

## **АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ МІОКАРДА ЩУРІВ З РІЗНОЮ ВРОДЖЕНОЮ СТІЙКІСТЮ ДО ГІПОКСІЇ НА ЕТАПАХ РОЗВИТКУ ДИФУЗНОГО ІШЕМІЧНО-НЕКРОТИЧНОГО КАРДІОСКЛЕРОЗУ**

**ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет**

**імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (м. Тернопіль)**

Робота є фрагментом фундаментальної міжкафедральної теми ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» «Патогенетичні закономірності та інформаційні моделі розвитку патологічних процесів за умов дії надзвичайних факторів на організм та їх корекція», № держ. реєстрації 0113U001239.

**Вступ.** За останні роки особливе занепокоєння викликає зростання показників захворюваності, інвалідизації і смертності від серцево-судинної патології, яке спостерігається, незважаючи на широкомасштабні заходи багатьох країн світу щодо покращення лікування, а також первинної та вторинної профілактики серцевої патології. Позитивні зміни спостерігаються тільки у високорозвинених країнах, у той час, як у країнах з низьким та середнім економічним розвитком зберігається тенденція подальшого зростання захворюваності та смертності від серцево-судинної патології [7].

В умовах значної урбанізації, зростання рівня соціальних проблем, життя сучасної людини постійно супроводжується дією гострого та хронічного стресу. Це призводить до гіперкатехоламінемії, порушення кальцієвого гомеостазу, активації процесів пероксидного окиснення ліпідів, що здатні викликати у тканині міокарда типовий ланцюжок патологічних змін, які неухильно ведуть до розвитку фіброзу міокарда [6, 9, 10].

Активність кардіосклеротичного процесу визначається можливістю своєчасної та адекватної реакції системи антиоксидантного захисту (АОЗ), зміненої внутрішньо- та міжклітинної взаємодії, імунної реактивності, змінами метаболізму, які можуть бути наділені різними специфічними рисами, залежно від індивідуальної реактивності організму, та, зокрема, від резистентності до гіпоксії [3, 8]. Саме тому особливій увазі заслуговує вивчення стану антиоксидантної системи (АОС), від адекватної реакції якої залежить інтенсивність розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу (ДІНКС).

Наші попередні дослідження доводять, що виражений вплив на перебіг даного патологічного процесу має індивідуальна реактивність та резистентність організму [3]. Значний інтерес для науковців в даному контексті представляє індивідуальна резистентність організму до гіпоксії, адже саме ішемічно-гіпоксичні впливи займають провідну ланку у патогенезі ДІНКС [3, 8, 10, 11].

**Мета дослідження** – вивчити особливості антиоксидантного захисту на етапах розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу у щурів залежно від їх вродженої стійкості до гіпоксії.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експерименти проведено на 192 статевозрілих білих нелінійних щурах-самцях масою 190-250 г із дотриманням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в дослідних та інших наукових цілях. Відповідно до мети і завдань дослідження, тварин попередньо поділили на експериментальні групи, залежно від їх стійкості до гіпоксії: низькостійкі (НГТ), середньостійкі (СГТ) та високостійкі до гіпоксії тварини (ВГТ) [3]. Усім тваринам основних дослідних груп моделювали ДІНКС за методикою, в основу якої покладено відтворення токсичного ефекту на міокард гіперкатехоламінемії та гіперкальціємії [2, 11], з подальшим розвитком кардіосклеротичних змін [4].

Для кількісної оцінки стану АОЗ міокарда визначали активність супероксиддисмутази (СОД) та каталази (КАТ) [1, 5] на різних етапах кардіосклеротичного процесу: через 7, 14 та 30 діб. Евтаназію тварин здійснювали шляхом кровопускання під загальною анестезією за допомогою внутрішньоперитонеального введення натрію тіопенталу (50 мг/кг).

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» в програмному пакеті Statsoft STATISTICA з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих даних.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Визначення активності СОД та КАТ у гомогенаті тканини міокарда щурів із різною вродженою стійкістю до гіпоксії показало, що у тварин контрольних груп з низькою та високою стійкістю до гіпоксії не виявлено статистично значимих відмінностей від показників середньостійких до гіпоксії тварин, що свідчить про відсутність відмінностей в антиоксидантному захисті міокарда здорових тварин залежно від їх стійкості до гіпоксії.

