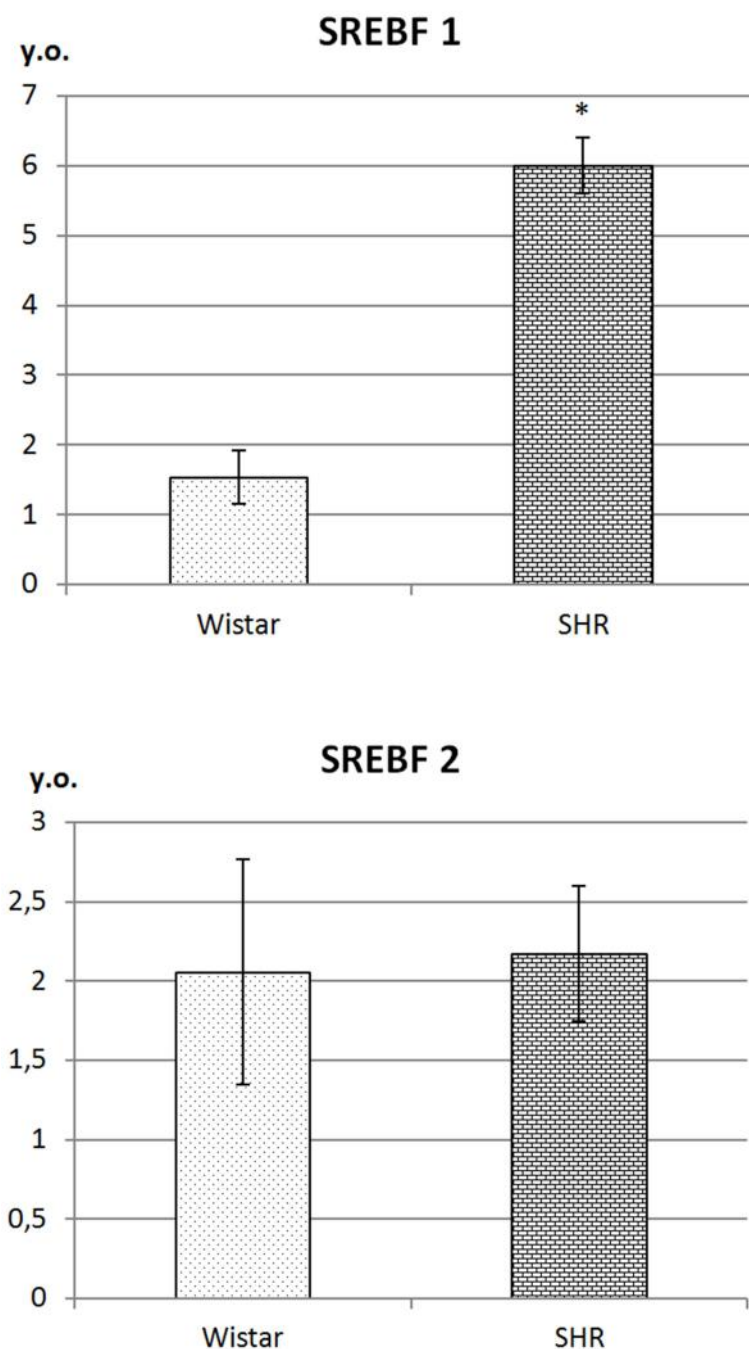


Рис. 5.2. Експресія генів *SREBF1* та *SREBF2* у клітинах печінки щурів SHR і Wistar.

Примітка: Щури перебували на стандартній дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп експериментальних (SHR) і контрольних (Wistar) даних.

Статистично достовірна різниця спостерігалася при оцінці експресії гену *SREBF1*, що була в 3,9 разів вищою у SHR порівняно з такою у щурів Wistar. Не

встановлено вірогідної різниці в експресії гену *SREBF2* (на 5% вища у SHR) у клітинах печінки у SHR у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.5.2).

Таким чином, у серці щурів SHR встановлено зменшення експресії *SREBF1* на 49%, а *SREBF2* - на 65% у щурів SHR у порівнянні з такими у щурів Wistar; у печінці щурів SHR встановлено збільшення експресії *SREBF1* в 3,9 разів, і не встановлено вірогідної різниці в експресії *SREBF2*, а також збільшення експресії гену *SREBF1* в 3,9 разів і не встановлено вірогідної різниці в експресії гену *SREBF2* у порівнянні з такими у щурів Wistar.

5.2. Зміни експресії генів *SREBF1* та *SREBF2* в тканинах серця та печінки нормотензивних щурів лінії Wistar та SHR за умов високохолестеринової дієти

За умов високохолестеринової дієти оцінювали зміни величин експресії генів *SREBF1* та *SREBF2* в тканинах серця та печінки щурів SHR у порівнянні з такими у Wistar.

Дослідження тканин серця.

В тканинах серця щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти було виявлено підвищення експресії *SREBF1* на 66% і зменшення експресії *SREBF2* на 37%. У SHR щурів за умов високохолестеринової дієти також зростала в 3,16 разів експресія *SREBF1*, та, на відміну від щурів Wistar, зростав у 3,1 рази рівень експресії *SREBF2* (рис. 5.3).

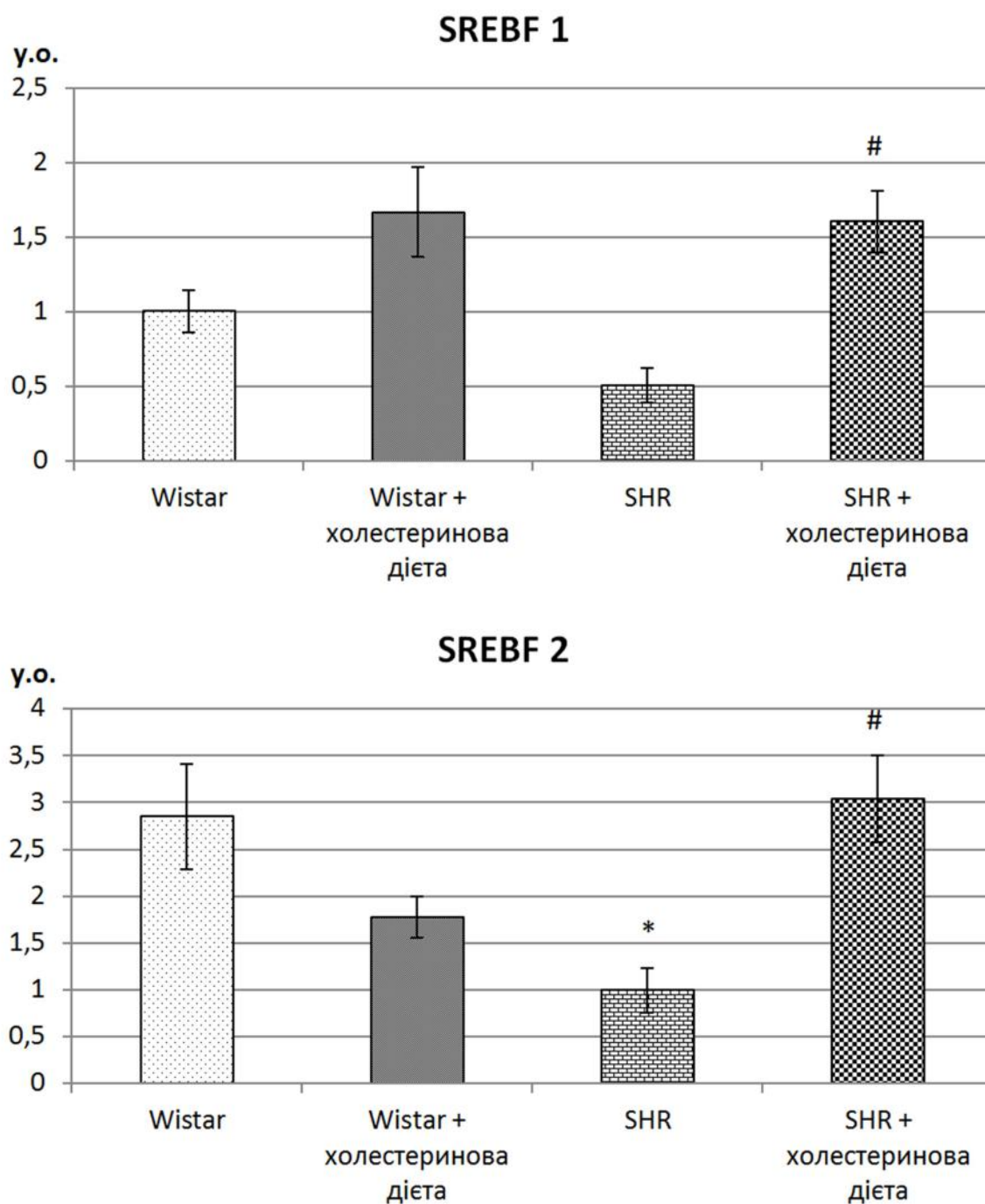


Рис. 5.3. Еспресія генів *SREBF1* та *SREBF2* у клітинах серця щурів SHR і Wistar за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця у порівнянні з Wistar на стандартній дієті, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця у порівнянні зі SHR на стандартній дієті.

Дослідження тканин печінки.

Експресія досліджуваних нами генів була проаналізована також у клітинах печінки. За умов холестеринової дієти у щурів Wistar експресія *SREBF1* зросла в 6 разів, а експресія *SREBF2* зменшилася на 11%. За умов холестеринової дієти у щурів SHR експресія *SREBF1*, порівняно з величинами у Wistar, знизилася на 18%, а експресія *SREBF2* знизилася на 67% (рис.5.4).

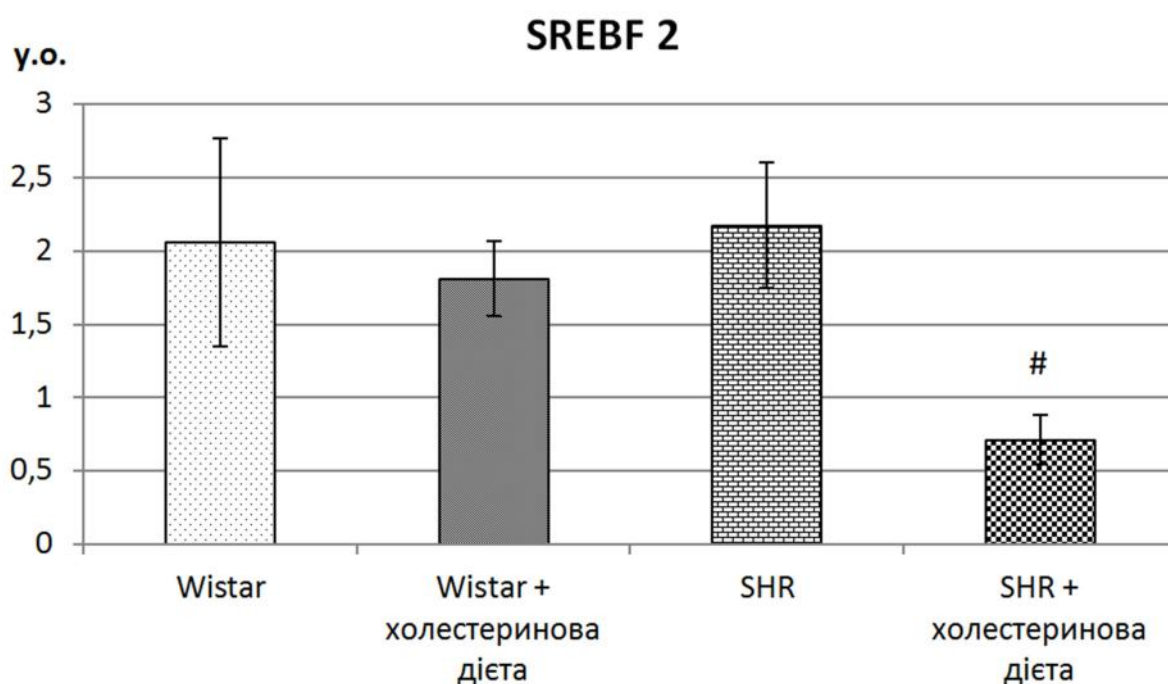
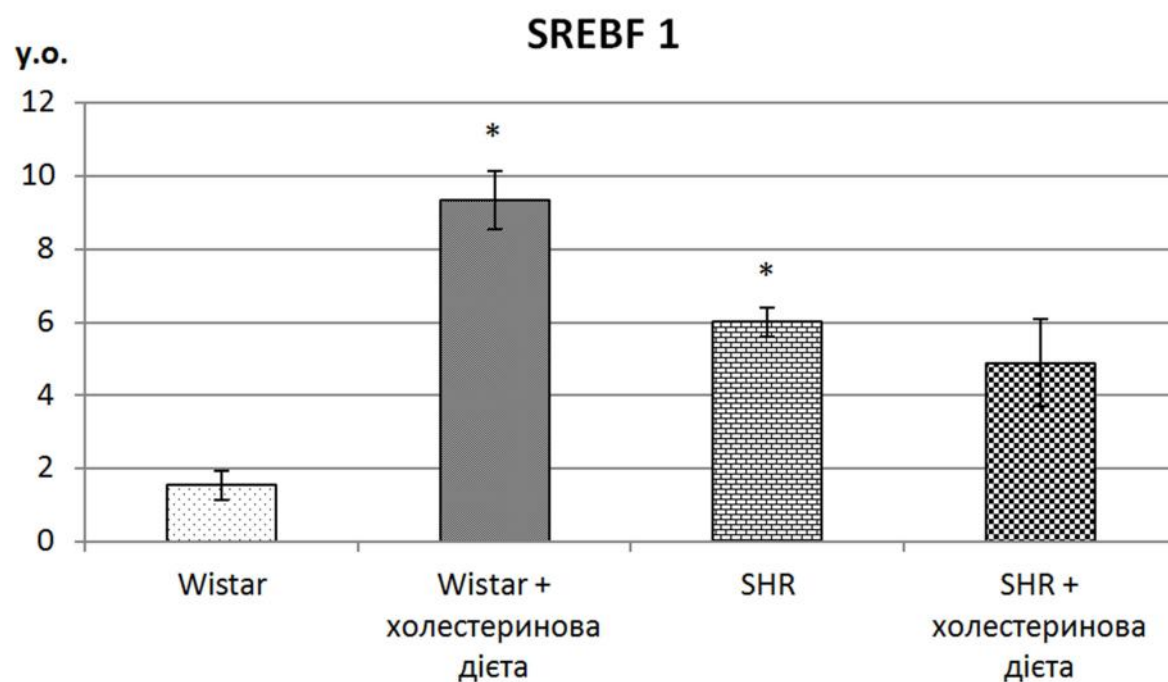


Рис. 5.4. Експресія генів *SREBF1* та *SREBF2* у клітинах печінки щурів SHR і Wistar за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця у порівнянні з Wistar на стандартній дієті, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця у порівнянні із SHR на стандартній дієті.

Аналізуючи зміну експресії генів в печінці у щурів Wistar у відповідь на високохолестеринову дієту ми спостерігали здебільшого пригнічення експресії *SREBF2*. Водночас *SREBF1* ланка, навпаки, зростала, можливо, активуючи неоліпогенез.

У спонтанногіпертензивних щурів ми спостерігаємо значне зростання експресії обох генів-мішеней, водночас експресія генів *SREBF1* та *SREBF2* відповідно не змінювалась або падала. Варто зазначити аномальну активність стеролсинтезуючої ланки як в печінці так і в серці у відповідь на високохолестеринову дієту, що є нелогічним і потребує додаткових пояснень.

Таким чином, в тканинах серця щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти встановлено підвищення на 66% експресії *SREBF1* і зменшення на 37% експресії *SREBF2*. В тканинах серця щурів SHR за умов високохолестеринової дієти встановлено зростання в 3,16 разів експресії *SREBF1* і зростання у 3,1 рази експресії *SREBF2*.

В тканинах печінки щурів Wistar за умов холестеринової дієти встановлено зростання в 6 разів експресії *SREBF1*, зменшення на 11% експресії *SREBF2*. У тканинах печінки щурів SHR за умов холестеринової дієти встановлено зниження на 18% експресії *SREBF1* і зниження на 67% експресії *SREBF2*.

Встановлено, що рівні мРНК *SREBF1* та *SREBF2* в клітинах міокарда SHR менший за такі у щурів Wistar, на 49% та 65%, відповідно. За умов

високохолестеринової дієти вдвічі збільшується експресія генів *SREBF1* та *SREBF2* в клітинах міокарду SHR, тоді як у Wistar зростає експресія лише *SREBF1* (на 66%). В клітинах печінки експресія гена *SREBF1* була більшою у SHR в 2.9 разів. За умов високохолестеринової дієти в клітинах печінки щурів Wistar встановлено зростання у 5 разів експресії гена *SREBF1*. У SHR виявлено зменшення на 67% експресії *SREBF2*. Варто відмітити пригнічення регуляції обох генів у міокарді SHR, однак, на відміну від Wistar, за умов високохолестеринової дієти йде активація їх обох, що може свідчити про певні зміни в регуляції *SREBF2*.

