

ЗАСТОСУВАННЯ ЕНДОГЕННОЇ КАРДІОПРОТЕКЦІЇ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ДИФУЗНОМУ КАРДІОСКЛЕРОЗІ В ЩУРІВ З РІЗНОЮ РЕЗИСТЕНТНІСТЮ ДО ГІПОКСІЇ

Досліджено вплив раннього застосування триметазидину на зміни концентрації імуноглобулінів М, G, A в сироватці крові щурів з різною уродженою стійкістю до гіпоксії на етапах 7, 14 і 30 днів розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу. Досліджувані показники порівнювали на кожному етапі спостереження між групами лікованих та нелікованих тварин. Отримані результати проаналізовано з використанням найновіших досягнень у даній галузі. Зроблено висновок про доцільність раннього використання триметазидину при розвитку фіброзу міокарда.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпоксія, дифузний кардіосклероз, триметазидин, імуноглобуліни М, G, A.

ВСТУП. Нещодавно проведені широкомасштабні дослідження вчених із виявлення причин і факторів ризику серцевої патології свідчать про відсутність позитивної динаміки в країнах світу із середнім та низьким рівнями економічного і соціального розвитку за показниками захворюваності та смертності від серцево-судинної патології [9]. Разом з тим, покращення даних показників у країнах із високим рівнем економічного і соціального розвитку [9], в основному за рахунок ефективного застосування засобів первинної і вторинної профілактики, а також розробок і впровадження нових ефективних методик лікування цієї патології, вказує на актуальність проведення наукових досліджень у даному напрямку.

Ендогенна кардіопротекція за допомогою препарату метаболічної дії "Триметазидин" становить значний інтерес для науковців кардіологічного спрямування [12, 14] та інших галузей медицини [15], незважаючи на дані J. L. Winter та ін. (2014) про відсутність позитивного ефекту від застосування триметазидину в пацієнтів із серцевою недостатністю неішемічного генезу, отримані в ході рандомізованого дослідження [11].

У попередніх дослідженнях ми аналізували деякі механізми впливу ендогенної кардіопротекції триметазидином на активність кардіосклеротичного процесу залежно від індивідуальної резистентності організму до гіпоксії [6, 7], тоді як особливості змін імунних реакцій залишаються недостатньо вивченими.

© Г. С. Сатурська, 2015.

Вагомою ланкою у патогенезі кардіосклеротичного процесу є імунна регуляція відповіді на первинне і вторинне пошкодження кардіоміоцитів, адже відомо, що при дифузному кардіосклеротичному процесі спостерігаються запальні зміни, від активності яких значною мірою залежить активність фіброзу [13].

Метою даного дослідження було вивчити та проаналізувати процеси синтезу імуноглобулінів М, G, A (Ig M, Ig G, Ig A) в щурів з різною уродженою стійкістю до гіпоксії на етапах розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу (ДІНКС) при ранньому застосуванні триметазидину.

Моделювання дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу допоможе розкрити особливості змін гуморальної ланки імунної системи організму при досліджуваній патології на етапі сформованого фіброзу міокарда та серцевої недостатності.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 192 статевозрілих білих нелінійних щурах-самцях масою 190–250 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Розподіл тварин на групи здійснювали за методикою Березовського залежно від їх уродженої стійкості до гіпоксії. Дана методика базується на визначенні часу виживання щурів у барокамері при розрідженні повітря до 30 мм рт. ст. (еквівалентно перебуванню на висоті 12 000 м над рівнем моря). Спостерігали за станом тварини і відмічали час до появи агональних судом або другого агонального вдиху. Вказаний проміжок

часу вважали часом виживання щура, який свідчить про індивідуальну стійкість кожної тварини до гіпоксії. Усіх піддослідних тварин поділили на три групи: 1-ша – високостійкі до гіпоксії (ВГТ); 2-га – середньостійкі до гіпоксії (СГТ); 3-тя – низькостійкі до гіпоксії (НГТ). Для розподілу щурів по групах спочатку вираховували середньоарифметичне значення часу виживання тварин, і тих щурів, в яких час був більшим на 33 %, відносили до 1-ї групи, з часом виживання, меншим на 33 % від середньоарифметичного значення, – до 3-ї групи. Середньостійкі до гіпоксії тварини належали до 2-ї групи. Описаний тест усім експериментальним тваринам проводили двічі з інтервалом у два тижні. Для подальших експериментів щурів брали не раніше ніж через 14 днів після другого дослідження і відбирали лише тих тварин, в яких 2 рази спостерігалися показники приналежності до певної групи.