Проте такі відмінності проявилися в умовах патології. Зокрема, моделювання ДІНКС зумовило достовірно значимі зміни активності супероксиддисмутази

Таблиця

## Зміни показників антиоксидантного захисту в тканині міокарда при розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу у щурів з різною вродженою стійкістю до гіпоксії ( $M \pm m$ )

Стійкість тварин до гіпоксії	Контрольні групи тварин (n=8)	Термін розвитку ДІНКС		
		ДІНКС 7 діб (n=8)	ДІНКС 14 діб (n=8)	ДІНКС 30 діб (n=8)
СОД, ум. од. /мг				
Низька	0,216±0,015	0,076±0,013 p<0,001 p* <sup>+</sup> <0,001	0,068±0,009 p<0,001 p* <sup>+</sup> <0,001	0,064±0,010 p<0,001 p* <sup>+</sup> <0,001
Середня	0,246±0,012	0,165±0,017 p<0,002	0,152±0,017 p<0,001	0,143±0,013 p<0,001
Висока	0,273±0,015	0,195±0,014 p<0,002	0,233±0,012 p* <sup>+</sup> <0,002	0,231±0,016 p* <sup>+</sup> <0,001
Каталаза, мкат/кг				
Низька	635,9±20,2	345,3±15,1 p<0,001 p* <sup>+</sup> <0,001	323,5±14,3 p<0,001 p* <sup>+</sup> <0,001	315,3±15,6 p<0,001 p* <sup>+</sup> <0,001
Середня	647,4±14,5	473,5±13,0 p<0,001	467,2±15,0 p<0,001	453,8±16,7 p<0,001
Висока	659,7±16,5	526,4±21,3 p<0,001	563,5±13,6 p<0,001 p* <sup>+</sup> <0,001	572,3±15,6 p<0,002 p* <sup>+</sup> <0,001

**Примітка:** ДІНКС – дифузний ішемічно-некротичний кардіосклероз; p – достовірність відмінностей стосовно відповідної контрольної групи; p\* – достовірність відмінностей між групами тварин з низькою і високою стійкістю до гіпоксії відносно групи середньостійких тварин.

та каталази на усіх етапах спостереження. Найбільш виражено активність СОД зменшилася при моделюванні ДІНКС у групі тварин з низькою стійкістю до гіпоксії (табл.) і вже на етапі спостереження 7 дб ДІНКС була у 2,8 раза меншою, ніж у контрольних тварин. До наступних етапів спостереження – 14 і 30 дб ДІНКС продовжувалася тенденція зменшення показника і активність СОД була меншою у 3,2 раза через 14 дб ДІНКС і в 3,4 раза через 30 дб ДІНКС.

Менш інтенсивними були зміни активності основного фермента АОЗ міокарда у тварин із середньою стійкістю до гіпоксії: на етапі спостереження 7 дб ДІНКС активність СОД була в 1,5 раза меншою, ніж у контрольних тварин з середньою стійкістю до гіпоксії. Через 14 дб ДІНКС активність СОД була в 1,6 раза меншою, ніж у контрольних тварин і в 1,7 раза меншою – через 30 дб після моделювання ДІНКС.

Реакція АОЗ міокарда у тварин із високою стійкістю до гіпоксії при моделюванні ДІНКС також дещо

ослабла, адже на етапі ініціації кардіосклеротичних змін активність СОД була в 1,4 раза меншою, ніж у контрольних тварин з високою стійкістю до гіпоксії. Цікавими виявилися результати подальшого спостереження, адже до наступних етапів розвитку патології активність СОД майже відновилася і через 14 і 30 дб ДІНКС достовірно не відрізнялася від показника контрольних тварин.

Результати аналізу змін активності СОД у високостійких та низькостійких до гіпоксії тварин стосовно тварин із середньою стійкістю до гіпоксії у різні терміни розвитку кардіосклеротичного процесу показали, що через 7 дб з моменту моделювання ДІНКС показник у низькостійких до гіпоксії тварин був меншим у 2,2 раза і така відмінність зберігалася впродовж усього терміну спостереження. Високостійкі до гіпоксії тварини на етапі 7 дб ДІНКС достовірно не відрізнялися від тварин із середньою стійкістю до гіпоксії за даним показником, але на наступних етапах спостереження проявилися певні відмінності: через 14 дб ДІНКС активність СОД була в 1,5 раза меншою, а через 30 дб ДІНКС – відповідно у 1,6 раза меншою, ніж у середньостійких до гіпоксії тварин.