Результати представлені в розділі опубліковані:

1. Портніченко Г. В., Портніченко В. І., Бічекуєва Ф. Х., Бакуновський О. М., Василенко М. І., Портниченко А. Г. Зміни ліпідного обміну та експресії регуляторних білків в умовах середньогір'я // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2011. - N2. - С. 101-103.
2. Портниченко А.Г., Лапикова-Бригинская Т.Ю., Василенко М.И., Портниченко Г.В., Маслов Л.Н., Мойбенко А.А. Экспрессия киназыAkt в желудочках сердца при гипоксическом preconditionировании и ремоделировании миокарда // Фізіол. журн. – 2013. – 59, №6. – С. 124-131.
3. Портниченко А.Г., Портніченко Г.В., Бічекуєва Ф.Х., Лапикова-Бригінська Т.Ю., Василенко М.І., Портніченко В.І. Покращення толерантності до глюкози в умовах середньогір'я та його механізми // Патологія, реабілітація, адаптація. – 2016, 1(14). - С. 6-12.
4. Balatskyi V.V., Macewicz L.L., Gan A.M.,Goncharov S.V., Pawelec P., Portnichenko G.V., Lapikova-Bryginska T.Yu, NavrulinV.O., DosenkoV.E., OlichwierA., DobrzynP., PivenO.O. Cardiospecificdeletionof α E-cateninleadstoheartfailureandlethalityinmice //PflugersArch - Eur J Physiol (2018) 470: 1485.

РОЗДІЛ 6. ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ МРНК ГЕНІВ-МІШЕНЕЙ БІЛКА, ЩО З'ЄДНУЄТЬСЯ ІЗ СТЕРОЛРЕГУЛЯТОРНИМ ЕЛЕМЕНТОМ – *INSIG-1* ТА *HMGCOAR* – В ТКАНИНАХ СЕРЦЯ ТА ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ ЛІНІЇ WISTAR ТА SHR ЗА УМОВ ВИСОКОХОЛЕСТЕРИНОВОЇ ДІЄТИ

6.1. Експресія генів-мішеней SREBP – *Insig-1* та *HMGcoAr* – в тканинах серця та печінки у щурів Wistar та SHR

Експресія мРНК генів-мішеней транскрипційного фактора, що з'єднується із стеролрегуляторним елементом, – *Insig-1* та *HMGcoAr* – в тканинах серця та печінки є індикаторами біосинтезу ліпідів та холестерину в клітині. Частиною нашої роботи було визначити активність ліпідного метаболізму, зокрема в серцево-судинній системі у спонтанногіпертензивних щурів.

Дослідження тканин серця.

Встановлено збільшення експресії гену-мішені - *Insigy* 11 разів і зменшення експресії гену-мішені *HMGcoAr* на 30% у щурів SHR у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.6.1).

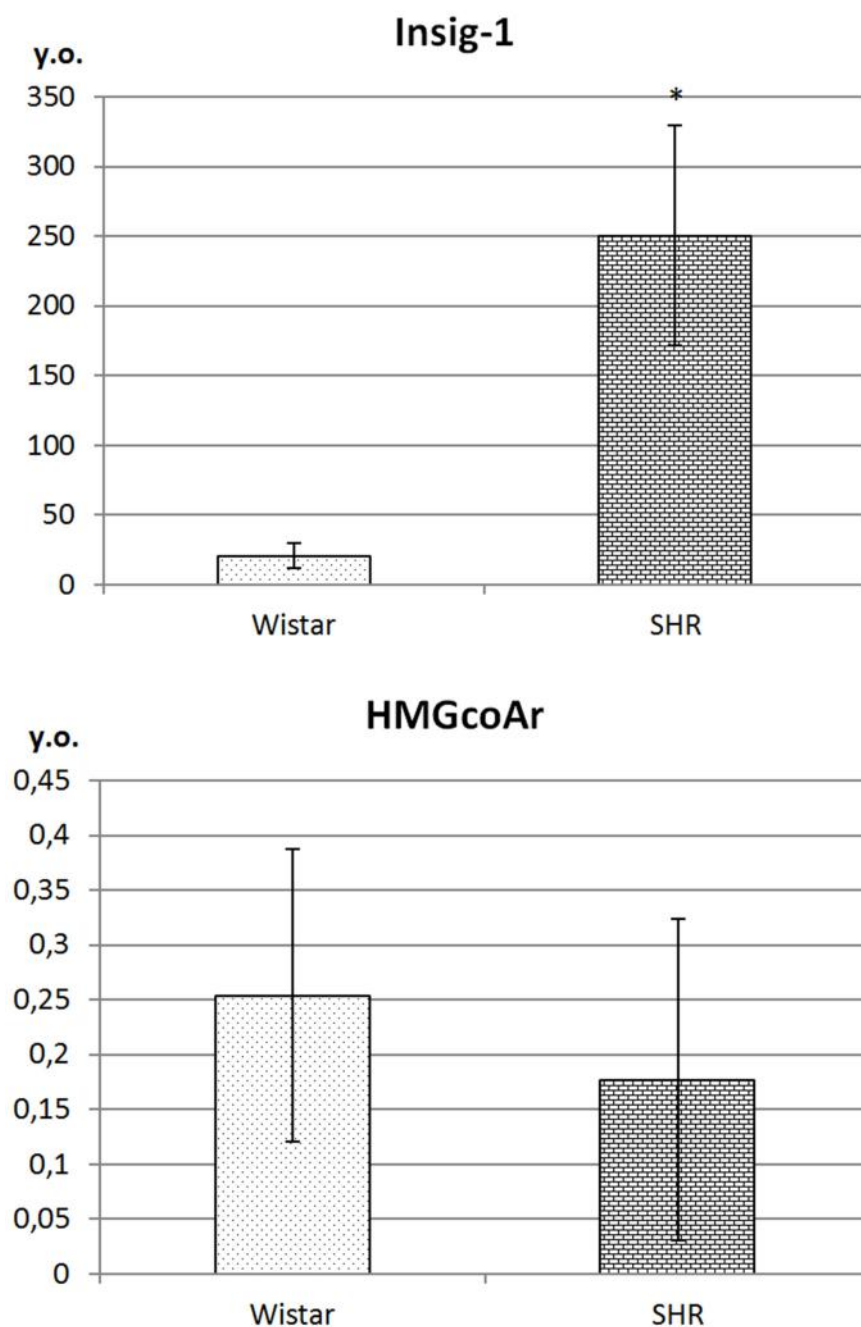


Рис. 6.1. Експресія генів *Insig-1* та *HMGCoAr* в клітинах серця щурів SHR і Wistar.

Примітка: Щури перебували на стандартній дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп експериментальних (SHR) і контрольних (Wistar) даних.

Дослідження тканин печінки.

Печінка є центральним органом для метаболізму ліпідів у цілому організмі. Для виявлення потенційних змін ми оцінювали експресію генів-мішеней *Insig* та *HMGcoAr*.

Не встановлено вірогідної різниці в експресії гену *SREBF2* (на 5% вища у SHR) у клітинах печінки у SHR у порівнянні з такою у щурів Wistar (рис.6.2).

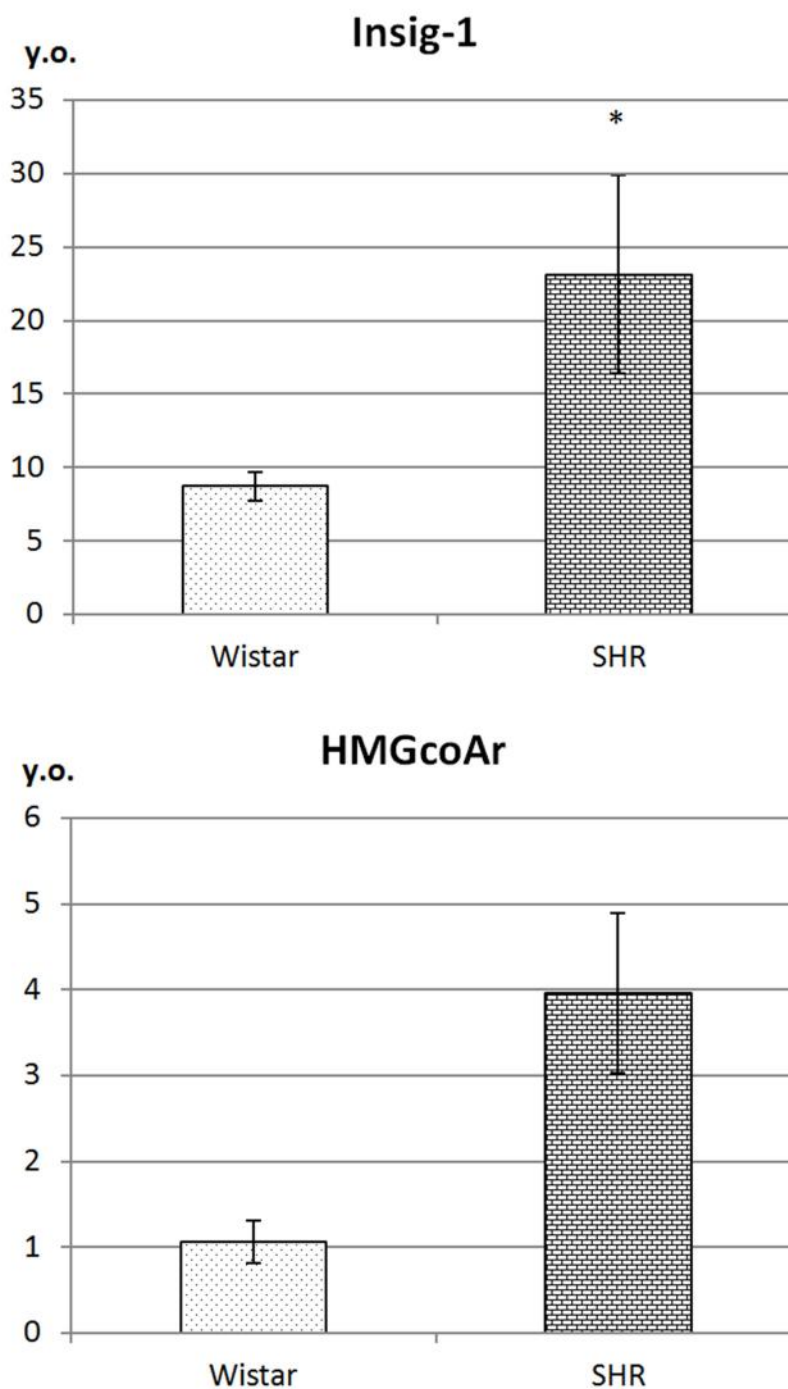


Рис. 6.2. Експресія генів *HMGcoAr* та *Insig* в клітинах печінки у щурів SHR і Wistar.

Примітка: Щури перебували на стандартній дієті. * - $p < 0.05$ - вірогідність відмінностей величин середніх груп експериментальних (SHR) і контрольних (Wistar) даних.

Таким чином, у тканинах серця щурів SHR встановлено збільшення в 11 разів експресії гену-мішені – *Insig* і зменшення на 30% експресії гену-мішені *HMGcoAr* у щурів SHR у порівнянні з такими у щурів Wistar; у клітинах печінки у щурів SHR встановлено збільшення в 3,9 разів експресії гену *SREBF1*.

6.2. Експресія генів-мішеней SREBP – *Insig-1* та *HMGcoAr* – в тканинах серця та печінки щурів Wistar та SHR за умов високохолестеринової дієти

За умов високохолестеринової дієти оцінювали зміни величин експресії генів-мішеней *HMGcoAr* та *Insig* в тканинах серця та печінки щурів SHR у порівнянні з такими у Wistar.

Дослідження тканин серця.

За умов холестеринової дієти у щурів Wistar експресія *Insig1* зменшувалася на 73%, а експресія *HMGcoAr* зростала на 28%.

За умов холестеринової дієти у щурів SHR експресія *Insig1* зменшувалася на 96%, а експресія *HMGcoAr* зростала у в 3 рази (рис. 6.3).

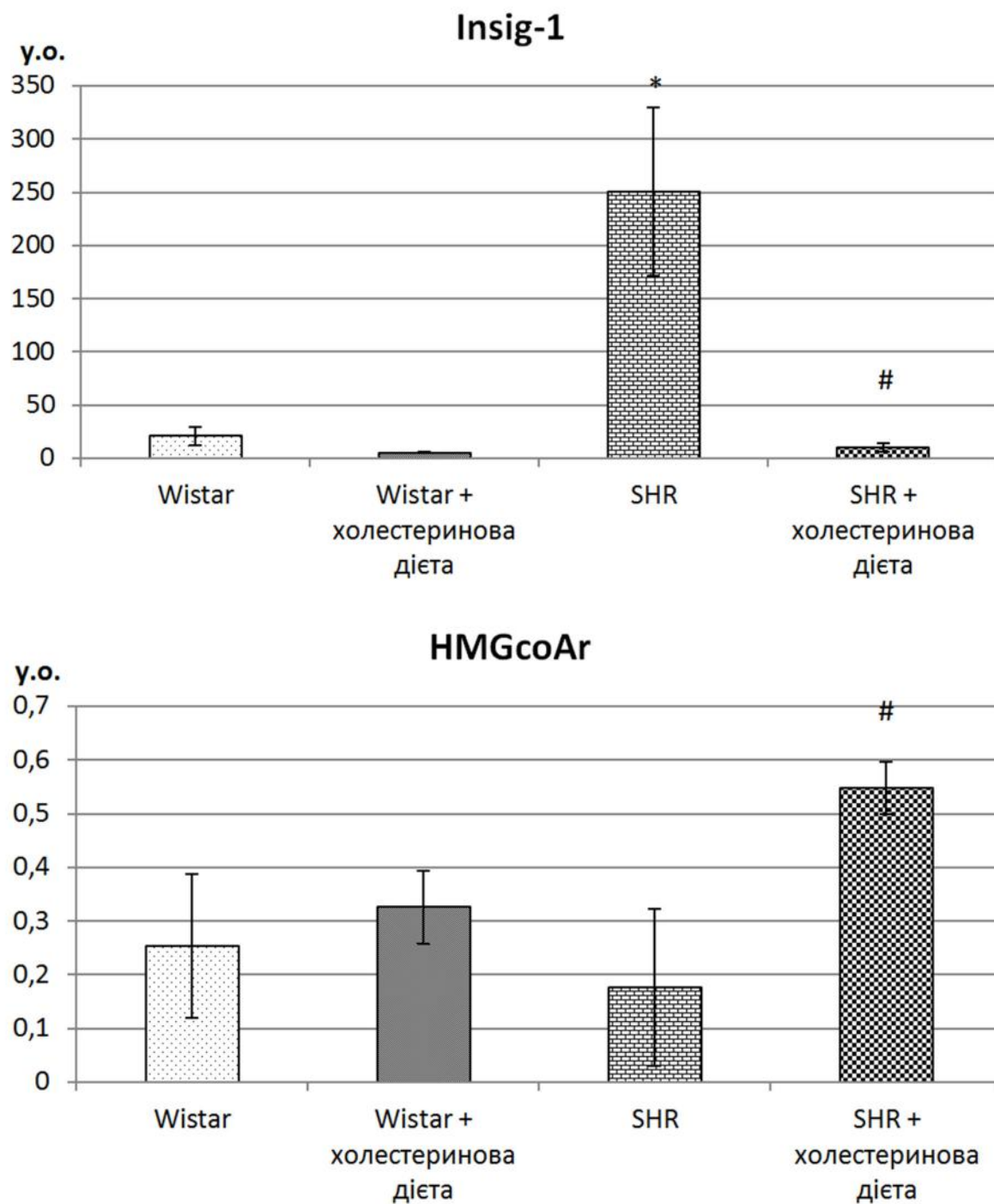


Рис. 6.3. Еспресія генів *SREBF1* та *SREBF2* в клітинах серця щурів SHR та Wistar за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

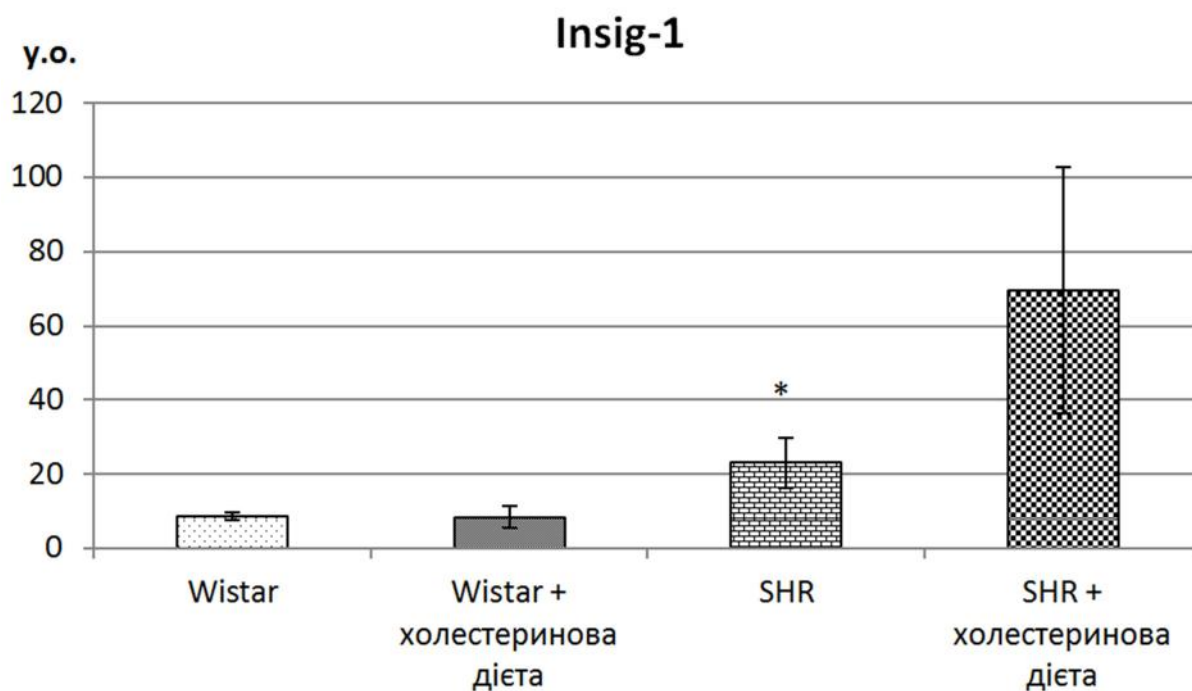
Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця у порівнянні з Wistar на стандартній дієті, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця у порівнянні із SHR на стандартній дієті.