У тварин моделювали ДІНКС [5]. Виводили щурів з експерименту поетапно через 7, 14, 30 діб шляхом тотального кровопускання під загальною анестезією за допомогою внутрішньоопераційного введення тіопенталу натрію (50 мг/кг) [6]. Для корекції метаболічних порушень при моделюванні ДІНКС вводили водну суспензію триметазидину в дозі 10 мг/кг внутрішньошлунково за допомогою зонда 1 раз на добу протягом усього терміну спостереження [1]. У сироватці крові визначали вміст Ig M, Ig G, Ig A турбодиметричним методом з використанням наборів реактивів фірми "HUMAN" (Німеччина) відповідно до інструкцій фірми-виробника на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі Humalyzer 2000, виражаючи концентрацію Ig M, Ig G, Ig A в г/л [2, 8].

Як об'єктивний критерій ефективності експериментальної моделі використовували морфологічне дослідження міокарда для виявлення сполучнотканинних елементів за допомогою забарвлення гістологічних препаратів за Масоном [3] на етапі спостереження 30 діб ДІНКС.

Експериментальні дослідження та евтаназію щурів проводили з дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001), відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей.

Для статистичної обробки результатів використовували параметричні й непараметричні методи оцінки отриманих даних. Для всіх показників розраховували середню арифметичну величину вибірки (M) та похибку середньої арифметичної величини (m). Достовірність

різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента, в інших випадках – за допомогою критерію Манна–Уїтні. Різницю між величинами вважали достовірною при величині $p < 0,05$. Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського в програмному пакеті Statsoft STATISTICA.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Введення триметазидину контрольним тваринам не спричинило статистично значимих змін концентрації імуноглобулінів M, G, A в сироватці крові щурів з різною стійкістю до гіпоксії. Проте моделювання ДІНКС із корекцією триметазидином супроводжувалося статистично достовірними відмінностями концентрації імуноглобулінів M, G, A на деяких етапах спостереження, що відображало порушення гуморального імунітету при досліджуваній патології.

Концентрація імуноглобуліну M на етапі спостереження 7 діб ДІНКС та корекції триметазидином у щурів з низькою стійкістю до гіпоксії (рис. 1) збільшилася лише на 8,0 % ($p < 0,05$) порівняно з групою контрольних тварин, а до етапу спостереження 14 діб ДІНКС та корекції триметазидином зменшилася на 19,3 % ($p < 0,05$) порівняно з попереднім етапом 7 діб ДІНКС і була нижчою, ніж у контрольних тварин, на 13,3 % ($p < 0,05$). До наступного етапу розвитку кардіосклеротичного процесу (30 діб ДІНКС) ця тенденція зберігалась, показник був меншим на 21,8 % ($p < 0,01$) від етапу 7 діб ДІНКС і на 15,6 % ($p < 0,01$) від показника групи контрольних тварин з низькою стійкістю до гіпоксії.

У щурів із середньою стійкістю до гіпоксії концентрація імуноглобуліну M у сироватці крові на етапі спостереження 30 діб ДІНКС була на 17,0 % ($p < 0,001$) меншою, ніж у групі контрольних тварин із середньою стійкістю до гіпоксії, а у ВГТ на цьому ж етапі концентрація імуноглобуліну M у сироватці крові була меншою на 14,5 % ($p < 0,01$), ніж у групі контрольних тварин з високою стійкістю до гіпоксії.