У функціонуванні ферментної ланки АОС ключовим ферментом є СОД, яка каталізує реакцію знешкодження двох молекул супероксиданіону, перетворюючи одну з них у молекулярний кисень, а іншу – в пероксид гідрогену (менш сильний окиснювач, ніж супероксиданіон). Тому для повноцінного захисту міокарда СОД працює в парі з КАТ, яка нейтралізує пероксид гідрогену.

Наші дослідження показали, що відмінностей в активності КАТ у контрольних тварин залежно від

стійкості тварин до гіпоксії немає. Проте в умовах розвитку патології АОЗ міокарда спрацьовує неоднаково ефективно, що, очевидно не може не позначитися на кінцевому результаті – пошкодженні біомембран кардіоміоцитів, загибеллю клітин з наступним кардіосклерозуванням.

На етапі спостереження 7 дб ДІНКС активність КАТ у групі тварин з низькою стійкістю до гіпоксії була в 1,8 раза меншою, ніж у контрольних тварин. До наступних етапів спостереження – 14 і 30 дб ДІНКС ця тенденція зменшення показника продовжувалася і активність КАТ була меншою у 2,0 раза через 14 дб ДІНКС і утримувалася на такому ж рівні до етапу спостереження 30 дб ДІНКС.

У тварин із середньою стійкістю до гіпоксії: на етапі спостереження 7 дб ДІНКС активність КАТ була в 1,4 раза меншою, ніж у контрольних тварин з середньою стійкістю до гіпоксії. Через 14 та 30 дб ДІНКС активність СОД була на тому ж рівні, що відрізняло її від показника контрольних тварин в 1,4 раза.

Через 7 дб після моделювання ДІНКС, на етапі ініціації кардіосклеротичних змін, активність КАТ у високостійких до гіпоксії тварин була в 1,3 раза меншою, ніж у контрольних тварин з високою стійкістю до гіпоксії. Подальше спостереження показало, що через 14 і 30 дб ДІНКС активність КАТ утримувалася майже на одному рівні і була достовірно меншою від показника контрольних тварин з високою стійкістю до гіпоксії лише у 1,2 раза.

Аналіз змін активності КАТ у міокарді тварин, залежно від їх стійкості до гіпоксії у різні терміни розвитку кардіосклеротичного процесу показав, що через 7 дб з моменту моделювання ДІНКС показник

у низькостійких до гіпоксії тварин був меншим у 1,4 раза і така ж відмінність зафіксована через 14 і 30 діб ДІНКС.

Високостійкі до гіпоксії тварини на етапі 7 діб ДІНКС достовірно не відрізнялися від тварин із середньою стійкістю до гіпоксії за даним показником, але на наступних етапах спостереження проявилися певні відмінності: через 14 діб ДІНКС активність КАТ була більшою у 1,2 раза, а через 30 діб ДІНКС – відповідно у 1,3 раза більшою ніж у міокарді середньостійких до гіпоксії тварин. Вища активність СОД і КАТ у тварин з високою стійкістю до гіпоксії забезпечує кращий захист міокарда від руйнівного впливу вільних радикалів і гідроперекисів ліпідів.

Процеси утворення продуктів ліпопероксидації у життєдіяльності організму відіграють дуже важливу роль оновлення біомембран, але в умовах розвитку патології, утворюючись в надмірній кількості, або при нездатності системи АОЗ їх своєчасно знешкодити, вони стають небезпечними для клітин і здатні навіть призвести до їх загибелі. В умовах моделювання ДІНКС, дослідження активності АОС дозволяє зробити висновки про знижену функціональну здатність цієї системи захистити тканину міокарда від нагромадження пероксидних метаболітів, що стає ланкою

у патогенезі кардіосклеротичного процесу і в подальшому підтримує прогресування фіброзу міокарда.

## Висновки.

1. Ступінь пригнічення функціонування системи антиоксидантного захисту міокарда при моделюванні кардіосклеротичного процесу залежить від індивідуально-типологічних властивостей організму, зокрема, від стійкості до гіпоксії. У низькостійких до гіпоксії тварин спостерігаються найглибші порушення в системі антиоксидантного захисту міокарда в умовах розвитку патології, а у високостійких – найменш виражені порушення АОЗ міокарда.

2. До 7 доби експерименту настає різке пригнічення антиоксидантного захисту міокарда, з подальшим зменшенням активності ферментів антиоксидантної системи у тварин з низькою і середньою стійкістю до гіпоксії, а у високостійких до гіпоксії тварин після 14 діб ДІНКС спостерігається тенденція до відновлення активності цієї системи.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому планується визначити особливості цитокінового профілю та імунної відповіді на різних етапах розвитку ДІНКС залежно від стійкості тварин до гіпоксії.