Дослідження тканин печінки.

Експресія досліджуваних нами генів була проаналізована також у клітинах печінки.

Не встановлено змін у величині експресії гену *Insig1* у Wistar за умов високохолестеринової дієти, тоді як величина експресії *HMGcoAr* знизилася на 71%.

За умов високохолестеринової дієти величина експресії гену *Insig1* у SHR зросла в 3 рази, а величина експресії *HMGcoAr* зросла в 2,9 разів. (рис.6.4)



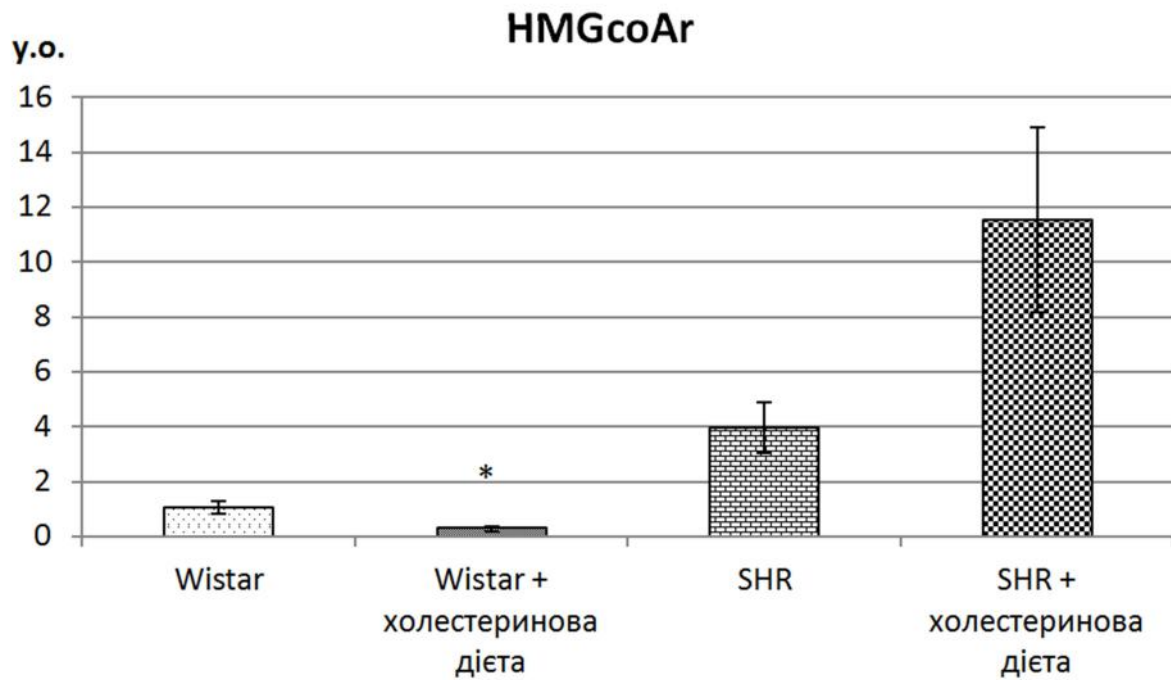


Рис.6.4. Експресія генів *Insig1* та *HMGcoAr* у клітинах печінки щурів SHR і Wistar за умов стандартної та високохолестеринової дієти.

Примітки: * - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця у порівнянні з Wistar на стандартній дієті, # - $p < 0,05$ - статистично достовірна різниця у порівнянні із SHR на стандартній дієті.

Аналізуючи зміну експресії генів в печінці у щурів Wistar у відповідь на високохолестеринову дієту ми спостерігали здебільшого пригнічення активності *SREBF2* в ядрі з огляду на експресію *HMGcoAr*. Водночас активність *SREBF1*-опосередкованої ланки ліпогенезу не змінювалась. Варто зазначити аномальну активність стерол-синтезуючої ланки у SHR як в печінці, так і в серці SHR у відповідь на високохолестеринову дієту, що є нелогічним і потребує додаткових пояснень.

Таким чином, в тканинах серця щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти встановлено зменшення на 73% експресії *Insig1*, експресія *HMGcoAr* зростала на 28%. В тканинах серця щурів SHR за умов високохолестеринової дієти встановлено зменшення на 96% експресії *Insig1* і зростання у 3 рази експресії *HMGcoAr*.

В тканинах печінки щурів Wistar за умов холестеринової дієти не встановлено змін у величині експресії гену *Insig1*, експресії *HMGcoAr* знижувалася на 71%. В тканинах печінки щурів SHR за умов холестеринової дієти встановлено зростання в 3 рази експресії гену *Insig1* і зростання в 2,9 разів експресії *HMGcoAr*.

В тканині міокарду SHR виявлено в 10 разів вищу експресію *Insig-1*, ніж у щурів Wistar, але за умов високохолестеринової дієти експресія *Insig-1* у SHR впала на 96%, до рівнів Wistar, тоді як експресія *HMGcoAr* збільшилася у 2.1 рази.

Водночас в тканині печінки у SHR експресії *Insig-1* та *HMGcoAr* були більшими в 1.6 та 2.7 разів, відповідно. За умов високохолестеринової дієти рівень *HMGcoAr* у Wistar впав на 71%, тоді як у SHR зріс у 1.9 разів, а *Insig-1* – у 2 рази. У тканині міокарду SHR відмічено високу активність *Insig-1*, що блокувалася високохолестериновою дієтою, та значне підвищення активності *HMGcoAr*, що може вказувати на індукцію холестеринового синтезу за умов високо холестеринової дієти.

Результати представлені в розділі опубліковані:

1. Portnichenko G.V. Cholesterol-rich diet induced improvement of hemodynamic system indices in SHR / Portnichenko G.V., Goncharov S.V., Stroy D.O., Dosenko V.E. // Фізіологічний журнал. – 2019. – 65, №2. – С. 68-75.
2. Портніченко Г. В., Портніченко В. І., Бічекуева Ф. Х., Бакуновський О. М., Василенко М. І., Портніченко А. Г. Зміни ліпідного обміну та експресії регуляторних білків в умовах середньогір'я // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2011. - N2. - С. 101-103.
3. Портніченко А.Г., Лапикова-Бригинская Т.Ю., Василенко М.И., Портніченко Г.В., Маслов Л.Н., Мойбенко А.А. Экспрессия киназы Akt в желудочках сердца при гипоксическом preconditionировании и ремоделировании миокарда // Фізіол. журн. – 2013. – 59, №6. – С. 124-131.

4. Balatskyi V.V., Macewicz L.L., Gan A.M., Goncharov S.V., Pawelec P., Portnichenko G.V., Lapikova-Bryginska T.Yu, Navrulin V.O., Dosenko V.E., Olichwier A., Dobrzyn P., Piven O.O. Cardiospecific deletion of α E-catenin leads to heart failure and lethality in mice // *Pflügers Arch - Eur J Physiol* (2018) 470: 1485.

РОЗДІЛ 7. ЗВ'ЯЗОК МІЖ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНА *SREBF1* ТА ВИНИКНЕННЯМ ЕСЕНЦІАЛЬНОЇ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ У ДІТЕЙ

Окремою частиною дослідження було встановлення взаємозв'язку між поліморфізмом гена *SREBF1* та захворюваністю на есенціальну гіпертензію в дитячому віці у популяції України.

Попередні дослідження в країнах Європи та Азії свідчать, що поліморфізм rs2297508 не був пов'язаний з захворюваннями печінки [123], але асоціювався з ризиком розвитку діабету 2 типу, дизліпідемією, гіперглікемією, змінами рівня адипонектину в плазмі [124].

Кілька популяційних досліджень у Данії виявили, що мінорний G-алель пов'язаний з помірним ризиком розвитку діабету 2 типу та значно асоційований з вищими показниками глікемії на 30-й і 120-й хв і вищим рівнем інсуліну на 120-й хв тесту толерантності до глюкози, ніж у носіїв алеля С.. Оскільки SREBP-1с опосередковує дію інсуліну, автори припускають зниження цієї функції у носіїв варіантів *SREBF1* [125].

Популяційне дослідження в Австрії засвідчило, що G-алель пов'язаний з помірним, але значним ризиком розвитку цукрового діабету 2 типу. G/G генотип демонстрував зниження рівня адипонектину в плазмі. Оскільки SREBP-1с залучений в регуляцію експресії гена адипонектину, одонуклеотидний поліморфізм цього гена може відігравати роль у ризикі розвитку діабету 2 типу через вплив на рівень циркуляторного адипонектину [126].

У деяких етнічних групах Китаю виявлено, що рівень холестерину ЛПНЩ був вірогідно вищим у носіїв мінорного алеля С [127]. Водночас генетичний ризик цього поліморфізму може залежати від вживання жирів [128]. Показано, що наявність мінорного С-алеля у здорових китайців асоціювалася зі сприятливими показниками при високовуглеводній/маложировій дієті: затримкою зростання рівня тригліцеридів, інсуліну плазми та індексу НОМА-IR у жінок та зростанням холестерину ЛПВЩ у чоловіків [129]. Треба

зауважити, що виявлений нами розподіл алелів в українській популяції є проміжним між західноєвропейськими (мінорний характер алеля G) та китайськими даними (мінорний характер алеля C), що вказує на підвищений ризик метаболічного синдрому в українців порівняно з населенням західної Європи при ліпідному навантаженні.

Разом з тим, зв'язку однонуклеотидного поліморфізму гена *SREBF1* rs2297508 з розвитком артеріальної гіпертензії при метаболічному синдромі або есенціальній гіпертензії досі не було показано. Однак у нещодавньому дослідженні Yang YD і співавт. [130], проведеному на дітях 7-18 років популяції Китаю виявлено, що поліморфізми гена *SCAP* (білка, який активує розщеплення *SREBP*) можуть бути пов'язані з розвитком артеріальної гіпертензії. Зокрема, поліморфізм rs12487736 асоціювався з систолічним та діастолічним артеріальним тиском, а поліморфізм rs12490383 значно асоціювався з систолічним артеріальним тиском. У дітей з ожирінням rs12487736 і rs12490383 були значно асоційовані з систолічною гіпертензією.

В ході нашого дослідження не було встановлено вірогідних відмінностей між розподілом алелей гена *SREBF1* у здорових та хворих на есенціальну гіпертензію (рис. 7.1), що спростовує роль цього поліморфізму як спадкового фактора, і водночас не виключає участі в патогенезі інших поліморфізмів *SREBF1*.

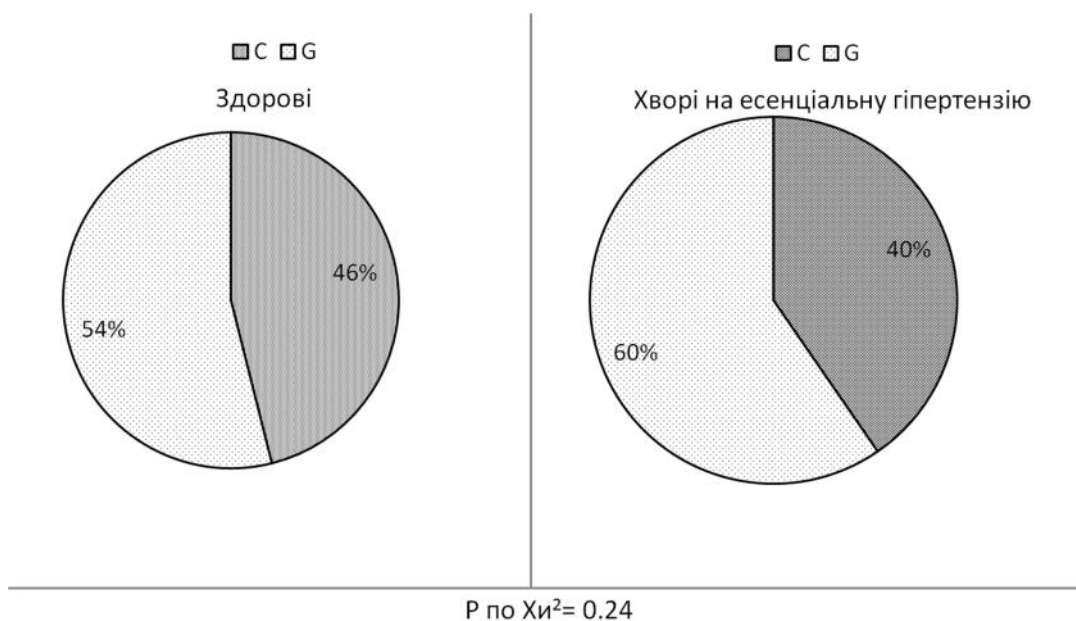


Рис. 7.1. Розподіл алелей гена *SREBF1* в українській популяції.

Отже зв'язку між виникненням есенціальної гіпертензії у дітей та наявністю дослідженого алельного поліморфізму гена *SREBF1* немає. Одержані результати не підтверджують ролі вказаного поліморфізму, як спадкового фактора розвитку артеріальної гіпертензії.

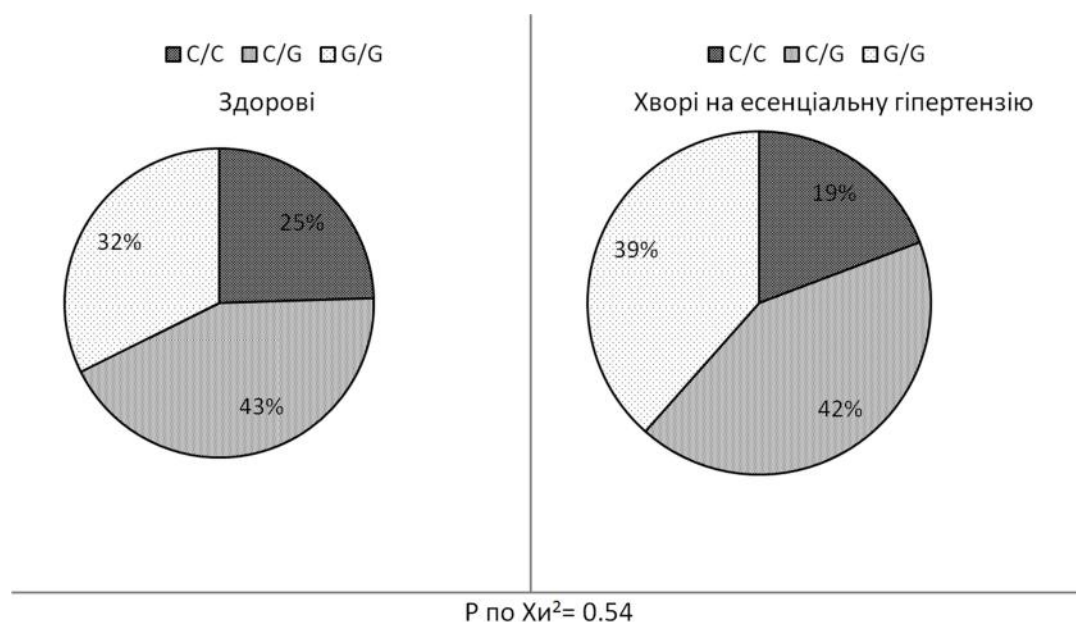


Рис. 7.2. Розподіл генотипів *SREBF1* в українській популяції.

Так само досліджено і розподіл по генотипам у здорових і хворих дітей (рис. 7.2), нами не було виявлено достовірних відмінностей, що свідчить про відсутність зв'язку між певним генотипом *SREBF1* і захворюваністю на артеріальну гіпертензію.

Результати представлені в розділі опубліковані:

1. Портніченко Г.В. Взаємозв'язок між поліморфізмом гену *SREBF1* та виникненням есенціальної артеріальної гіпертензії у дітей в українській популяції / Портніченко Г.В., Досенко В.Є. // Патологія, реабілітація, адаптація. – 2017. - 15, №4. - С. 210-212.

РОЗДІЛ 8. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Отримані нами результати експериментальних досліджень на щурах зі спонтанною гіпертензією та впливом високохолестеринової дієти вказують на складні різноспрямовані зміни кардіогемодинаміки, структури серця та судин, генетичної регуляції ліпідного обміну за умов впливу кожного з діючих факторів (артеріальної гіпертензії та високохолестеринової дієти) та їх поєднання, що потребує детального аналізу.

Для дослідження впливу такого фактора, як артеріальна гіпертензія, було обрано лінію щурів SHR. Серед інших експериментальних моделей, ця модель є генетично обумовленою, виведеною шляхом селекції щурів Wistar з найвищим артеріальним тиском, що за даними дослідників найбільш близько відповідає розвитку есенціальній гіпертензії у людей [131]. Надмірна активність ренін-ангіотензивної системи вірогідно є однією з причин розвитку спонтанної артеріальної гіпертензії, цю думку підтверджують проведені дослідження з ін'єкцій антагоністу рецепторів до ангіотензину II, що значно зменшував артеріальний тиск у спонтанногіпертензивних щурів порівняно з нормотензивними [132]. Водночас введення лозартану – блокатора рецепторів ангіотензину I не викликало зниження артеріального тиску у SHR [133], що свідчить про мультифакторну етіологію цього захворювання. Варто зазначити, що одним зі значних проявів гіпертензії є збільшення напруги й зменшення ефективності мітохондріального апарату. У дослідженнях на щурах показано, що SHR мають меншу порівняно з Wistar ефективність функціонування мітохондрій серця, зокрема, мембранний потенціал мітохондрій, а швидкість споживання кисню у спокої більша, тобто більш напружена робота дихального ланцюга [134]. Це може бути передумовою зниження функціональної здатності кардіоміоцитів в умовах гіпертензії, яку ми спостерігали.