Аналіз змін концентрації імуноглобуліну G у сироватці крові показав, що на етапі спостереження 7 діб ДІНКС на тлі триметазидину НГТ зреагували збільшенням цього показника на 14,8 % ($p < 0,001$) (рис. 2), СГТ – на 13,5 % ($p < 0,001$), ВГТ – на 11,3 % ($p < 0,001$) порівняно з групою контрольних тварин із відповідною стійкістю до гіпоксії. На етапі спостереження 14 діб ДІНКС на тлі триметазидину концентрація імуноглобуліну G у сироватці крові НГТ була більшою на 13,9 % ($p < 0,001$), а на етапі 30 діб ДІНКС – на

12,2 % ($p < 0,001$), ніж у контрольних тварин з низькою стійкістю до гіпоксії. У щурів із середньою і високою стійкістю до гіпоксії подальший розвиток патології на тлі триметазидину не супроводжувався достовірними відмінностями концентрації імуноглобуліну G у сироватці крові від показників групи контрольних тварин.

Реакція імунної системи на антиген може бути первинною і вторинною. Первинна відповідь виникає при першому контакті імунної системи з антигеном. Він реалізується через кілька днів, поки В-лімфоцити трансформуються у плазматичні клітини і почнуть синтезувати Ig M. На етапі сформованого ДІНКС на тлі триметазидину виявлено зменшення вмісту Ig M. Збільшення вмісту Ig G на етапі спостереження

7 діб ДІНКС вказує на переважання вторинної реакції на даному етапі. Вторинна відповідь виникає після повторного контакту імунної системи з антигеном, розвивається швидко (2–3 дні) за допомогою Ig G.

При моделюванні дифузного кардіосклерозу антигенами можуть бути пошкоджені клітини міокарда, які зазнають некротичних змін при ініціації пошкодження міокарда за катехоламіново-кальцієвими механізмами, і ці антигени, ймовірно, утворюються протягом усього періоду фіброзу міокарда, а не тільки на початковому етапі. Найбільш інтенсивно це проявляється у низькостійких до гіпоксії тварин.

Аналіз змін концентрації імуноглобуліну A в сироватці крові тварин з різною стійкістю до

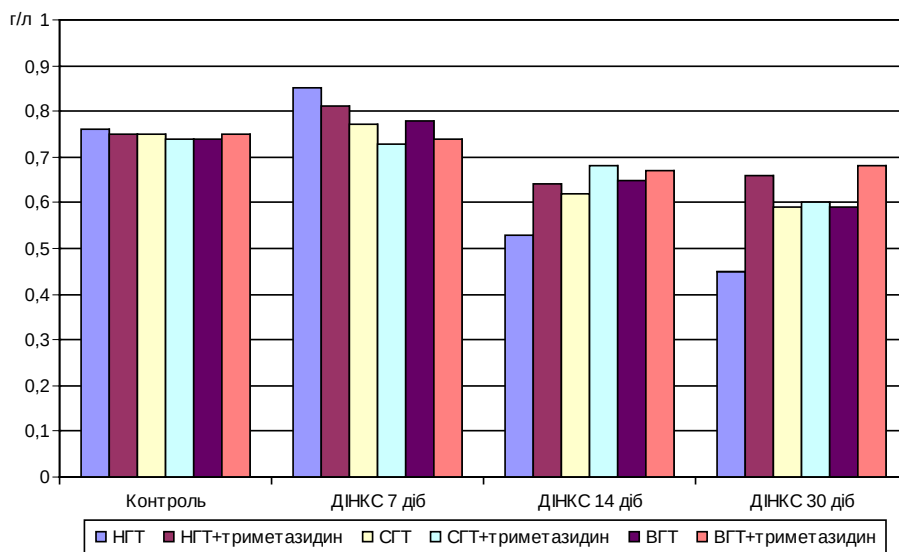


Рис. 1. Динаміка концентрації імуноглобуліну M у сироватці крові щурів з різною стійкістю до гіпоксії на етапах розвитку дифузного кардіосклерозу без корекції та на тлі триметазидину.