## Література

1. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
2. Пат. 66297 Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання дифузного кардіосклерозу / М. Р. Хара, Я. Я. Боднар, Г. С. Сатурська, В. Є. Пелих; заявник і патентовласник Терноп. держ. мед. університет ім. І. Я. Горбачевського. – № у 2011 08088; заявл. 29. 06. 11; опубл. 26. 12. 11, Бюл. № 24.
3. Сатурська Г. С. Особливості метаболізму сполучної тканини при експериментальному дифузному ішемічно-некротичному кардіосклерозі у щурів із різною стійкістю до гіпоксії / Г. С. Сатурська, Ю. І. Бондаренко // Вісник ВНМУ. – 2014. – Т. 18, № 2. – С. 425 – 429.
4. Сатурська Г. С. Порівняльний аналіз різних експериментальних моделей кардіосклерозу з розвитком серцевої недостатності / Г. С. Сатурська // Здобутки клініч. та експер. мед. – 2012. – Т. 17, № 2. – С. 127 – 132.
5. Чевари С. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чабба, И. Сокей // Лабораторное дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
6. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease / D. Fan, A. Takawale, J. Lee [et al.] // Fibrogenesis Tissue Repair. – 2012. – Vol. 5, № 1. – P. 15.
7. Cardiovascular Risk and Events in 17 Low-, Middle-, and High-Income Countries / S. Yusuf, S. Rangarajan, K. Teo [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2014. – Vol. 371, № 1. – P. 818 – 827.
8. HIF-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  induce angiogenesis and improve muscle energy recovery / H. Niemi, K. Honkonen, P. Korpisalo [et al.] // Eur. J. Clin. Invest. – 2014. – Vol. 44, № 10. – P. 989 – 999.
9. Krenning G The origin of fibroblasts and mechanism of cardiac fibrosis / G. Krenning, E. M. Zeisberg, R. Kalluri // J. Cell Physiol. – 2010. – Vol. 225, № 3. – P. 631– 637.
10. Preventive effects of nutritional doses of polyphenolic molecules on cardiac fibrosis associated with metabolic syndrome: involvement of osteopontin and oxidative stress / T. Sutra, C. Oiry, J. Azay-Milhau [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2008. – Vol. 56, № 24. – P. 11683 – 11687.
11. Toxic cardiac effects of catecholamines: role of beta-adrenoceptor downregulation / F. Brouri, L. Findji, O. Mediani [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2002. – Vol. 456, № 1-3. – P. 69-75.

УДК 616. 12-004-02:616. 152. 21-06:612. 015. 11]-092. 9

## АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ МІОКАРДА ЩУРІВ З РІЗНОЮ ВРОДЖЕНОЮ СТІЙКІСТЮ ДО ГІПОКСІЇ НА ЕТАПАХ РОЗВИТКУ ДИФУЗНОГО ІШЕМІЧНО-НЕКРОТИЧНОГО КАРДІОСКЛЕРОЗУ

Сатурська Г. С., Бондаренко Ю. І., Чарнош С. М.

**Резюме.** В експериментах на щурах встановлено, що ступінь пригнічення ферментної ланки АОС в умовах кардіосклеротичного процесу залежить від індивідуально-типологічних властивостей організму, зокрема, від вродженої резистентності до гіпоксії. У низькостійких до гіпоксії тварин спостерігаються найглибші порушення в системі антиоксидантного захисту міокарда в умовах розвитку патології, а у високостійких – найменш виражені порушення. До 7 доби експерименту настає різке пригнічення антиоксидантного захисту міокарда, з подальшим зменшенням активності ферментів антиоксидантної системи у тварин з низькою і середньою стійкістю до гіпоксії, а у високостійких до гіпоксії тварин після 14 діб модельованої патології спостерігається тенденція до відновлення активності цієї системи.