Зміни основних фізіологічних параметрів функціонування серцево-судинної системи за нормальних умов та за умов високохолестеринової дієти у спонтанногіпертензивних щурів (SHR).

За умов гіпертензії виявлено порушення кардіогемодинаміки: значне зменшення показників насосної функції, зокрема, хвилинного об'єму крові – на 74%, погіршення систолічної й діастолічної функції серця щурів, а також зростання артеріальної жорсткості в 4,8 рази. Одержані нами результати відповідають даним інших досліджень з визначення функції серця SHR. Зокрема, при використанні ехокардіографії, мікроелектродних досліджень одиничних міокардіоцитів встановлено, що SHR характеризувалися систолічною дисфункцією, значним зменшенням фракції викиду лівого шлуночка, зростанням кінцево-діастолічного діаметра лівого шлуночка та його об'єму [135].

За умов високохолестеринової дієти відмічено помірне зниження насосної, систолічної та діастолічної функції щурів Wistar, чому також не суперечать результати інших досліджень, які нещодавно з'явилися. Цікаво, що використання менш насиченої високохолестеринової дієти (1.25%) або комбінації високожирової та високохолестеринової дієт не викликало вірогідного погіршення кардіогемодинаміки у щурів Вістар, але тенденція зрушень була подібною до такої в наших експериментах [136]

Найбільш несподіваними є результати покращення кардіогемодинаміки SHR за насосною та меншою мірою діастолічною функцією, що свідчить про протективний вплив високохолестеринової дієти. Однак позитивний вплив ліпідів у контексті корекції гіпертензії вже було відмічено у ряді робіт вітчизняних вчених. Так, на SHR показано, що фосфатидилхолінові ліпосоми (ФХЛ) як при одноразовому, так і при курсовому введенні викликають достовірне зниження рівня артеріального тиску. [137]. Також показано позитивний вплив фосфатидилхолінових ліпосом (ФХЛ) на скоротливу дисфункцію судин SHR. Встановлено, що в судинах ендотелійзалежне розслаблення пригнічене за рахунок переважного гальмування NO-залежної регуляції і ФХЛ в умовах *in vitro* відновлювали ендотелійзалежне розслаблення

до нормальних величин. [138]. Часткову редукцію підвищеного артеріального тиску спостерігали і у схильної до інсульту лінії SHR (SHRSP5/Dmcr) при дії високожирової і високохолестеринової дієти, однак це не супроводжувалося покращенням ендотелій-залежного розслаблення судин, індукованого ацетилхоліном [139].

Цим даним добре відповідає виявлене нами значне зменшення (на 47%) артеріальної жорсткості у SHR за умов впливу високохолестеринової дієти, що є значним фактором у зменшенні постнавантаження на серцевий м'яз і таким чином може поліпшувати серцеву діяльність за рахунок обмеження негативного впливу іншого діючого фактора (артеріальна гіпертензія).

Водночас дисфункція міокарда у SHR може спричинюватися розладами енергетичного метаболізму. Встановлено, що у SHR виникає мітохондріальна дисфункція, підвищується проникність мітохондріальної пори, що зростає за умов ускладнення гіпертензії цукровим діабетом, як складовою метаболічного синдрому [140]. Виявлено, що у щурів зі спонтанною гіпертензією та супутнім діабетом питомий вміст кардіотрофіну-1, анексину V та колагену I типу у міокарді був вищим порівняно зі значеннями у контрольних щурів і SHR без діабету, а тайтину нижчим, ніж у SHR. Вказані зміни експресії асоціювалися з найбільшою чутливістю мітохондріальної пори до Ca^{2+} у щурів зі спонтанною гіпертензією та супутнім цукровим діабетом [141]. Ці дані можуть побічно свідчити про погіршення стану серцевого м'яза щурів за умов комбінованих порушень гемодинаміки та метаболізму.

Потрібно зауважити залежність представлених в літературі даних від віку тварин. Зокрема, [139] було отримано менші зрушення кардіогемодинаміки та ліпідного профілю у ювенільних щурів з нормо- і гіпертензією при дії високожирової дієти з вищою, ніж у нашому експерименті, концентрацією холестерину. В той же час, у нашому порівняльному дослідженні щурів Wistar і SHR дорослого та передстаречого віку було засвідчено вікове прогресування зниження кардіогемодинамічних показників, морфологічних змін із підсумковим розвитком серцевої недостатності у SHR (без впливу дієти). У

останніх фіброз становив 18,1% від площі лівого шлуночка в порівнянні з 1,8% у щурів лінії Wistar, проте виявлявся адаптивний ангиогенез, що забезпечував посилення кровопостачання міокарда [142].

Однак свідчення, що холестеринова дієта різноспрямовано впливає на кардіогемодинаміку щурів Wistar та SHR, вірогідно погіршуючи функцію серця у перших, але покращуючи гемодинаміку у останніх, недостатньо узгоджується з уявленнями про компенсаторні процеси в організмі, тому ці результати треба оцінювати в комплексі іншими даними, отриманими в ході нашої роботи.

Зміни ліпопротеїдного складу крові за нормальних умов та за умов високохолестеринової дієти у спонтанно-гіпертензивних щурів (SHR).

Виявлено, що ліпідний профіль плазми крові не змінювався за умов артеріальної гіпертензії, яка, таким чином, не є чинником порушень обміну ліпідів. Водночас, за умов холестеринової дієти у щурів Wistar відбувалися зміни показників ліпідного складу, зокрема: збільшення рівнів холестерину та його фракцій: тотального - на 84%, ліпопротеїдів високої щільності - на 26%, ліпопротеїдів низької щільності - у 6 разів у порівнянні з такими за умов стандартної дієти. Подібним же чином у щурів SHR за умов холестеринової дієти відбувається збільшення рівнів: тотального холестерину на 81%, ліпопротеїдів високої щільності на 37%, а низької щільності - в 3,9 разів у порівнянні з відповідними величинами за умов стандартної дієти. За умов високохолестеринової дієти не виявлено статистично достовірних відмінностей у рівнях тригліцеридів, ліпопротеїнів дуже низької щільності та індексу атерогенності у SHR у порівнянні з відповідними величинами у Wistar.

Отримані результати узгоджуються з даними літератури, щодо несприятливого впливу високожирової й високохолестеринової дієт на показники холестеринових фракцій в крові, й зокрема за умов гіпертензії у щурів [143]. Цікаво відмітити, що зростання ліпідного навантаження, а саме впливу високожирової й високохолестеринової дієти на SHR викликало більш

тяжкі зрушення ліпідної формули, а саме зростання холестерину ЛПНЩ понад таке у щурів Wistar [139], що не спостерігалось в наших експериментах.

Наведені результати свідчать, що високохолестеринова дієта викликала гіперхолестеринемію схожого ступеня у обох ліній щурів, незалежно від їх нормо- або гіпертензивного статусу. Таким чином вплив обох факторів, які були застосовані в даному дослідженні, можна вважати незалежними чинниками стосовно їх дії на стеролрегуляторні механізми в клітинах. Однак слід зауважити, що зростання вмісту холестерину і його фракцій було менш виразним у SHR, особливо холестерину ЛПНЩ – у 2,9 рази порівняно з 5,2 рази у Wistar. Це може вказувати на активність у останніх компенсаторних механізмів, які протидіють негативному впливу ліпідного навантаження.

Морфогістологічна й ультраструктурна оцінка аорти за нормальних умов та за умов високохолестеринової дієти у спонтанно-гіпертензивних щурів (SHR).

У SHR виявлено морфологічні зміни у будові аорти (потовщення стінки аорти та інтими, вогнищеві порушення ендотеліоцитарної вистілки, набряк, ліпідна інфільтрація). За умов високохолестеринової дієти у SHR виявлено більш виразні зрушення порівняно з Wistar: зростання товщини інтими та співвідношення інтима/медіа, збільшення ділянок ураження, міграцію гладеньком'язових клітин, зростання кількості ліпідних включень в тканинах стінки аорти.

За даними наших досліджень, у SHR були виявлені значні морфологічні зміни в міокарді (фіброз 4,7 % від площі лівого шлуночка, більший індекс маси серця на 21,6 %), а також збільшення товщини інтими в аорті та ширини шарів гладеньком'язових клітин. Ці зміни могли потенціюватися посиленням розпадом білків, оскільки пригнічення протеасомального розщеплення білків в аорті та серці кверцетином призвело до значного покращення морфофункціональних показників діяльності серця [144].

Незважаючи на усталену думку про складність або навіть неможливість моделювання атеросклеротичних пошкоджень судин у щурів, останнім часом

з'являються роботи, присвячені таким дослідженням. Так, у щурів під дією холестеринової дієти нещодавно показано схожу з нашими результатами картину порушень. В роботі зазначено, що не спостерігалось виникнення пінистих клітин, однак було показано локальні пошкодження інтими, потовщення медії, фіброзні утворення, що були оцінені авторами як початкові стадії атерогенезу [145]. При моделюванні атеросклерозу в ході гістологічного дослідження Savitskiy та співавт. виявили ліпідні включення в субендотеліальному просторі судин міокарда, цибулині аорти та меншою мірою у ендокарді у 28,8 % тварин після 14-тижневої жирової «атерогенної» дієти. Ультраструктурний аналіз засвідчив порушення на рівні внутрішньої та м'язової оболонок судин у 100 % зразків. Зміни в ендотеліоцитах полягали у вакуолізації, деструкції мітохондрій, редукції органел, фокальній десквамації від базальної мембрани. Ліпідні включення виявлено у інтерстиційному просторі та клітинах субінтимального простору. У м'язовій оболонці аорти спостерігалися загиблі клітини, набухання мітохондрій у цитоплазмі непосмугованих клітин, що вказує на їх ураження [146].

В літературі є інші моделі атерогенезу, в яких описано схожу картину перетворень, наприклад гіперхолестеринемія в поєднанні з радіоактивним випромінюванням у мишей, що дало картину значних ультراструктурних ушкоджень [147]. Групою Турчина та ін. було показано за допомогою моделі атерогенезу у інтактних мишей, що 14-тижневе споживання холестеринової дієти викликало розвиток структурних змін у вигляді дрібнодисперсної пенетрації субендотеліального простору у цибулині аорти та меншою мірою у ендокарді, які розглядаються як ініціаторний етап атерогенезу [148].

Морфологічне дослідження печінки є важливим у розумінні особливостей розвитку метаболічних порушень в організмі, зокрема ліпідного метаболізму й структурного пошкодження інших тканин. На тлі атерогенної дієти показано розвиток стеатозу печінки мишей (вакуолізація, утворення гомогенно профарбованих ліпідів), стеатозу печінки щурів з дистрофічними змінами гепатоцитів [149]. Подібні прояви ми спостерігали і в ході наших

експериментів. За останніми даними [139] викликаний впливом високожирової і високохолестеринової дієти стеатоз печінки у щурів Wistar обтяжувався явищами фіброзу і запалення та дисфункцією печінки у SHRSP5/Dmcr. Ці прояви, що свідчать про можливе порушення метаболізму ліпідів у печінці внаслідок її дисфункції при спільному впливі артеріальної гіпертензії та ліпідного навантаження, можуть бути підґрунтям змін генетичної регуляції ліпідного метаболізму і прогресування патологічних порушень.

Ще одним важливим аспектом розвитку атеросклерозу є виникнення запальних реакцій. Так на основі результатів гістологічного дослідження групою вчених було показано, що розвиток атеросклерозу у мишей асоційований зі структурними змінами у серці, забезпечується зокрема запальними реакціями. Одночасно Janssen і співавт. [150] встановили розвиток на тлі атерогенної дієти запальних реакцій у головному мозку, зокрема у гіпокампі. Згідно з цими даними є підстави вважати, що ініціальний етап атерогенезу починається із запальних та дистрофічних змін у стінках судин, що в нормі є основою для виникнення ліпідних включень [151].

В ході наших експериментів виявлено, що гіпертензія у щурів викликала пошкодження у стінці аорти та її ліпідну інфільтрацію, що посилювалися під впливом холестеринової дієти й супроводжувалися наявністю імунокомпетентних клітин в зонах ураження аорти. Варто зазначити, що у SHR стінки судин вже мали характерні пошкодження, однак холестеринова дієта значно погіршила як ступінь пошкодження, так і збільшила кількість уражених ділянок. Ці ознаки дозволяють характеризувати виявлені нами зміни в стінці аорти SHR під впливом високохолестеринової дієти як початкову стадію атеросклеротичних перетворень. При цьому одним з можливих пояснень зменшення артеріальної жорсткості є зміна механічних властивостей судин, що було вже показано в літературі [152].

В сукупності з результатами функціональних та біохімічних досліджень можна представити перебіг спільного впливу негативних факторів, які ми досліджували, наступним чином. Вплив підвищеного артеріального тиску

призводить до пошкодження артеріальної стінки, зростанню постнавантаження на серце, зменшенню функціональної спроможності міокарда. Надходження екзогенного холестерину створює гіперхолестеринемію, що сприяє покращенню пластичної функції клітин та транспортної функції ліпідів. Водночас зростання ліпідної інфільтрації аорти зменшує артеріальну жорсткість та постнавантаження на серце. Це призводить до часткової функціональної компенсації, але поглиблює структурні перетворення та сприяє розвитку початкових стадій атеросклерозу та його прогресії. При цьому холестеринемія є пусковим фактором стеролзалежної регуляції, яка значною мірою реалізується через експресію та активність SREBP та їх генів-мішеней.

Зміни експресії генів SREBF1 і SREBF2 та їх генів-мішеней Insig-1 та HMGCoAr в тканинах серця та печінки нормо- і гіпертензивних щурів за умов високохолестеринової дієти

З огляду на важливість змін обміну ліпідів у печінці та в серці - органі, що зазнає функціонального навантаження при гіпертензії, ці органи були обрані для проведення досліджень експресії генів. Нами вперше показано, що рівні мРНК *SREBF1* в клітинах міокарда SHR були менші за такі у щурів Wistar на 49%, а в клітинах печінки експресія гена *SREBF1* була більшою в 2.9 разів. В міокарді SHR виявлено в 10 разів вищу експресію *Insig-1*, ніж у щурів Wistar, що разом зі зменшенням експресії може свідчити про порушення нормального метаболізму SREBP. Водночас в тканині печінки SHR експресія *Insig-1* була більшою в 1.6 рази. Рівень експресії мРНК *SREBF2* в клітинах міокарда SHR був менший за такий у щурів Wistar на 49%, але в тканині печінки у SHR експресія *HMGCoAR* була більшою в 2.7 рази.

Таким чином, наявність артеріальної гіпертензії викликала значні зміни в регуляторних ланках ліпідного і вуглеводного метаболізму на рівні експресії генів, в тому числі у функціонально навантажених клітинах міокарда. Це може свідчити про підсилення при артеріальній гіпертензії ланки ліпогенезу, зумовленої функцією SREBP1, як в клітинах серця так і у печінці, і підсилення ланки холестеринового синтезу в печінці. І хоча ми не виявили достовірних

змін у холестеринових фракціях крові, дані літератури однак свідчать про їх взаємозв'язок з гіпертензивним статусом. Так при дослідженнях на 234 пацієнтах, в тому числі 159 хворих на есенціальну гіпертензію виявили, що у гіпертензивних хворих в крові достовірно більшими були рівні загального холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів низької щільності, а рівень ліпопротеїдів високої щільності був нижчим [153]. Водночас підсилення ланки холестеринового синтезу в печінці може бути спрямованим на покращення функціональної компенсації серця в умовах гіпертензії, як ми це спостерігали при вживанні ендogenous холестерину.

За умов високохолестеринової дієти вдвічі збільшувалася експресія гену *SREBF1* в клітинах міокарду SHR та на 66% у Wistar. В клітинах печінки щурів Wistar, але не у SHR, встановлено зростання у 5 разів експресії гена *SREBF1*. В тканинах серця щурів SHR за умов високохолестеринової дієти встановлено зменшення на 96% експресії *Insig*, а в тканинах печінки - зростання його експресії в 3 рази експресії. Експресія гену *SREBF2* в клітинах міокарду SHR зростала втричі, а в клітинах печінки щурів SHR виявлено її зменшення на 67%. В тканинах серця щурів Wistar за умов високохолестеринової дієти встановлено зростання експресії *HMGCoAr* на 28%, тоді як у щурів встановлено його зростання у 3 рази. В тканинах печінки щурів Wistar за умов холестеринової дієти експресія *HMGCoAr* знижувалася на 71%, а у щурів SHR встановлено зростання в 2,9 разів.

Отже, у Wistar за цих умов спостерігалася активація регуляторної ланки ліпогенезу в печінці та міокарді. В той же час у SHR ця регуляторна ланка редукувалася в печінці, яка зазнавала запальних та морфологічних порушень. Натомість у функціонально навантаженому міокарді SHR відбувалася індукція генів *SREBF1* і *SREBF2*, вірогідно, для безпосереднього забезпечення енергетичного і пластичного резерву міокардіоцитів. В той же час виявлено і гальмівні, обмежувальні ланки генетичної регуляції. У міокарді трансактиваційна функція SREBP1 щодо його гена-мішені *Insig* блокувалася високохолестериною дієтою. У печінці SHR, на відміну від Wistar,

підтримувалася індукція гена *HMGCoAr*, тоді як його транскрипційний фактор SREBP1 супресувався на рівні транскрипції.

Таким чином, ми спостерігаємо досить різну регуляторну реакцію у нормо- та гіпертензивних щурів у відповідь на холестеринову дієту. У печінці Wistar ми бачимо стимуляцію експресії *SREBF1*, що, однак, не викликає підвищення активності білка SREBP1, тоді як у SHR спостерігали значне зростання активності цього білка і, як наслідок, експресії генів-мішеней ліпогенезу. Можливо, цей факт є причиною виникнення стеатозу печінки, який ми відмічали в ході експерименту (цей матеріал не представлений в роботі). Варто згадати роботи Shimano et al, в яких описуються різноманітні патологічні стани, що відносяться до метаболічного синдрому й містять у патогенезі порушення метаболізму SREBP1, а саме його надактивність [7].