Примітка. Тут і на наступних рисунках: * – $p < 0,05$ – достовірність відмінностей відносно контрольних тварин; # – $p < 0,05$ – достовірність відмінностей відносно тварин, які не отримували препарату для корекції.

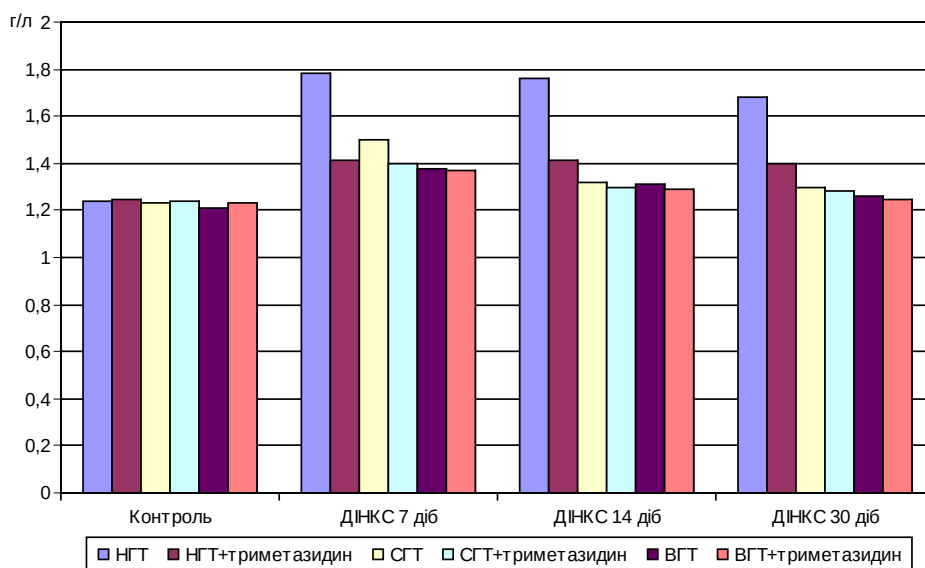


Рис. 2. Динаміка концентрації імуноглобуліну G у сироватці крові щурів з різною стійкістю до гіпоксії на етапах розвитку дифузного кардіосклерозу без корекції та на тлі триметазидину.

гіпоксії показав, що на всіх етапах спостереження ДІНКС на тлі триметазидину достовірних відмінностей досліджуваного показника відносно контрольних тварин не було (рис. 3).

Порівняльний аналіз концентрації імуноглобулінів М, G, А в сироватці крові щурів з різною уродженою стійкістю до гіпоксії без корекції та при застосуванні триметазидину виявив певні особливості впливу препарату на різних етапах розвитку фіброзу міокарда.

При лікуванні триметазидином концентрація імуноглобуліну М у сироватці крові щурів з низькою стійкістю до гіпоксії на етапі спостереження 14 днів ДІНКС була на 24,6 % ($p < 0,05$) вищою (рис. 1), ніж у групі тварин з низькою стійкістю до гіпоксії, які не отримували препарату для корекції. На наступному етапі розвитку кардіосклеротичного процесу (30 днів ДІНКС) показник був більшим на 41,4 % ($p < 0,01$), ніж у нелікованих тварин на вказаному етапі. У щурів із середньою і високою стійкістю до гіпоксії достовірних відмінностей за даним показником між нелікованими і лікованими тваринами не спостерігали.

Виражений ефект від лікування, виявлений у низькостійких до гіпоксії тварин, сприяв меншому пригніченню функціонування гуморальної ланки імунної системи при розвитку кардіосклерозу.

Корекція триметазидином сприяла менш стрімкому зростанню концентрації імуноглобуліну G на всіх етапах спостереження розвитку ДІНКС у щурів з низькою стійкістю до гіпоксії: на етапі спостереження 7 днів ДІНКС показник був на 19,8 % ($p < 0,001$) меншим (рис. 2), ніж у групі нелікованих тварин з низькою стійкістю до гіпоксії, які не отримували препарату для корекції, а на етапах спостереження 14 і 30 днів

ДІНКС – відповідно, на 19,4 % ($p < 0,001$) і 16,6 % ($p < 0,001$) нижчим. У щурів із середньою стійкістю до гіпоксії на етапі спостереження 7 днів ДІНКС показник був на 6,0 % ($p < 0,05$) меншим, ніж у групі нелікованих тварин із середньою стійкістю до гіпоксії, які не отримували препарату для корекції.