**Ключові слова:** гіпоксія, серце, антиоксидантна система, дифузний кардіосклероз.

**УДК 616. 12-004-02:616. 152. 21-06:612. 015. 11]-092. 9**

**АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА МИОКАРДА У КРЫС С РАЗНОЙ ВРОЖДЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ НА ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ ДИФFUЗНОГО ИШЕМИЧЕСКИ-НЕКРОТИЧЕСКОГО КАРДИОСКЛЕРОЗА**

**Сатурская А. С., Бондаренко Ю. И., Чарнош С. М.**

**Резюме.** В экспериментах на крысах установлено, что степень угнетения ферментного звена АОС в условиях кардиосклеротического процесса зависит от индивидуально-типологических свойств организма, в частности, от врожденной резистентности к гипоксии. У низкоустойчивых к гипоксии животных наблюдаются глубокие нарушения в системе антиоксидантной защиты миокарда в условиях развития патологии, а у высокоустойчивых – наименее выраженные нарушения. До 7 суток эксперимента наступает резкое угнетение антиоксидантной защиты миокарда, с последующим уменьшением активности ферментов антиоксидантной системы у животных с низкой и средней устойчивостью к гипоксии, а у высокоустойчивых к гипоксии животных после 14 суток моделированной патологии наблюдается тенденция к восстановлению активности этой системы.

**Ключевые слова:** гипоксия, сердце, антиоксидантная система, диффузный кардиосклероз.

**UDC 616. 12-004-02:616. 152. 21-06:612. 015. 11]-092. 9**

**Antioxidant Protection of Myocardium in Rats with Different Congenital Resistance to Hypoxia in the Development Phase of Diffuse Ischemic Necrotic Cardiosclerosis**

**Saturska H. S., Bondarenko Yu. I., Charnosh S. M.**

**Abstract.** Increasing concentration of catecholamine at the acute and chronic stress, disorders of calcium homeostasis, activation of lipid peroxidation can cause typical chain of pathological changes that steadily lead to the development of fibrosis of the myocardium. Individual reactivity, which is able to make significant adjustments in the course of the disease process, is very important to be considered.

Resistance of animals to hypoxia in this context is of considerable interest to scientists because myocardial hypoxia occupies a central link in the pathogenesis of diffuse ischemic necrotic cardiosclerosis. Despite numerous scientific data about the functioning of antioxidative system in case of ischemic heart disease, the peculiarities of fibrosis myocardium pathogenesis remains unclear. Therefore, the aim of the study was to investigate the peculiarities of functioning of the antioxidative system in the development phase of diffuse ischemic necrotic cardiosclerosis in rats with different congenital resistance to hypoxia.

In experiments on rats it has been established that the degree of antioxidant enzyme inhibition depends on individual typological properties of the organism, in particular, on innate resistance to hypoxia.

The experiments were done on 192 laboratory white rats (190-250 g). The experimental animals were divided into 3 groups according to their different resistance to hypoxia. We used the model of experimental diffuse ischemic necrotic cardiosclerosis which included adrenaline and calcium mechanisms of necrosis of cardiomyocytes in rats with different resistance to hypoxia. The research was based on the changes of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase) concentration in heart tissue 7, 14 and 30 days after modeling of the pathology. Statistic research was done in the Statistics Department of SHEI «I. Y. Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Public Health of Ukraine».

Experimentally it was proved that animals of control groups with low and high resistance to hypoxia have no statistically significant differences in antioxidant indexes from animals of control group with medium resistance to hypoxia. However during the development of diffuse ischemic necrotic cardiosclerosis (DINC) concentration of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase) decreased.

The most significant changes took place at the early period of myocardium fibrosis. Superoxide dismutase activity decreased in the group of animals with low resistance to hypoxia 2.8 times at the observation stage after 7 days of DINC. Up to the next observation stage – 14 and 30 days of DINC – the trend continued and superoxide dismutase activity was reduced 3.2 times at 14 days of DINC and 3.4 times at 30 days of DINC. In groups of animals with medium and high resistance to hypoxia superoxide dismutase activity decreased less intensively: 1.5 times in animals with medium resistance to hypoxia and 1.4 times in animals with high resistance to hypoxia at the observation stage of 7 days of DINC. However superoxide dismutase activity has no statistically significant difference in animals with high resistance to hypoxia up to the next observation stage – 14 and 30 days of DINC.

This result makes it possible to assume that the most pronounced decrease of concentration of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase) is observed in animals with low resistance to hypoxia, slightly less – in animals with medium resistance to hypoxia, and the lowest – in animals with high resistance to hypoxia. This pattern was observed at all stages of observation, but it was most expressed in the early period of cardiosclerotic process.

**Key words:** hypoxia, heart, antioxidant system, diffuse cardiosclerosis.

**Рецензент – проф. Костенко В. О.**

**Стаття надійшла 16. 09. 2014 р.**