В міокарді SHR відбувалося збільшення експресії *SREBF2* й тенденції до активізації холестеринового синтезу за умов високохолестеринової дієти, що є парадоксальною реакцією і також свідчить про порушення нормальної стеролзалежної регуляції. Так само і в печінці, навіть за пригнічення експресії *SREBF2* ми спостерігали значну активацію функції SREBP2 та індукцію генів холестеринового синтезу.

Одержані нами результати [154] свідчать, що гіпертрофія міокарда супроводжується зростанням експресії цитопротекторної протеїнкінази Akt, яка є ланкою сигнальних шляхів, що призводять до активації SREBP. Таким чином, індуковане гіпертензією структурне ремоделювання серця може бути передумовою посилення функції SREBP в міокарді.

Проведено кроскореляційний аналіз, який засвідчив наявність кореляційних зв'язків експресії генів та ряду показників фізіологічних, біохімічних та морфологічних досліджень. Найбільшу кількість кореляційних зв'язків виявлено щодо експресії гену *SREBF1* у печінці. Зокрема, цей показник показав сильний позитивний зв'язок з показниками кінцево-сistolічного тиску в лівому шлуночку, артеріальної жорсткості, максимальної жорсткості лівого шлуночка, а також максимальної потужності обумовленої переднавантаженням,

та негативний – зі змінами об'ємних показників протягом серцевого циклу (табл.8.1). Ці дані підтверджують участь SREBF1 у механізмах регуляції ліпідного обміну при функціональному навантаженні серця, викликаному артеріальною гіпертензією. Рівень експресії SREBF1 у печінці також позитивно корелював з рівнем загального холестерину і більш значно – холестерину ЛПНЩ, але не з іншими показниками фракцій холестерину, ліпідів або індексом атерогенності (табл.8.1). Водночас, таких зв'язків не виявлено щодо експресії SREBF2 у печінці.

Показник		Серце				Печінка			
		SREBF 1	SREBF 2	HMGco Ar	Insig 1	SREBF 1	SREBF 2	HMGco Ar	Insig 1
Кінцево-сistolічний об'єм	Коефіцієнт кореляції	-,222	,347	-,151	-,184	-,748**	,104	-,145	-,136
	Вірогідність (p)	,257	,082	,515	,401	,000	,600	,500	,518
Кінцево-діастолічний об'єм	Коефіцієнт кореляції	-,227	,318	-,143	-,167	-,723**	,104	-,118	-,109
	Вірогідність (p)	,246	,114	,535	,445	,000	,598	,584	,603
Кінцево-сistolічний тиск	Коефіцієнт кореляції	,374*	-,213	-,164	-,271	,735**	,038	-,319	-,162
	Вірогідність (p)	,050	,296	,479	,211	,000	,846	,128	,439
Ударний об'єм	Коефіцієнт кореляції	-,180	,239	-,260	-,253	-,630**	,161	-,276	-,225
	Вірогідність (p)	,360	,240	,255	,244	,001	,414	,192	,279
Хвилинний об'єм крові	Коефіцієнт кореляції	-,202	,164	-,323	-,263	-,571**	,216	-,352	-,272
	Вірогідність (p)	,303	,422	,153	,226	,003	,269	,091	,188
Ударна робота	Коефіцієнт кореляції	-,543**	-,188	-,401	,264	-,481*	,414*	-,329	-,306
	Вірогідність (p)	,003	,358	,072	,224	,015	,028	,117	,138
Артеріальна жорсткість	Коефіцієнт кореляції	,325	-,296	-,060	-,062	,797**	-,027	-,137	-,047
	Вірогідність (p)	,091	,142	,797	,780	,000	,890	,524	,823
Максимальна швидкість зміни тиску	Коефіцієнт кореляції	,279	-,201	-,242	-,391	,580**	,137	-,486*	-,268
	Вірогідність (p)	,150	,324	,290	,065	,002	,488	,016	,196

Показник		Серце				Печінка			
		SREBF 1	SREBF 2	HMGco Ar	Insig 1	SREBF 1	SREBF 2	HMGco Ar	Insig 1
Максимальна швидкість розслаблення міокарду	Коефіцієнт кореляції	-,484**	-,154	-,346	,393	-,561**	,334	-,180	-,280
	Вірогідність (p)	,009	,453	,125	,064	,004	,082	,399	,176
Максимальна швидкість зменшення об'єму лівого шлуночка	Коефіцієнт кореляції	-,152	,354	-,195	-,260	-,626**	,123	-,195	-,142
	Вірогідність (p)	,441	,076	,396	,231	,001	,535	,360	,498
Максимальна швидкість збільшення об'єму лівого шлуночка	Коефіцієнт кореляції	,177	-,310	,258	,229	,616**	-,273	,237	,053
	Вірогідність (p)	,367	,123	,259	,294	,001	,159	,265	,803
Тиск в точці максимальної швидкості збільшення об'єму лівого шлуночка	Коефіцієнт кореляції	,261	,185	,401	-,283	,155	-,352	,518**	,322
	Вірогідність (p)	,180	,365	,072	,191	,460	,066	,010	,117
Тиск в точці максимальної швидкості зміни тиску	Коефіцієнт кореляції	,258	-,095	,291	-,044	,579**	-,219	,324	,205
	Вірогідність (p)	,186	,645	,201	,843	,002	,262	,123	,327
Об'єм в точці максимальної швидкості зміни тиску	Коефіцієнт кореляції	-,286	,280	-,180	-,108	-,743**	,179	-,162	-,157
	Вірогідність (p)	,139	,166	,434	,622	,000	,362	,449	,454
Об'єм в точці максимальної швидкості розслаблення міокарду	Коефіцієнт кореляції	-,205	,398*	-,107	-,187	-,762**	,106	-,096	-,099
	Вірогідність (p)	,294	,044	,644	,393	,000	,592	,657	,639
Ізоволюмічна константа розслаблення лівого шлуночка Тау за Вайсом	Коефіцієнт кореляції	,188	,255	,385	-,281	-,012	-,391*	,590**	,386
	Вірогідність (p)	,338	,209	,085	,194	,954	,040	,002	,056
Максимальна потужність	Коефіцієнт кореляції	-,590**	-,610**	-,581**	,605*	,046	,587**	-,342	-,274
	Вірогідність (p)	,001	,001	,006	,002	,829	,001	,102	,186

Показник		Серце				Печінка			
		SREBF 1	SREBF 2	HMGco Ar	Insig 1	SREBF 1	SREBF 2	HMGco Ar	Insig 1
Максимально потужність обумовлена переднавантажен ням	Коефіцієнт кореляції	-,122	-,586**	-,263	,365	,569**	,275	-,186	-,127
	Вірогідність (p)	,536	,002	,249	,087	,003	,157	,383	,544
Максимальна жорсткість лівого шлуночка (Emax)	Коефіцієнт кореляції	,688	,572	-,560	,286	,943**	-,040	,259	,113
	Вірогідність (p)	,199	,313	,326	,714	,005	,932	,620	,810
Тотальний холестерин	Коефіцієнт кореляції	,009	-,202	-,091	,080	,554**	,111	,136	,383
	Вірогідність (p)	,966	,380	,720	,736	,009	,614	,569	,095
Ліпопротеїди низької щільності	Коефіцієнт кореляції	-,147	-,418	-,222	,179	,712**	,191	-,013	,257
	Вірогідність (p)	,535	,084	,408	,493	,001	,420	,960	,302
Інтима	Коефіцієнт кореляції	,292	,400	,422	-,011	,079	-,396	,824**	,378
	Вірогідність (p)	,199	,081	,092	,966	,740	,084	,000	,121
Співвідношення Медіа/Інтима	Коефіцієнт кореляції	,293	,408	,371	-,048	,089	-,392	,841**	,399
	Вірогідність (p)	,197	,074	,142	,849	,709	,087	,000	,101

Таблиця.8.1 Показники кореляції експресії генів SREBF1, SREBF2, Insig1, HMGcoAr в серці й печінці з показниками кардіогемодинаміки, рівня холестеринових фракцій крові та гістологічними параметрами змін стінки аорти.

Примітки: ** - Кореляція є вірогідною при $p > 0.01$

Важливо, що експресія гена-мішені SREBF2 в печінці – HMGcoAr, який задіяний у синтезі холестерину, показала позитивний зв'язок не лише з деякими показниками діастолічної функції, але й товщиною інтими та співвідношенням інтима/медіа в аорті. Тобто ознаками, що були в комплексі з іншими асоційовані нами з розвитком початкових стадій атеросклерозу, й відповідно був пов'язаний з активацією цього гена.

Звертає на себе увагу значно менша асоціація експресії досліджених генів у серці з показниками функціональних та відсутність зв'язку з даними біохімічних та морфологічних досліджень. Так, виявлено зв'язок (помірний негативний) експресії SREBF1 у серці лише з показниками ударної роботи, максимальної швидкості розслаблення міокарду, максимальної потужності, а SREBF2 – з показниками максимальної потужності та максимальної потужності обумовленої переднавантаженням. Це може побічно вказувати на зв'язок експресії генів з метаболічним навантаженням кардіоміоцитів при посиленні функції серця. Взагалі, зростання максимальної потужності серця асоціювалося зі змінами експресії всіх досліджених генів в серці, але тільки SREBF2 у печінці.

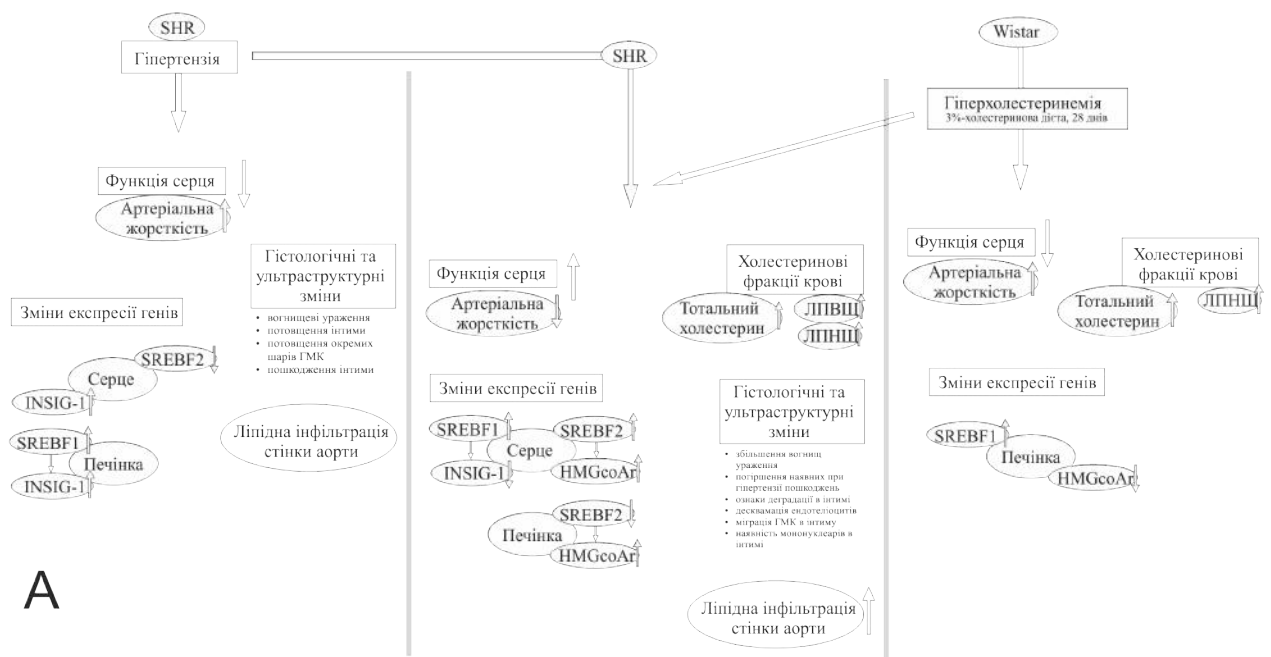
Проведений кореляційний аналіз може свідчити, що зміни експресії стеролрегуляторних генів та їх генів-мішеней у печінці беруть участь у регуляторних механізмах, як при артеріальній гіпертензії, так і при гіперхолестеринемії та пов'язані з розвитком ранніх стадій атерогензу. Водночас генетична регуляція обміну ліпідів в серці більшою мірою пов'язана зі змінами роботи серцевого м'яза, в тому числі викликаного постнавантаженням.

Загалом, описані зміни явним чином відображають суттєві порушення в метаболізмі ліпідів, як в печінці, так і в міокарді у спонтанно-гіпертензивних щурів. При цьому порушення в печінці можна визначити як первинні, які певний час компенсуються регуляторними змінами безпосередньо в міокарді, але зазнають подальших розладів при екзогенному холестериновому навантаженні.

Варто уваги, що мітохондріальна дисфункція у SHR спричинює розлади енергетичного метаболізму [134]. Нами встановлено, що гіпоксія викликає стійке зменшення вмісту в крові здорових осіб холестерину та його фракцій і перехід процесів синтезу АТФ на ліпідні субстрати [155]. Таким чином, посилення експресії генів ліпогенезу може бути наслідком також процесів тканинної гіпоксії і нестачі АТФ при артеріальній гіпертензії, а підсумковий

рівень ліпідних фракцій крові - відображувати протиспрямований вплив стимуляції ліпогенезу і використання ліпідів для енергетичних і пластичних потреб.

Зазначені взаємозв'язки та участь стеролрегуляторних генів у регуляції морфофункціонального стану серцево-судинної системи гіпертензивних щурів за умов високохолестеринової дієти можна представити наступною схемою (рис. 8.1).



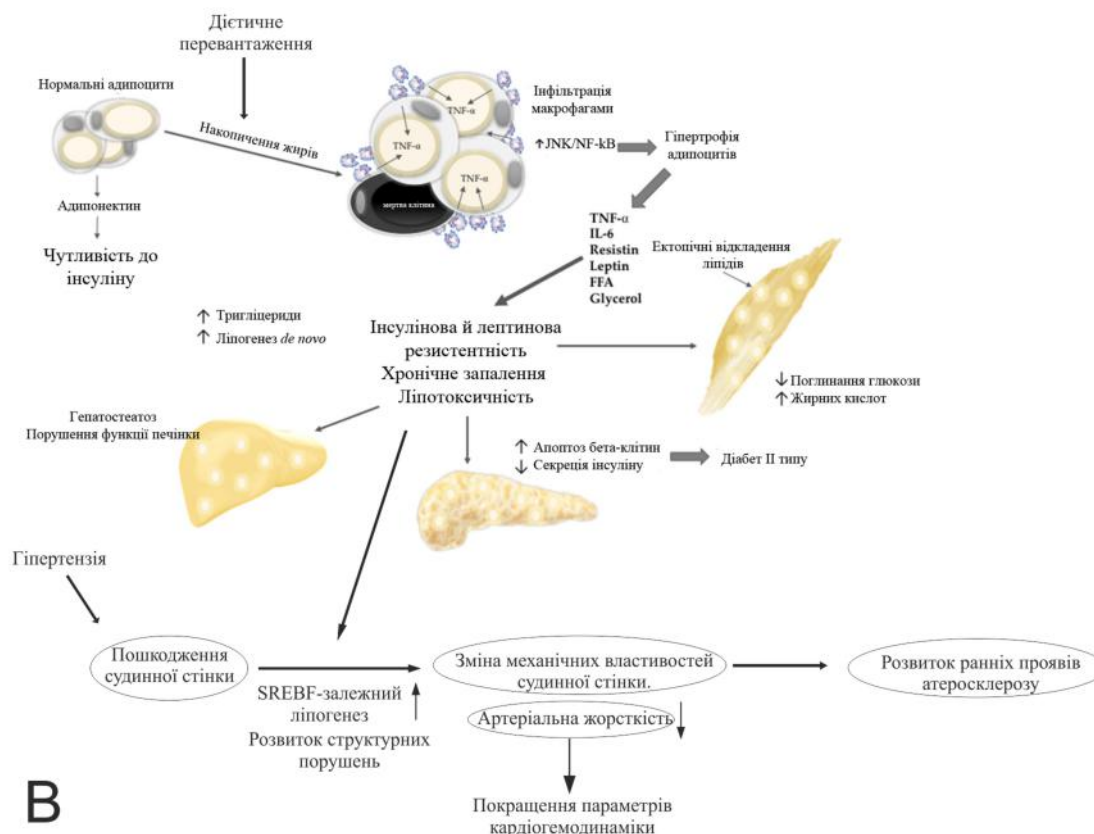


Рис. 8.1. А - порівняльна схема впливу гіпертензії, високохолестеринової дієти та їх поєднання на функцію серця, рівні ліпопротеїдів в крові, морфологію та ультраструктуру стінки аорти, а також її ліпідну інфільтрацію, експресію стеролрегуляторних генів та їх генів мішеней в клітинах серця та печінки.

В - гіпотетична схема розвитку порушень характерних для поєданого впливу гіпертензії та гіперхолестеринемії, за основу взято схему Avalos-Soriano et al [156].

Взаємозв'язок між поліморфізмом гену SREBF та виникненням есенціальної гіпертензії у дітей.