Виражений ефект від застосування триметазидину було помічено і при порівнюванні концентрації імуноглобуліну А в сироватці крові лікованих і нелікованих щурів: на етапі спостереження 14 днів ДІНКС у НГТ показник був більшим на 28,0 % ($p < 0,05$), на етапі спостереження 30 днів ДІНКС у НГТ він був вищим на 35,5 % ($p < 0,01$), у СГТ – на 24,6 % ($p < 0,05$), у ВГТ – на 27,2 % ($p < 0,01$), ніж у нелікованих тварин на вказаному етапі.

Отже, експериментальним чином виявлено, що при моделюванні ДІНКС та ранній корекції триметазидином спостерігалися менш виражені порушення гуморальної ланки імунітету порівняно з такими у тварин, в яких моделювали ДІНКС без корекції. Корекція препаратом з метаболічною дією сприяла оптимізації імунної відповіді та сповільнювала розвиток кардіосклеротичних змін.

Результати аналізу змін концентрації імуноглобулінів М, G, А в сироватці крові щурів з різною уродженою стійкістю до гіпоксії без корекції та при застосуванні триметазидину показали найбільш виражений терапевтичний ефект у низькостійких до гіпоксії тварин.

Раннє застосування метаболічної терапії, коли фіброз міокарда ще не розвинувся, а тільки відбувається запуск механізмів його розвитку, сприятливо позначається на імунній регуляції

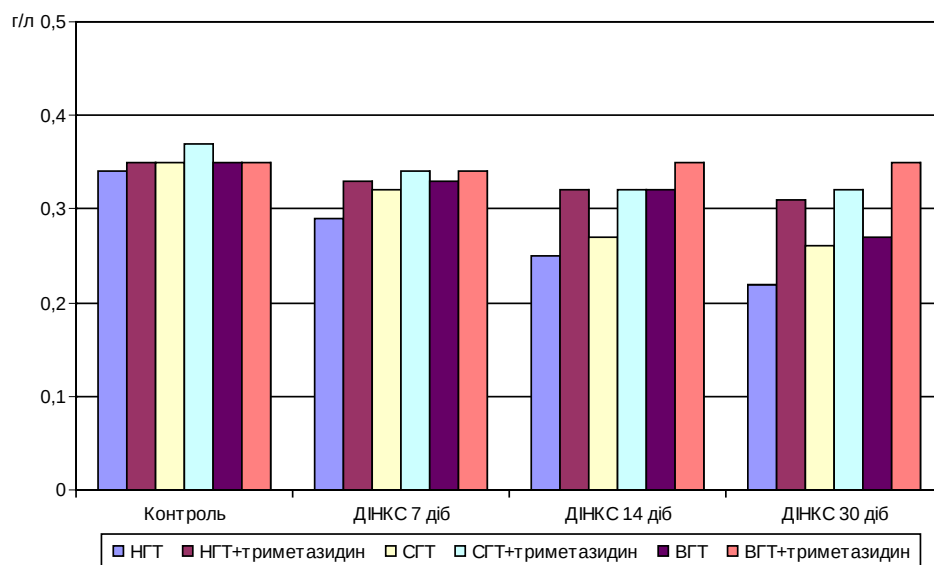


Рис. 3. Динаміка концентрації імуноглобуліну А в сироватці крові щурів з різною стійкістю до гіпоксії на етапах розвитку дифузного кардіосклерозу без корекції та на тлі триметазидину.