Ця частина роботи була присвячена виявленню можливого взаємозв'язку між виникненням артеріальної гіпертензії та одним з поліморфізмів гену *SREBF*, що потенційно може впливати на функцію серцево-судинної системи. Потрібно зауважити, що на сьогодні дослідження таких взаємозв'язків проводиться переважно в популяційних дослідженнях серед населення різних країн, кожне з яких становить виняткову цінність. Дослідження на тваринах має менше значення через обмежену варіативність геному експериментальних

тварин і неможливість вставити статистично значущий результат залежності розвитку певних ефектів або патологічних станів від спонтанної мутації гена, співставний з відповідними проявами у людини. З огляду на спадковий характер розвитку артеріальної гіпертензії в клініці, більш вірогідним є результат досліджень в дитячому віці, коли вплив епігенетичних факторів є менш значущим. З урахуванням цих чинників, нами було обрано для дослідження когорту дітей – мешканців України з есенціальною гіпертензією.

Результати дослідження не виявили залежності раннього розвитку гіпертензії від однонуклеотидного поліморфізму гену *SREBF1* (rs2297508), що спростовує спадковий характер впливу цієї мутації. Одержані дані підтримують висловлене нами припущення про незалежність впливу факторів артеріальної гіпертензії та гіперхолестеринемії на встановлені нами ефекти. Однак, незважаючи на негативний результат, ми не виключаємо взаємозв'язку розвитку гіпертензії з іншими поліморфізмами гену *SREBF*. З огляду на результати наших досліджень, особливо стосовно змін експресії стеролрегуляторних генів у SHR, цей результат не спростовує наявності взаємодії між *SREBF* та виникненням гіпертензії, а радше підтримує припущення про її опосередкованість іншим механізмом. Розвиток цього напрямку досліджень дасть нам змогу краще розуміти роль *SREBF* у розвитку порушень серцево-судинної системи.

Природа артеріальної гіпертензії у спонтанногіпертензивних щурів є генетичною і пов'язана з взаємодією багатьох генів, але при цьому жоден з цих генів не є однозначною причиною розвитку цього стану. Саме тому дослідження ролі різних генів в розвитку артеріальної гіпертензії є надзвичайно важливими для отримання повної картини. На додаток до цього твердження нещодавнє дослідження асоціацій поліморфізмів SCAP (білок, що активує SREBP розщепленням) з виникненням артеріальної гіпертензії у дітей в популяції Китаю показало наявності такої асоціації тільки у дітей з ожирінням [130], що підтверджує висловлену нами думку про значущість саме спільного

впливу розладів артеріального тиску і ліпідного обміну у маніфестації патологічних проявів, в тому числі, на генетичному рівні.

Підсумовуючи наше дослідження, можна викласти наступні теоретичні положення. Внаслідок впливу високохолестеринової дієти отримано відносне покращення кардіогемодинаміки у спонтанногіпертензивних щурів, що саме по собі є парадоксальним, однак вказує на певну відмінність в реакції організму на стрес у SHR. Дослідження вмісту ліпідів у плазмі крові показало знову ж таки парадоксально меншу чутливість SHR до екзогенного холестерину і, як наслідок, меншу тяжкість зміни у них концентрацій холестеринових фракцій. Це свідчення додатково підтверджується результатами генетичних досліджень, які виявили підвищену активність SREBP, особливо SREBP2 за впливу дієти у SHR, що вказує на дизрегуляцію метаболізму холестерину й ліпідів та можливе виникнення ліпотоксичності, як чинника у розвитку атеросклерозу. Таким чином, поєднання дії артеріальної гіпертензії з високохолестериновою дієтою у SHR створює ризик розвитку і прогресії атеросклерозу та метаболічного синдрому, значну роль у якому відіграє SREBP-опосередкована дизрегуляція ліпідного обміну.

На підставі одержаних результатів можна зробити рекомендації запобігати несприятливому спільному впливу артеріальної гіпертензії та ліпідних розладів, а саме уникати екзогенних ліпідних навантажень і попереджувати розлади ліпідного метаболізму у осіб з артеріальною гіпертензією, а також підтримувати нормотензію у хворих з порушеннями ліпідного обміну.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі за допомогою експериментальних досліджень на щурах зі спонтанною гіпертензією та впливом високохолестеринової дієти встановлено особливості змін кардіогемодинаміки, структури серця та судин, змін та генетичної регуляції ліпідного обміну, асоційованих з окремою та спільною дією факторів постнавантаження та екзогенної гіперхолестеринемії, а також в популяційному дослідженні не підтверджено роль поліморфізму гена *SREBF* у розвитку есенціальної артеріальної гіпертензії у дітей.

1. За умов артеріальної гіпертензії виявлено порушення кардіогемодинаміки: значне зменшення показників насосної функції, зокрема, ХОК – на 74%, погіршення систолічної й діастолічної функції серця щурів, а також зростання артеріальної жорсткості в 4,8 разів. При впливі високохолестеринової дієти у щурів Wistar погіршилися параметри насосної, систолічної та діастолічної функції. Водночас у SHR високохолестеринова дієта покращила функції серцево-судинної системи за насосною (збільшення ХОК на 69%) та меншою мірою діастолічною функцією серця. Також виявлено зменшення артеріальної жорсткості на 47%, що є значним фактором у зменшенні постнавантаження на серцевий м'яз.
2. Ліпопротеїдний склад крові не змінювався за умов артеріальної гіпертензії. Вживання екзогенного холестерину призводило до гіперхолестеринемії, однак зростання вмісту холестерину і його фракцій було меншим у SHR, особливо холестерину ЛПНЩ – у 2,9 рази порівняно з 5,2 рази у Wistar.
3. У SHR виявлено морфологічні зміни у будові аорти (потовщення стінки аорти та інтими, вогнищеві порушення ендотеліоцитарної вистілки, набряк, ліпідна інфільтрація). За умов високохолестеринової дієти у SHR виявлено більш виразні зрушення порівняно з Wistar: зростання товщини інтими та співвідношення інтима/медіа, збільшення ділянок ураження,

міграцію гладеньком'язових клітин, зростання кількості ліпідних включень в тканинах стінки аорти.

4. Артеріальна гіпертензія призводила до супресії генів *SREBF1* та *SREBF2* в клітинах міокарда, на 49% та 65%, відповідно, при цьому експресія гена-мішені *Insig-1* у SHR була у 10 разів вищою, ніж у щурів Wistar. За умов високохолестеринової дієти вдвічі збільшувалася експресія генів *SREBF1* та *SREBF2* в клітинах міокарда SHR, водночас спостерігалось зменшення на 96% експресії *Insig1* і зростання у 3 рази експресії *HMGcoAr*. У міокарді Wistar зростала експресія лише *SREBF1* (на 66%), встановлено зменшення на 73% експресії *Insig1*, а експресія *HMGcoAr* зростала на 28%.
5. В клітинах печінки SHR експресія гена *SREBF1* була більшою в 2.9 рази, а генів *Insig-1* та *HMGcoAr* в 1.6 та 2.7 разів, відповідно. За умов високохолестеринової дієти у щурів Wistar встановлено зростання у 5 разів експресії гена *SREBF1*, а експресія *HMGcoAr* знижувалася на 71%. У SHR за впливу високохолестеринової дієти встановлено зниження на 18% експресії *SREBF1* і на 67% експресії *SREBF2*. а також триразове зростання експресії генів *Insig1* та *HMGcoAr*, що може вказувати на несприятливе зростання холестеринового синтезу.
6. Встановлено, що розподіл частот алельних варіантів гена *SREBF1* у практично здорових осіб та дітей із есенціальною артеріальною гіпертензією в популяції України не відрізняється. Це не підтверджує асоціацію поліморфізму гена *SREBF1* (rs2297508) та виникнення артеріальної гіпертензії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ:

- [1] "World Health Statistics 2016," vol.
https://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2016/en/.
- [2] Ryan T. Hurt, Christopher Kulisek, Laura A. Buchanan, Stephen A. McClave., "The Obesity Epidemic: Challenges, Health Initiatives, and Implications for Gastroenterologists," *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. , vol. 6, no. 12, pp. 780-792, 2010 Dec.
- [3] Yadav Ram Lochan, Yadav Prakash Kumar, Yadav Laxmi Kumari, Agrawal Kopila, Santosh Kumar Sah, and Md Nazrul, "Islam Association between obesity and heart rate variability indices: an intuition toward cardiac autonomic alteration – a risk of CVD Diabetes," *Diabetes Metab Syndr Obes.* , vol. 10, pp. 57-64, 2017.
- [4] Widet Gallo, Jonathan Lou S. Esguerra, Lena Eliasson, Olle Melander, "miR-483-5p associates with obesity and insulin resistance and independently associates with new onset diabetes mellitus and cardiovascular disease," *PLoS One.*, vol. 13, no. 11, p. e0206974, 2018.
- [5] K. S., "Is There an Association of Vascular Disease and Atherosclerosis in Children and Adolescents With Obesity and Non-alcoholic Fatty Liver Disease?," *Front Pediatr.*, vol. 6, p. 345, 2018.
- [6] Park HJ, Georgescu SP, Du C, Madias C, Aronovitz MJ, Welzig CM, Wang B, Begley U, Zhang Y, Blaustein RO, Patten RD, Karas RH, Van Tol HH, Osborne TF, Shimano H, Liao R, Link MS, Galper JB., "Parasympathetic response in chick myocytes and mouse heart is controlled by SREBP.," *J Clin Invest.*, vol. 118, no. 1, pp. 259-71, 2008 Jan.
- [7] Shimano H., "SREBPs: physiology and pathophysiology of the SREBP family.," *FEBS J.* , vol. 276, no. 3, pp. 616-21, 2009 Feb.
- [8] Wende AR, Abel ED., "Lipotoxicity in the heart.," *Biochim Biophys Acta.*, vol. 1801, no. 3, pp. 311-9, 2010.
- [9] Sato R., "Sterol metabolism and SREBP activation.," *Arch Biochem Biophys.*, vol. 501, no. 2, pp. 177-81, 2010 Sep.
- [10] Horton JD, Shah NA, Warrington JA, Anderson NN, Park SW, Brown MS,

- Goldstein JL., "Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes.," *Proc Natl Acad Sci U S A.*, vol. 100, no. 21, pp. 12027-32, 2003 Oct 14.
- [11] Ferre P, Foufelle F., "Hepatic steatosis: a role for de novo lipogenesis and the transcription factor SREBP-1c.," *Diabetes Obes Metab.*, vol. 12 Suppl 2, pp. 83-92, 2010 Oct.
- [12] Wei Q, Zhou B, Yang G, Hu W, Zhang L, Liu R, Li M, Wang K, Gu HF, Guan Y, Zhu Z, Zheng H, Peng J, Li L., "JAZF1 ameliorates age and diet-associated hepatic steatosis through SREBP-1c -dependent mechanism.," *Cell Death Dis.* , vol. 9, no. 9, p. 859, 2018 Aug.
- [13] Lee H, Yoo YS, Lee D, Song EJ., "Cholesterol induces cardiac hypertrophy by activating the AKT pathway.," *J Steroid Biochem Mol Biol.* , vol. 138C, pp. 307-313, 2013.
- [14] Yi-De Yang, Jie-Yun Song, Shuo Wang, Fang-Hong Liu, Yi-Ning Zhang, Xiao-Rui Shang, Hai-Jun Wang,* and Jun Ma, "Genetic variations in sterol regulatory element binding protein cleavage-activating protein (SCAP) are associated with blood pressure in overweight/obese Chinese children," *PLoS One.*, vol. 12, no. 5, p. e0177973, 2017.
- [15] Romacho T, Elsen M, Rohrborn D, Eckel J, "Adipose tissue and its role in organ crosstalk.," *Acta Physiol (Oxf).* , vol. 210, no. 4, pp. 733-53, 2014 Apr.
- [16] Proenca A.R.G., Sertie R.A.L. , Oliveira A.C. , Campaaa A.B., Caminhotto R.O., Chimin P., and Lima F.B., "New concepts in white adipose tissue physiology," *Braz J Med Biol Res.*, vol. 47, no. 3, p. 192–205., 2014 Mar.
- [17] Kelesha Sarjeant, Jacqueline M. Stephens, "Adipogenesis," *Cold Spring Harb Perspect Biol.* , vol. 4, no. 9, p. a008417, 2012.
- [18] Pausova Z., "From big fat cells to high blood pressure: a pathway to obesity-associated hypertension.," *Curr Opin Nephrol Hypertens.* , vol. 15, no. 2, pp. 173-8, 2006 Mar.
- [19] Liu J, DeYoung SM, Zhang M, et al., "Changes in integrin expression during adipocyte differentiation.," *Cell Metabol* , vol. 2, pp. 165-177, 2005.
- [20] Perseghin G, Scifo P, Danna M, et al., "Normal insulin sensitivity and IMCL content in overweight humans are associated with higher fasting lipid

- oxidation.," *Am J Physiol Endocrinol Metab* , vol. 283, pp. E556-E564, 2002.
- [21] L. C.-H. T. S. e. a. Wang X-Y, "Peroxisome-proliferator-activated receptor ? activates fat metabolism to prevent obesity.," *Cell*, vol. 113, pp. 159-170, 2003.
- [22] Farnier C, Krief S, Blache M, et al., "Adipocyte functions are modulated by cell size change: potential involvement of an integrin/ERK signaling pathway.," *Int J Obes Relat Metab Disord*, vol. 27, pp. 1178-1186, 2003.
- [23] Le Lay S, Krief S, Farnier C, et al., "Cholesterol, a cell size dependent signal that regulates glucose metabolism and gene expression in adipocytes.," *J Biol Chem*, vol. 276, pp. 16904-16910, 2001.
- [24] De Miguel Carmen, Rudemiller Nathan P., Abais Justine M. and Mattson David L., "Inflammation and hypertension: new understandings and potential therapeutic targets," *Curr Hypertens Rep.*, vol. 17, no. 1, p. 507, 2015 Jan.
- [25] Despres JP, Lemieux I, "Abdominal obesity and metabolic syndrome.," *Nature.*, vol. 444, no. 7121, pp. 881-7, 2006 Dec.
- [26] Bluher M, "The distinction of metabolically 'healthy' from 'unhealthy' obese individuals.," *Curr Opin Lipidol.*, vol. 21, no. 1, pp. 38-43, 2010 Feb.
- [27] Unger RH, Clark GO, Scherer PE, Orci L, "Lipid homeostasis, lipotoxicity and the metabolic syndrome.," *Biochim Biophys Acta.*, vol. 1801, no. 3, pp. 209-14, 2010 Mar.
- [28] Farese RV Jr, Zechner R, Newgard CB, Walther TC, "The problem of establishing relationships between hepatic steatosis and hepatic insulin resistance.," *Cell Metab.*, vol. 15, no. 5, pp. 570-3, 2012 May.
- [29] Smith J. R., Osborne T. F., Goldstein J. L., and Brown M. S., "Identification of nucleotides responsible for enhancer activity of sterol regulatory element in low density lipoprotein receptor gene.," *J. Biol. Chem.* , vol. 265, pp. 2306-2310, 1990.
- [30] Wang X., Briggs M. R., Hua X., Yokoyama C., Goldstein J. L. , and Brown M. S., "Nuclear protein that binds sterol regulatory element of LDL receptor promoter: II. Purification and characterization.," *J. Biol. Chem.* , vol. 268, pp. 14497-14504, 1993.
- [31] Yokoyama C., Wang X., Briggs M. R., Admon A., Wu J., Hua X., Goldstein J.