процесу, про що свідчать результати даного дослідження, а також своєчасно захищає міокард від пошкодження продуктами ПОЛ, покращує функціонування системи оксиду азоту, оптимізує про- та протизапальні цитокинові реакції [4, 6, 7]. Відомо, що триметазидин селективно інгібує 3-кетоацил КоА-тіолазу – ключовий фермент β-окиснення вільних жирних кислот і підвищує активність піруватдегідрогенази – ферменту, що бере участь в окисненні глюкози [4, 12]. У результаті відбувається метаболічне перемикавання – зниження використання ліпідних субстратів для вироблення АТФ і збільшення споживання глюкози [4, 12]. Це сприяє зменшенню активності ПОЛ, що гальмує реалізацію так званої “ліпідної тріади”, пошкодження біомембран.

Серед інших “точок прикладання” триметазидину отримано переконливі дані про зниження активності електронного мітохондріального комплексу II, а також про поліпшення роботи мітохондріального комплексу I. При цьому відновлюються окисно-відновний баланс і мітохондріальний мембранний потенціал при експериментальній серцевій недостатності [10]. Активність цих процесів залежить від генетично запрограмованих механізмів, що і пояснює різну ефективність триметазидину в ході експерименту на тваринах з різною стійкістю до гіпоксії при розвитку ДІНКС.

Триметазидин має кардіопротекторний ефект, який є результатом зниження активації

макрофагів, нейтрофільних гранулоцитів, а також ендотеліоцитів і клітин, що піддавалися впливу ішемії та реперфузії. У цьому криється ще один дуже важливий механізм дії метаболічної терапії триметазидину, який можна розглядати як попереджувальний [4]. Це дозволяє зменшити прояви феномену постстресорної ригідності міокарда, підвищити резистентність серця до гіпоксії.

ВИСНОВКИ. 1. Розвиток дифузного кардіосклерозу при застосуванні триметазидину супроводжується менш вираженими порушеннями гуморальної ланки імунітету, ніж без корекції.

2. Раннє застосування триметазидину призводить до нормалізації продукції імуноглобуліну М на етапах спостереження 7 і 14 днів дифузного кардіосклерозу та імуноглобуліну А на всіх етапах спостереження.

3. Під впливом триметазидину відбувається нормалізація продукції імуноглобуліну G на етапах спостереження 14 і 30 днів дифузного кардіосклерозу у тварин із середньою та високою стійкістю до гіпоксії, а в низькостійких до гіпоксії щурів метаболічна терапія призводить до вираженого зменшення продукції імуноглобуліну G на всіх етапах спостереження, проте рівня контролю вона не досягає.

4. Позитивний ефект від застосування триметазидину підтверджує важливість раннього терапевтичного втручання у перебіг кардіосклеротичного процесу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Данченко О. П. Вплив триметазидину, тіотриазоліну, таурину та убіхінону на гіпохолестеринемічну дію симвастатину у щурів з експериментальною гіперхолестеринемією / О. П. Данченко, О. О. Пентюк // Фармакологія та лікар. токсикологія. – 2008. – № 5/6. – С. 63–68.
2. Клиническая иммунология и аллергология / под ред. А. В. Караулова. – М. : МИА, 2002. – 651 с.
3. Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники / Г. А. Меркулов. – Л. : Медицина, 1969. – 422 с.
4. Мойбенко А. А. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца / А. А. Мойбенко, В. Е. Досенко, А. Н. Пархоменко. – К. : Наукова думка, 2008. – 520 с.
5. Пат. 66297 Украина, МПК G 09 B 23/28. Способ моделирования диффузного кардиосклероза / Хара М. Р., Боднар Я. Я., Сатурская А. С., Пельх В. Е. ;

заявитель и патентообладатель Терноп. гос. мед. университет имени И. Я. Горбачевского. – № u 2011 08088 ; заявл. 29.06.11 ; опубл. 26.12.11, Бюл. № 24.