- L., and Brown M. S., "SREBP-1, a basic helix-loop-helix leucine zipper protein that controls transcription of the LDL receptor gene.," *Cell.* , vol. 75, pp. 187-197, 1993.
- [32] Osborne TF, Espenshade PJ., "Evolutionary conservation and adaptation in the mechanism that regulates SREBP action: what a long, strange tRIP it's been.," *Genes Dev.*, vol. 23, pp. 2578-2591, 2009.
- [33] Pai J.-Y., Guryev O., Brown M.S., Goldstein J.L., "Differential stimulation of cholesterol and unsaturated fatty acid biosynthesis in cells expressing individual nuclear sterol regulatory element-binding proteins.," *J Biol Chem.*, vol. 273, no. 40, pp. 26138-48, 1998.
- [34] Brown AJ, Sun L, Feramisco JD, Brown MS & Goldstein JL, "Cholesterol addition to ER membranes alters conformation of SCAP, the SREBP escort protein that regulates cholesterol metabolism.," *Mol Cell*, vol. 10, pp. 237-245, 2002.
- [35] Hasty AH, Shimano H, Yahagi N, Amemiya-Kudo M, Perrey S, Yoshikawa T, Osuga J, Okazaki H, Tamura Y, Iizuka Y, Shionoiri F, Ohashi K, Harada K, Gotoda T, Nagai R, Ishibashi S, Yamada N., "Sterol regulatory element-binding protein-1 is regulated by glucose at the transcriptional level.," *J Biol Chem.* , vol. 275, no. 40, pp. 31069-77, 2000 Oct 6.
- [36] Moore KJ, Rayner KJ, Suarez Y, Fernandez-Hernando C., "The role of microRNAs in cholesterol efflux and hepatic lipid metabolism.," *Annu Rev Nutr.* , vol. 31, pp. 49-63, 2011.
- [37] Shimano H, "SREBP-1c and TFE3, energy tran-scription factors that regulate hepatic insulin signaling.," *J Mol Med* , vol. 85, pp. 437-444, 2007.
- [38] Brown M.S. and Goldstein J.L., "The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor.," *Cell*, vol. 89, pp. 331-340, 1997.
- [39] Hampton R.Y., "Proteolysis and sterol regulation.," *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, vol. 18, pp. 345-378, 2002.
- [40] Hirano Y., Murata S., Tanaka K., Shimizu M., and Sato R., "Sterol regulatory element-binding proteins are negatively regulated through SUMO-1 modification independent of the ubiquitin/26 S proteasome pathway.," *J. Biol.*

- Chem.* , vol. 278, pp. 16809-16819, 2003.
- [41] Sakai J., Nohturfft A., Cheng D., Ho Y.K., Brown M.S., and Goldstein J.L., "Identification of complexes between the COOH-terminal domains of sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) and SREBP cleavage-activating protein.," *J. Biol. Chem.* , vol. 272, pp. 20213-20221, 1997.
 - [42] Kast-Woelbern HR, Dana SL, Cesario RM, Sun L, de Grandpre LY, Brooks ME, et al., "Rosiglitazone induction of Insig-1 in white adipose tissue reveals a novel interplay of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and sterol regulatory element-binding protein in the regulation of adipogenesis.," *J Biol Chem* , vol. 279, no. 23, pp. 23908-15, 2004.
 - [43] Lee JN, Ye J., "Proteolytic activation of sterol regulatory element-binding protein induced by cellular stress through depletion of Insig-1.," *J Biol Chem*, vol. 279, no. 43, pp. 45257-65, 2004.
 - [44] Goldstein JL, DeBose-Boyd RA, Brown MS., "Protein sensors for membrane sterols.," *Cell*, vol. 124, no. 1, pp. 35-46, 2006.
 - [45] Janowski BA., "The hypocholesterolemic agent LY295427 upregulates INSIG-1, identifying the INSIG-1 protein as a mediator of cholesterol homeostasis through SREBP.," *Proc Natl Acad Sci USA* , vol. 99, no. 20, pp. 12678-80, 2002.
 - [46] Ikeda Y, Demartino GN, Brown MS, Lee JN, Goldstein JL, Ye J., "Regulated endoplasmic reticulum-associated degradation of a polytopic protein: p97 recruits proteasomes to Insig-1 before extraction from membranes.," *J Biol Chem*, vol. 284, no. 50, pp. 34889-900, 2009.
 - [47] Engelking LJ, Kuriyama H, Hammer RE, Horton JD, Brown MS, Goldstein JL, et al., "Overexpression of Insig-1 in the livers of transgenic mice inhibits SREBP processing and reduces insulin-stimulated lipogenesis.," *J Clin Invest*, vol. 113, no. 8, pp. 1168-75, 2004.
 - [48] Lee PC, Sever N, Debose-Boyd RA., "Isolation of sterol-resistant Chinese hamster ovary cells with genetic deficiencies in both Insig-1 and Insig-2.," *J Biol Chem* , vol. 280, no. 26, pp. 25242-9, 2005.
 - [49] Yang T, Espenshade PJ, Wright ME, Yabe D, Gong Y, Aebersold R, et al., "Crucial step in cholesterol homeostasis: sterols promote binding of SCAP to INSIG-1, a membrane protein that facilitates retention of SREBPs in ER.,"

- Cell*, vol. 110, no. 4, pp. 489-500, 2002.
- [50] Shimano H, Sato R, "SREBP-regulated lipid metabolism: convergent physiology - divergent pathophysiology.," *Nat Rev Endocrinol.*, vol. 13, no. 12, pp. 710-730, 2017 Dec.
 - [51] Sun L.-P., Li L., Goldstein J.L., Brown M.S., "Insig required for sterol-mediated inhibition of Scap/SREBP binding to COPII proteins in vitro.," *J. Biol. Chem.*, vol. 280, pp. 26483-26490, 2005.
 - [52] Okada T., Haze K., Nakanaka S., Yoshida H., Seidah N.G., Hirano Y., Sato R., Negishi M., Mori K., "A serine protease inhibitor prevents endoplasmic reticulum stress-induced cleavage but not transport of the membrane-bound transcription factor ATF6.," *J. Biol. Chem.* , vol. 278, pp. 31022-31024, 2003.
 - [53] Xu Xiao Bao-Liang Song, "SREBP: a novel therapeutic target," *Acta Biochim Biophys Sin*, vol. 45, pp. 2-10, 2013.
 - [54] Horton J.D., Bashmakov Y., Shimomura I., Shimano H., "Regulation of sterol regulatory element binding proteins in livers of fasted and refed mice.," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*95, pp. 5987-5992, 1998.
 - [55] Li S, Brown MS, Goldstein JL., "Bifurcation of insulin signaling pathway in rat liver: mTORC1 required for stimulation of lipogenesis, but not inhibition of gluconeogenesis.," *Proc Natl Acad Sci U S A.* , vol. 107, no. 8, pp. 3441-6, 2010 Feb.
 - [56] Krycer JR, Sharpe LJ, Luu W and Brown AJ., "The Akt-SREBP nexus: cell signaling meets lipid metabolism.," *Trends Endocrinol Metab* , vol. 21, pp. 268-276, 2010.
 - [57] Peterson TR, Sengupta SS, Harris TE, Carmack AE, Kang SA, Balderas E, Guertin DA, Madden KL, Carpenter AE, Finck BN, et al., "mTOR complex 1 regulates Lipin 1 localization to control the SREBP pathway.," *Cell.* , vol. 146, pp. 408-420, 2011.
 - [58] Duvel K, Yecies JL, Menon S, Raman P, Lipovsky AI, Souza AL, Triantafellow E, Ma Q, Gorski R, Cleaver S, et al., "Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex1.," *Mol Cell.*, vol. 39, pp. 171-183, 2010.
 - [59] Liu TF, Tang JJ, Li PS, Shen Y, Li JG, Miao HH and Li BL, et al., "Ablation of

- gp78 in liver improves hyperlipidemia and insulin resistance by inhibiting SREBP to decrease lipid biosynthesis.," *Cell Metab*, vol. 16, pp. 213-225, 2012.
- [60] Unger RH, "Lipotoxicity in the pathogenesis of obesity-dependent NIDDM. Genetic and clinical implications.," *Diabetes* , vol. 44, pp. 863-870, 1995.
- [61] Shimano H., Yahagi N., Amemiya-Kudo M., Hasty A.H., Osuga J., Tamura Y., Shionoiri F., Iizuka Y., Ohashi K., Harada K., Gotoda T., Ishibashi S., Yamada N., "A crucial role of sterol regulatory element-binding protein-1 in the regulation of lipogenic gene expression by polyunsaturated fatty acids.," *J.Biol. Chem.* , vol. 274, pp. 35832-35839, 1999.
- [62] Yahagi N, Shimano H, Hasty AH, Matsuzaka T, Ide T, Yoshikawa T, Amemiya-Kudo M, Tomita S, Okazaki H, Tamura Yet al., "Absence of sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1) ameliorates fatty livers but not obesity or insulin resistance in Lep(ob)/Lep(ob) mice.," *J Biol Chem*, vol. 277, pp. 19353-19357, 2002.
- [63] Ide T, Shimano H, Yahagi N, Matsuzaka T, Nakakuki M, Yamamoto T, Nakagawa Y, Takahashi A, Suzuki H, Sone H et al., "SREBPs suppress IRS-2-mediated insulin signalling in the liver.," *Nat Cell Biol* , vol. 6, pp. 351-357, 2004.
- [64] Shimano H, Amemiya-Kudo M, Takahashi A, Kato T, Ishikawa M & Yamada N, "Sterol regulatory element-binding protein-1c and pancreatic beta-cell dysfunction.," *Diabetes Obes Metab*, vol. 9 Suppl 2, pp. 133-139, 2007.
- [65] Kato T, Shimano H, Yamamoto T, Yokoo T, Endo Y, Ishikawa M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Kumadaki S, Yahagi N et al., "Granuphilin is activated by SREBP-1c and involved in impaired insulin secretion in diabetic mice.," *Cell Metab* , vol. 4, pp. 143-154, 2006.
- [66] Moon YA, Liang G, Xie X, Frank-Kamenetsky M, Fitzgerald K, Koteliansky V, Brown MS, Goldstein JL, Horton JD., "The Scap/SREBP pathway is essential for developing diabetic fatty liver and carbohydrate-induced hypertriglyceridemia in animals.," *Cell Metab.*, vol. 15, pp. 240-246, 2012.
- [67] Sun L, Halaihel N, Zhang W, Rogers T & Levi M, "Role of sterol regulatory element-binding protein 1 in regulation of renal lipid metabolism and glomerulosclerosis in diabetes mellitus.," *J Biol Chem* , vol. 277, pp. 18919-

18927, 2002.

- [68] Kim JB, Spiegelman BM., "ADD1/SREBP1 promotes adipocyte differentiation and gene expression linked to fatty acid metabolism.," *Genes Dev.*, vol. 10, no. 9, pp. 1096-107, 1996.
- [69] Shimomura I, Hammer RE, Richardson JA, Ikemoto S, Bashmakov Y, Goldstein JL, Brown MS., "Insulin resistance and diabetes mellitus in transgenic mice expressing nuclear SREBP-1c in adipose tissue: model for congenital generalized lipodystrophy.," *Genes Dev.*, vol. 12, no. 20, pp. 3182-94, 1998 Oct.
- [70] Shimano H1, Shimomura I, Hammer RE, Herz J, Goldstein JL, Brown MS, Horton JD., "Elevated levels of SREBP-2 and cholesterol synthesis in livers of mice homozygous for a targeted disruption of the SREBP-1 gene.," *J Clin Invest.*, vol. 100, no. 8, pp. 2115-24, 1997 Oct .
- [71] Soukas A, Cohen P, Socci ND, Friedman JM., "Leptin-specific patterns of gene expression in white adipose tissue.," *Genes Dev.*, vol. 14, no. 8, pp. 963-80, 2000 Apr.
- [72] Inoue N, Shimano H, Nakakuki M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Yamamoto T, Sato R, Takahashi A, Sone H, Yahagi N, Suzuki H, Toyoshima H, Yamada N., "Lipid synthetic transcription factor SREBP-1a activates p21WAF1/CIP1, a universal cyclin-dependent kinase inhibitor.," *Mol Cell Biol.*, vol. 25, no. 20, pp. 8938-47, 2005 Oct.
- [73] Inoue N, Yahagi N, Yamamoto T, Ishikawa M, Watanabe K, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Takeuchi Y, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki H, Hasty AH, Toyoshima H, Yamada N, Shimano H., "Cyclin-dependent kinase inhibitor, p21WAF1/CIP1, is involved in adipocyte differentiation and hypertrophy, linking to obesity, and insulin resistance.," *J Biol Chem.*, vol. 283, no. 30, pp. 21220-9, 2008 Jul 25.
- [74] Unger RH, Orci L., "Lipoapoptosis: its mechanism and its diseases.," *Biochim Biophys Acta*, vol. 1585, pp. 202-212, 2002.
- [75] Ghosh S, Rodrigues B., "Cardiac cell death in early diabetes and its modulation by dietary fatty acids," *Biochim Biophys Acta* , vol. 1761, pp. 1148-1162, 2006.
- [76] Slawik M, Vidal-Puig AJ., "Lipotoxicity, overnutrition and energy metabolism

- in aging.," *Ageing ResRev*, vol. 5, pp. 144-164, 2006.
- [77] Garbarino J, Sturley SL., "Saturated with fat: new perspectives on lipotoxicity.," *Curr Opin Clin NutrMetab Care*, vol. 12, pp. 110-116, 2009.
 - [78] Abel ED, Litwin SE, Sweeney G., "Cardiac remodeling in obesity.," *Physiol Rev*, vol. 88, p. 389-419, 2008.
 - [79] McGavock JM, Lingvay I, Zib I, Tillery T, Salas N, Unger R, Levine BD, Raskin P, Victor RG, Szczepaniak LS., "Cardiac steatosis in diabetes mellitus: A H-magnetic resonance spectroscopy study," *Circulation* , vol. 116, pp. 1170-1175, 2007.
 - [80] Borradaile NM, Han X, Harp JD, Gale SE, Ory DS, Schaffer JE, "Disruption of endoplasmic reticulum structure and integrity in lipotoxic cell death.," *J Lipid Res*, vol. 47, pp. 2726-2737, 2006.
 - [81] Buchanan J, Mazumder PK, Hu P, Chakrabarti G, Roberts MW, Yun UJ, Cooksey RC, Litwin SE, Abel ED., "Reduced cardiac efficiency and altered substrate metabolism precedes the onset of hyperglycemia and contractile dysfunction in two mouse models of insulin resistance and obesity.," *Endocrinology*, vol. 146, pp. 5341-5349, 2005.
 - [82] Borradaile NM, Buhman KK, Listenberger LL, Magee CJ, Morimoto ETA, Ory DS, Schaffer JE., "A critical role for eukaryotic elongation factor 1A-1 in lipotoxic cell death.," *Mol Biol Cell*, vol. 17, pp. 770-778, 2006.
 - [83] Shimabukuro M, Ohneda M, Lee Y, Unger RH., "Role of nitric oxide in obesity-induced beta cell disease.," *J Clin Invest* , vol. 100, pp. 290-295, 1997.
 - [84] Zhou Y-T, Grayburn P, Karim A, Shimabukuro M, Higa M, Baetens D, Orci L, Unger RH., "Lipotoxic heart disease in obese rats: Implications for human obesity.," *Proc Natl Acad Sci USA* , vol. 97, pp. 1784-1789, 2000.
 - [85] Finck BN, Lehman JJ, Leone TC, Welch MJ, Bennett MJ, Kovacs A, Han X, Gross RW, Kozak R, Lopaschuk GD, Kelly DP., "The cardiac phenotype induced by PPAR α overexpression mimics that caused by diabetes mellitus," *J Clin Invest* 2002, vol. 109, pp. 121-130, 2002.
 - [86] Papazyan R, Sun Z, Kim YH, Titchenell PM, Hill DA, Lu W, Damle M, Wan M, Zhang Y, Briggs ER, Rabinowitz JD, Lazar MA, "Physiological Suppression of Lipotoxic Liver Damage by Complementary Actions of

- HDAC3 and SCAP/SREBP.," *Cell Metab.*, vol. 24, no. 6, pp. 863-874, 2016 Dec.
- [87] Listenberger LL, Han X, Lewis SE, Cases S, Farese RV Jr, Ory DS, Schaffer JE., "Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity.," *Proc Natl Acad Sci U S A.* , vol. 100, no. 6, pp. 3077-82, 2003 Mar.
- [88] de Vries JE, Vork MM, Roemen TH, de Jong YF, Cleutjens JP, van der Vusse GJ, van Bilsen M., "Saturated but not monounsaturated fatty acids induce apoptotic cell death in neonatal rat ventricular myocytes," *J Lipid Res*, vol. 38, pp. 1384-1394, 1997.
- [89] Dyntar D, Eppenberger-Eberhardt M, Maedler K, Pruschy M, Eppenberger HM, Spinas GA, DonathMY., "Glucose and palmitic acid induce degeneration of myofibrils and modulate apoptosis in rat adult cardiomyocytes.," *Diabetes* , vol. 50, pp. 2105-2113, 2001.
- [90] Krown KA, Page MT, Nguyen C, Zechner D, Gutierrez V, Comstock KL, Glembotski CC, QuintanaPJ, Sabbadini RA., "Tumor necrosis factor α -induced apoptosis in cardiac myocytes. Involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death.," *J Clin Invest* , vol. 98, pp. 2854-2865, 1996.
- [91] Palanivel R, Fang X, Park M, Eguchi M, Pallan S, De Girolamo S, Liu Y, Wang Y, Xu A, Sweeney G., "Globular and full-length forms of adiponectin mediate specific changes in glucose and fatty acid uptake and metabolism in cardiomyocytes.," *Cardiovasc Res*, vol. 75, pp. 148-157, 2007.
- [92] Shibata R, Sato K, Kumada M, Izumiya Y, Sonoda M, Kihara S, Ouchi N, Walsh K., "Adiponectin accumulates in myocardial tissue that has been damaged by ischemia-reperfusion injury via leakage from the vascular compartment.," *Cardiovasc Res* , vol. 74, pp. 471-479, 2007.
- [93] Kojima S, Funahashi T, Otsuka F, Maruyoshi H, Yamashita T, Kajiwara I, Shimomura H, Miyao Y, Fujimoto K, Sugiyama S, Sakamoto T, Yoshimura M, Ogawa H., "Future adverse cardiac events can be predicted by persistently low plasma adiponectin concentrations in men and marked reductions of adiponectin in women after acute myocardial infarction.," *Atherosclerosis* , vol. 194, pp. 204-213, 2007.
- [94] Kadowaki T, Yamauchi T., "Adiponectin and adiponectin receptors.," *Endocr*

- Rev*, vol. 26, pp. 439-451, 2005.
- [95] Unger RH., "Hyperleptinemia: Protecting the heart from lipid overload.," *Hypertension* , vol. 45, pp. 1031-1034, 2005.
 - [96] Atkinson LL, Fischer MA, Lopaschuk GD., "Leptin activates cardiac fatty acid oxidation independent of changes in the AMP-activated protein kinase-acetyl-CoA carboxylase-malonyl-CoA axis.," *J BiolChem*, vol. 277, p. 29424–29430., 2002.
 - [97] Correia MLG, Kamal R., "Role of leptin in the cardiovascular and endocrine complications of metabolic syndrome.," *Diabetes Obes Metab*, vol. 8, pp. 603-610, 2006.
 - [98] Steinberg GR, Parolin ML, Heigenhauser GJF, Dyck DJ., "Leptin increases FA oxidation in lean but not obese human skeletal muscle: evidence of peripheral leptin resistance.," *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, vol. 283, pp. E187-192, 2002.
 - [99] Xu F-P, Chen M-S, Wang Y-Z, Yi Q, Lin S-B, Chen AF, Luo J-D., "Leptin induces hypertrophy via endothelin-1-reactive oxygen species pathway in cultured neonatal rat cardiomyocytes.," *Circulation*, vol. 110, pp. 1269-1275, 2004.
 - [100] Megumi E, Yuantao L, Eyun-Jung S, Gary S., "Leptin protects H9c2 rat cardiomyocytes from H₂O₂-induced apoptosis.," *FEBS Journal*, vol. 275, pp. 3136-3144, 2008.
 - [101] Harmancey R, Wilson CR, Taegtmeyer H., "Adaptation and maladaptation of the heart in obesity.," *Hypertension*, vol. 52, pp. 181-187, 2008.
 - [102] Szczepaniak LS, Dobbins RL, Metzger GJ, Sartoni-D'Ambrosia G, Arbique D, Vongpatanasin W, Unger R, Victor RG., "Myocardial triglycerides and systolic function in humans: In vivo evaluation by localized proton spectroscopy and cardiac imaging.," *Magn Reson Med*, vol. 49, pp. 417-423, 2003.
 - [103] Kankaanpää M, Lehto H-R, Pärkkä JP, Komu M, Viljanen A, Ferrannini E, Knuuti J, Nuutila P, Parkkola R, Iozzo P., "Myocardial triglyceride content and epicardial fat mass in human obesity: Relationship to left ventricular function and serum free fatty acid levels.," *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 91, pp. 4689-4695, 2006.

- [104] Rijzewijk LJ, van der Meer RW, Smit JWA, Diamant M, Bax JJ, Hammer S, Romijn JA, de Roos A, Lamb HJ., "Myocardial steatosis is an independent predictor of diastolic dysfunction in type 2 diabetes mellitus.," *J Am Coll Cardiol*, vol. 52, pp. 1793-1799, 2008.
- [105] Reingold JS, McGavock JM, Kaka S, Tillery T, Victor RG, Szczepaniak LS., "Determination of triglyceride in the human myocardium by magnetic resonance spectroscopy: reproducibility and sensitivity of the method.," *Am J Physiol Endocrinol Metab*, vol. 289, pp. E935-939, 2005.
- [106] Hammer S, van der Meer RW, Lamb HJ, Schar M, de Roos A, Smit JWA, Romijn JA., "Progressive caloric restriction induces dose-dependent changes in myocardial triglyceride content and diastolic function in healthy men.," *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 93, pp. 497-503, 2008.
- [107] van der Meer RW, Hammer S, Lamb HJ, Frolich M, Diamant M, Rijzewijk LJ, de Roos A, Romijn JA, Smit JWA., "Effects of short-term high-fat, high-energy diet on hepatic and myocardial triglyceride content in healthy men.," *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2702-2708., vol. 93, pp. 2702-2708, 2008.
- [108] Hammer S, van der Meer RW, Lamb HJ, de Boer HH, Bax JJ, de Roos A, Romijn JA, Smit JWA, "Short-term flexibility of myocardial triglycerides and diastolic function in patients with type 2 diabetes mellitus.," *Am J Physiol Endocrinol Metab* , vol. 295, pp. E714-718, 2008.
- [109] Hammer S, Snel M, Lamb HJ, Jazet IM, van der Meer RW, Pijl H, Meinders EA, Romijn JA, de Roos A, Smit JWA., "Prolonged caloric restriction in obese patients with type 2 diabetes mellitus decreases myocardial triglyceride content and improves myocardial function.," *J Am Coll Cardiol*, vol. 52, pp. 1006-1012, 2008.
- [110] van der Meer RW, Rijzewijk LJ, de Jong HWAM, Lamb HJ, Lubberink M, Romijn JA, Bax JJ, de Roos A, Kamp O, Paulus WJ, Heine RJ, Lammertsma AA, Smit JWA, Diamant M., "Pioglitazone improves cardiac function and alters myocardial substrate metabolism without affecting cardiac triglyceride accumulation and high-energy phosphate metabolism in patients with well-controlled type 2 diabetes mellitus.," *Circulation* , vol. 119, pp. 2069-2077, 2009.
- [111] Uretsky S, Messerli FH, Bangalore S, Champion A, Cooper-DeHoff RM, Zhou Q, Pepine CJ., "Obesity paradox in patients with hypertension and coronary

- artery disease.," *Am J Med*, vol. 120, pp. 863-870, 2007.
- [112] Okere IC, Chess DJ, McElfresh TA, Johnson J, Ernsberger JRP, Hoit BD, Chandler MP, Stanley WC., "High-fat diet prevents cardiac hypertrophy and improves contractile function in the hypertensive dahl salt-sensitive rat.," *Clin Exp Pharmacol Physiol*, vol. 32, pp. 825-831, 2005.
- [113] Stamler R, Ford CE, Stamler J., "Why do lean hypertensives have higher mortality rates than other hypertensives? Findings of the Hypertension Detection and Follow-up Program.," *Hypertension*, vol. 17, pp. 553-564, 1991.
- [114] Guo D, Reinitz F, Youssef M, Hong C, Nathanson D, Akhavan D, Kuga D, Amzajerdi AN, Soto H, Zhu S, et al., "An LXR agonist promotes glioblastoma cell death through inhibition of an EGFR/AKT/SREBP-1/LDLR-dependent pathway.," *Cancer Discov.*, vol. 1, pp. 442-456, 2011.
- [115] Freed-Pastor WA, Mizuno H, Zhao X, Langerød A, Moon SH, Rodriguez-Barrueco R, Barsotti A, Chicas A, Li W, Polotskaia A, et al., "Mutant p53 disrupts mammary tissue architecture via the mevalonate pathway.," *Cell.*, vol. 148, pp. 244-258, 2012.
- [116] Im SS, Osborne TF., "Protection from bacterial-toxin-induced apoptosis in macrophages requires the lipogenic transcription factor sterol regulatory element binding protein 1a.," *Mol Cell Biol.*, vol. 32, pp. 2196-2202, 2012.
- [117] Im SS, Yousef L, Blaschitz C, Liu JZ, Edwards RA, Young SG, Raffatellu M, Osborne TF., "Linking lipid metabolism to the innate immune response in macrophages through Sterol Regulatory Element Binding Protein-1a.," *Cell Metab.* , vol. 13, pp. 540-549, 2011.
- [118] Taghibiglou C, Martin HGS, Lai TW, Cho T, Prasad S, Kojic L, Lu J, Liu Y, Lo E, Zhang S, et al., "Role of NMDA receptor-dependent activation of SREBP1 in excitotoxic and ischemic neuronal injuries.," *Nat Med.*, vol. 15, pp. 1399-1406, 2009.
- [119] Takano H, Hasegawa H, Nagai T, Komuro I., "Implication of cardiac remodeling in heart failure: mechanisms and therapeutic strategies.," *Intern Med.*, vol. 9, pp. 465-9, 2003 .
- [120] Sunagawa K, Maughan WL, Sagawa K., "Optimal arterial resistance for the maximal stroke work studied in isolated canine left ventricle.," *Circ Res.* , vol.

- 56, no. 4, pp. 586-95, 1985 Apr.
- [121] Sagawa K, Suga H, Shoukas AA, Bakalar KM., "End-systolic pressure/volume ratio: a new index of ventricular contractility.," *Am J Cardiol.*, vol. 40, no. 5, pp. 748-53, 1977.
- [122] Меерсон Ф.З., "Адаптация сердца к большой физнагрузке и сердечная недостаточность.," *М.*, p. 264, 1975.
- [123] Peng XE, Chen FL, Liu W, Hu Z, Lin X., "Lack of association between SREBF-1c gene polymorphisms and risk of non-alcoholic fatty liver disease in a Chinese Han population.," *Sci Rep.* , vol. 6, p. 32110, 2016 Aug.
- [124] Liu JX, Liu J, Guo Q, Liu J., "Association of sterol regulatory element binding protein-1c genetic polymorphisms rs2297508 and rs11868035 with type 2 diabetes mellitus in Gansu Han and Dongxiang population [Article in Chinese],," *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* , vol. 29, no. 3, pp. 328-3, 2012.
- [125] Grarup N, Stender-Petersen KL, Andersson EA, Jørgensen T, Borch-Johnsen K, Sandbaek A, Lauritzen T, Schmitz O, Hansen T, Pedersen, "Association of variants in the sterol regulatory element-binding factor 1 (SREBF1) gene with type 2 diabetes, glycemia, and insulin resistance: a study of 15,734 Danish subjects.," *Diabetes*, vol. 57, no. 4, pp. 1136-42, 2008.
- [126] Felder TK, Oberkofler H, Weitgasser R, Mackevics V, Krempler F, Paulweber B, Patsch W., "The SREBF-1 locus is associated with type 2 diabetes and plasma adiponectin levels in a middle-aged Austrian population.," *Int J Obes (Lond).*, vol. 31, no. 7, pp. 1099-103, 2007 Jul.
- [127] Liu JX, Liu J, Li PQ, Xie XD, Guo Q, Tian LM, Ma XQ, Zhang JP, Liu J, Gao JY., "Association of sterol regulatory element-binding protein-1c gene polymorphism with type 2 diabetes mellitus, insulin resistance and blood lipid levels in Chinese population.," *Diabetes Res Clin Pract.*, vol. 82, no. 1, pp. 42-7, 2008.
- [128] Fisher E, Schreiber S, Joost HG, Boeing H, Döring F., "A two-step association study identifies CAV2 rs2270188 single nucleotide polymorphism interaction with fat intake in type 2 diabetes risk.," *J Nutr.*, vol. 141, no. 2, pp. 177-81, 2011 Feb.

- [129] Zhang Z, Gong RR, Du J, Xiao LY, Duan W, Zhou XD, Fang DZ., "Associations of the SREBP-1c gene polymorphism with gender-specific changes in serum lipids induced by a high-carbohydrate diet in healthy Chinese youth.," *Appl Physiol Nutr Metab.* , vol. 36, no. 2, pp. 226-32, 2011.
- [130] Yang YD, Song JY, Wang S, Liu FH, Zhang YN, Shang XR, Wang HJ, Ma J., "Genetic variations in sterol regulatory element binding protein cleavage-activating protein (SCAP) are associated with blood pressure in overweight/obese Chinese children.," *PLoS One.* , vol. 12, no. 5, p. e0177973, 2017 May.
- [131] Trippodo NC, Frohlich ED., "Similarities of genetic (spontaneous) hypertension: man and rat.," *Circ Res* , vol. 48, pp. 309-19, 1981.
- [132] Mann JF, Phillips MI, Dietz R, Haebara H, Ganten D., "Effects of central and peripheral angiotensin blockade in hypertensive rats.," *Am J Physiol* , vol. 234, pp. H629-37, 1978.
- [133] DePasquale MJ, Fossa AA, Holt WF, Mangiapane ML., "Central DuP 753 does not lower blood pressure in spontaneously hypertensive rats.," *Hypertension*, vol. 19, pp. 668-71, 1992.
- [134] Дорофеева Н.О., Гошовська Ю.В., Сагач В.Ф., "Мембранний потенціал мітохондрій серця і швидкість споживання кисню у щурів із генетично детермінованою артеріальною гіпертензією," *Фізіологічний журнал*, vol. 57, no. 3, pp. 3-9, 2011.
- [135] Qiu Z, Zhang W, Fan F, Li H, Wu C, Ye Y, Du Q, Li Z, Hu X, Zhao G, Sun A, Bao Z, Ge J., "Rosuvastatin-attenuated heart failure in aged spontaneously hypertensive rats via PKC α / β 2 signal pathway.," *J Cell Mol Med.* , vol. 16, no. 12, pp. 3052-61, 2012 Dec.
- [136] Castillo RL, Herrera EA, Gonzalez-Candia A, Reyes-Farias M, de la Jara N, Peña JP, Carrasco-Pozo C., "Quercetin Prevents Diastolic Dysfunction Induced by a High-Cholesterol Diet: Role of Oxidative Stress and Bioenergetics in Hyperglycemic Rats.," *Oxid Med Cell Longev.*, vol. 2018, p. 14, 2018 Jan 11.
- [137] Хромов О. С., Добреля Н. В., "Експериментальне обґрунтування застосування фосфатидилхолінових ліпосом як нового гіпотензивного засобу," *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія.*, vol. 1, no. 16, pp. 197-203, 2008.

- [138] Соловйов А.І., Тишкін С.М., Хромов О.С., Стефанов О.В., "Скорочувальна функція судин при артеріальній гіпертензії різного генезу та її корекція за допомогою фосфатидилхолінових ліпосом," *Фізіол. журн.*, vol. 48, no. 6, pp. 11-18, 2002.
- [139] Watanabe S, Kumazaki S, Kusunoki K, Inoue T, Maeda Y, Usui S, Shinohata R, Ohtsuki T, Hirohata S, Kusachi S, Kitamori K, Mori M, Yamori Y, Oka H., "A High-Fat and High-Cholesterol Diet Induces Cardiac Fibrosis, Vascular Endothelial, and Left Ventricular Diastolic Dysfunction in SHRSP5/Dmcr Rats.," *J Atheroscler Thromb.*, vol. 25, no. 5, pp. 439-453, 2018 May.
- [140] Колесник М.Ю., "Морфологические изменения кардиомиоцитов при развитии митохондриальной дисфункции у спонтанно гипертензивных крыс на фоне экспериментального сахарного диабета," *Морфология*, vol. 7, no. 1, pp. 44-48, 2013.
- [141] Колесник Ю.М., Колесник М.Ю., Абрамов А.В., "Маркери ремоделювання міокарда щурів при артеріальній гіпертензії та експериментальному цукровому діабеті: роль мітохондріальної дисфункції," *Фізіол. журн.*, vol. 60, pp. 18-26, 2014.
- [142] Лапікова-Бригінська Т.Ю, Гончаров С.В., Портніченко Г.В., Тумановська Л.В., Портніченко А.Г., Досенко В.Є., Мойбенко О.О., "Вікові зміни структури і функції серця у спонтанно гіпертензивних щурів," *Вісник морфології*, vol. 20, no. 2, pp. 383-388, 2014.
- [143] Cao J, Inoue K, Sodhi K, Puri N, Peterson SJ, Rezzani R, Abraham NG., "High-fat diet exacerbates renal dysfunction in SHR: reversal by induction of HO-1-adiponectin axis.," *Obesity (SilverSpring)*, vol. 20, no. 5, pp. 945-53, 2012 May.
- [144] Гончаров С.В., Портніченко Г.В., Тумановська Л.В., Пашевін Д.О., Кузьменко М.О., Мойбенко О.О., Досенко В.Є., "Вплив кверцетину на протеасомну активність в аорті та серці щурів зі спонтанною гіпертензією," *Фізіол. журн.*, vol. 60, no. 3, pp. 3-10, 2014.
- [145] Zhou JM, Wang HM, Lv YZ, Wang ZZ1, Xiao W, "Anti-atherosclerotic effect of Longxuetongluo Capsule in high cholesterol diet induced atherosclerosis model rats.," *Biomed Pharmac other.*, vol. 97, pp. 793-801, 2018.
- [146] SavitskiyIV, Sliusar AA, MiastkovskajaIV., "Multifactorial modeling of

- atherosclerosis in rats.," *JEducHealthSport* , vol. 6, no. 3, pp. 233-40, 2016.
- [147] Gabriels K, Hoving S, Seemann I, Visser NL, Gijbels MJ, Pol JF, et al., "Local heart irradiation of ApoE(-/-) mice induces microvascular and endocardial damage and accelerates coronary atherosclerosis.," *Radiother Oncol.* , vol. 105, no. 3, pp. 358-64, 2012 Dec.
- [148] Турчина Н.С., Савосько С.І., "Дослідження початкових етапів атерогенезу на тлі жирової дієти," *Фізіол. журн.*, vol. 64, no. 2, pp. 54-64, 2018.
- [149] Côté I, Ngo Sock ET, Lévy É, Lavoie JM., "An atherogenic diet decreases liver FXR gene expression and causes severe hepatic steatosis and hepatic cholesterol accumulation: effect of endurance training.," *Eur J Nutr*, vol. 52, no. 5, pp. 1523-32, 2013 Aug.
- [150] Janssen CI, Jansen D, Mutsaers MP, Dederen PJ, Geenen B, Mulder MT, et al., "The effect of a high-fat diet on brain plasticity, inflammation and cognition in female ApoE4 knockin and ApoE-knockout mice.," *PLoSOne.*, vol. 11, no. 5, p. e0155307, 2016 May.
- [151] Matsuzawa N, Takamura T, Kurita S, Misu H, Ota T, Ando H, et al., "Lipid-induced oxidative stress causes steatohepatitis in mice fed an atherogenic diet.," *Hepatology.* , vol. 46, no. 5, pp. 1392-403, 2007.
- [152] Bilici K, Morgan SW, Silverstein MC, Wang Y, Sun HJ, Zhang Y, Boutis GS, "Mechanical, structural, and dynamical modifications of cholesterol exposed porcine aortic elastin.," *Biophys Chem.*, vol. 218, pp. 47-57, 2016 Nov.
- [153] Choudhury KN, Mainuddin AK, Wahiduzzaman M, Islam SM., "Serum lipid profile and its association with hypertension in Bangladesh.," *Vasc Health Risk Manag.*, vol. 10, pp. 327-32, 2014 Jun 30.
- [154] Portnichenko AG, Lapikova-Briginskaia TIu, Vasilenko MI, Portnichenko GV, Maslov LN, Moïbenko AA., "The expression of Akt kinase in the heart ventricles under hypoxic preconditioning and myocardial remodeling [Article in Russian],," *Fiziol Zh.* , vol. 59, no. 6, pp. 124-31, 2013.
- [155] Портніченко Г.В., Портніченко В.І., Бічекуєва Ф.Х., Бакуновський О.М., Василенко М.І., Портніченко А.Г., "Зміни ліпідного обміну та експресії регуляторних білків в умовах середньогір'я," *Здобутки клінічної і експериментальної медицини.*, no. 2, pp. 101-103, 2011.

- [156] Avalos-Soriano A, De la Cruz-Cordero R, Rosado JL, Garcia-Gasca T, "4-Hydroxyisoleucine from Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): Effects on Insulin Resistance Associated with Obesity.," *Molecules.* ;(), vol. 21, no. 11, p. 1596, 2016 Nov.