6. Сатурская А. С. Особенности кардиопротекторного эффекта триметазидина при экспериментальном кардиосклерозе у крыс с различной степенью чувствительности к гипоксии / А. С. Сатурская // Вестн. Витебского ГМУ. – 2015. – 14, № 1. – С. 28–34.
7. Сатурська Г. С. Роль системи оксиду азоту у механізмах ініціації кардіосклеротичного процесу залежно від індивідуальної резистентності тварин до гіпоксії та при корекції триметазидином / Г. С. Сатурська // Вісн. наук. дослідж. – 2014. – 77, № 4. – С. 115–118.

8. Чернушенко Е. Ф. Иммунологические методы исследований в клинике / Е. Ф. Чернушенко, Л. С. Когосова. – К. : Здоров'я, 1978. – 159 с.

9. 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. – **371**, № 1. – P. 818–827.
10. Dedkova E. N. Mitochondria-mediated cardioprotection by trimetazidine in rabbit heart failure / E. N. Dedkova, L. K. Seidlmayer, L. A. Blatter // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2013. – **59**, № 1. – P. 41–54.
11. Effects of trimetazidine in nonischemic heart failure: a randomized study / J. L. Winter, P. F. Castro, J. C. Quintana [et al.] // *J. Card. Fail.* – 2014. – **20**, № 3. – P. 149–154.
12. Gupta R. Treatment of stable angina pectoris with trimetazidine modified release in Indian primary-care practice / R. Gupta, J. P. Sawhney, V. S. Narain // *Am. J. Cardiovasc. Drugs.* – 2005. – **5**, № 5. – P. 325–329.
13. Low-grade inflammation and the phenotypic expression of myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy / J. Kuusisto, V. Kärjä, P. Sipola [et al.] // *Heart.* – 2012. – **98**, № 13. – P. 1007–1013.
14. Marzilli M. Efficacy and tolerability of trimetazidine in stable angina: a meta-analysis of randomized, double-blind, controlled trials / M. Marzilli, W. W. Klein / *Coron. Artery Dis.* – 2003. – **14**, № 2. – P. 171–179.
15. Trimetazidine in the prevention of contrast-induced nephropathy after coronary procedures / A. O. Onbasili, Ya. Yeniceriglu, P. Agaoglu [et al.] // *Heart.* – 2007. – **93**, № 6. – P. 698–702.

А. С. Сатурская

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПРИМЕНЕНИЕ ЭНДОГЕННОЙ КАРДИОПРОТЕКЦИИ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИФFUЗНОМ КАРДИОСКЛЕРОЗЕ У КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ К ГИПОКСИИ

Резюме

Исследовано влияние раннего применения триметазидина на изменения концентрации иммуноглобулинов М, G, А в сыворотке крови крыс с различной врожденной устойчивостью к гипоксии на этапах 7, 14 и 30 суток развития диффузного ишемически-некротического кардиосклероза. Исследуемые показатели сравнивали на каждом этапе наблюдения между группами леченных и нелеченных животных. Полученные результаты проанализированы с использованием новейших достижений в данной области. Сделан вывод о целесообразности раннего использования триметазидина при развитии фиброза миокарда.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипоксия, диффузный кардиосклероз, триметазидин, иммуноглобулины М, G, А.

H. S. Saturska

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

APPLYING OF ENDOGENOUS CARDIOPROTECTION FOR THE CORRECTION OF HUMORAL IMMUNITY IN EXPERIMENTAL DIFFUSE CARDIOSCLEROSIS IN RATS WITH DIFFERENT RESISTANCE TO HYPOXIA

Summary

It was studied the effect of early use of trimetazidine on changes in the Ig M, Ig G, Ig A concentration in blood serum of rats with different innate resistance to hypoxia at stages 7, 14 and 30 days of diffuse ischemic-necrotic cardiosclerosis. The comparison of the studied parameters at each stage of observation between groups treated and untreated animals was done. The results were analyzed using the latest achievements in this field. It was done the conclusion about the feasibility of early use of trimetazidine in the development of myocardial fibrosis.

KEY WORDS: hypoxia, diffuse cardiosclerosis, trimetazidine, Ig M, Ig G, Ig A.

Отримано 04.03.15

Адреса для листування: Г. С. Сатурська, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.