

## ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ СИНТЕЗУ NO НА АКТИВНІСТЬ ПОЛ ТА АОС В СЕРЦІ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ПРИ ДІЇ ТОКСИЧНОЇ ДОЗИ АДРЕНАЛІНУ

©М. Р. Хара<sup>1</sup>, К. Є. Юрїїв<sup>2</sup>

Тернопільський національний педагогічний університет імені В. Гнатюка<sup>1</sup>,  
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського»<sup>2</sup>,  
м. Тернопіль, Україна

**РЕЗЮМЕ.** В досліджах на статевозрілих щурах вивчено вплив модуляторів активності системи оксиду азоту на розвиток некротичного процесу в серці залежно від статі. В міокарді шлуночків та крові визначали вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантної системи (супероксиддисмутази, каталази та церулоплазмину) на 1 та 24 год після введення кардіотоксичної дози адреналіну. Встановлено, що розвиток некротичного процесу викликав нагромадження первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення у міокарді шлуночків та крові тварин обох статей, інтенсивність якого зменшувалася при попередньому застосуванні прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну та посилювалася за застосування неселективного блокатора синтаз оксиду азоту L-NAME. Суттєвіші мембраноруйнівні процеси в міокарді тварин на тлі блокатора синтаз оксиду азоту викликали компенсаторне збільшення активності супероксиддисмутази та каталази. Чутливішими до ефектів L-аргініну та L-NAME виявилися самці. **КЛЮЧОВІ СЛОВА:** некроз міокарда, стать, оксид азоту, ПОЛ, АОС.

**Вступ.** Сьогодні в більшості країн світу гостро стоїть питання профілактики серцево-судинних захворювань, які займають провідне місце серед найпоширеніших хвороб людства. Важливе місце у їх патогенезі належить порушенню балансу між активністю прооксидантних процесів та антиоксидантним захистом клітин з наступними розвитком окисного стресу [1, 12, 14]. Встановлено, що окисні реакції супроводжуються утворенням токсичних метаболітів, в тому числі продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), які за фізіологічних умов нейтралізуються багатокомпонентною антиоксидантною системою (АОС). Надмірна активація ПОЛ призводить до пригнічення процесів тканинного дихання та некрозу клітин, гальмування проліферації та регенерації. До регуляторів таких змін належить оксид азоту (NO), який не лише діє як скавенджер кисневих радикалів, але й може посилювати ефекти супероксидного радикала. NO синтезується в організмі людини і тварин із L-аргініну за допомогою цитохрому Р-450-подібних гемопротейнів NO-синтаз (NOS). Активація NO-синтази призводить до гіперпродукції оксиду азоту, надлишковий рівень якого може проявляти пошкоджувальну дію на клітини. За даними літератури NO може бути агресивним фактором за рахунок своєї здатності при певних умовах пригнічувати циклооксигеназу, посилювати цитотоксичність пероксиду водню, ініціювати апоптоз клітин [1, 12, 13]. До переліку відомих ефектів NO належить вазодилатація, яку в жіночому організмі пов'язують зі здатністю естрогенів активувати ендотеліальну NO-синтазу [1, 9], що є одним із механізмів кардіопротекції в умовах ішемії в жіночому організмі [1, 14]. З огляду на сказане, доцільним є більш глибоке вивчення ролі системи оксиду азоту в патогенезі некрозу міокарда з урахуванням статі.

**Метою дослідження** було дослідити активність ПОЛ та АОС в міокарді при пошкодженні адреналіном на тлі зміненої активності системи NO залежно від статі.

**Матеріал та методи дослідження.** Усі дослідження провели на 108 білих лабораторних статевозрілих самцях (♂) і самках (♀) щурів (170–210 г), в яких моделювали адреналінове пошкодження міокарда (АПМ) внутрішньом'язовим введенням адреналіну (1 мг/кг). Активність синтезу оксиду азоту змінювали введенням L-аргініну (600 мг/кг) в черевну порожнину за 15 хвилин до відтворення АПМ або L-NAME (NG-Nitro-L-arginine-methyl ester hydrochloride, 25 мг/кг) за аналогічною схемою [11]. Тварин поділили на 3 групи (1 гр. – щури з АПМ без корекції, 2 група – щури з АПМ, що розвивалося на тлі L-аргініну, 3 група – щури з АПМ, що розвивалося на тлі L-NAME) і спостерігали через 1 та 24 год після ін'єкції адреналіну. У міокарді шлуночків (ШЛ) та у сироватці крові визначали вміст дієнових (ДК) та трієнових (ТК) кон'югатів [8], ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [3], церулоплазмину (ЦП) [6], активності каталази (КАТ) [11] та супероксиддисмутази (СОД) [16]. Усі експерименти проводили з дотриманням правил біоетики [5]. Отримані результати піддавали статистичній обробці для визначення середнього арифметичного (М), стандартної похибки середнього арифметичного (m), критерію Стьюдента (t). Достовірною вважали відмінність при значенні  $p < 0,05$ .

**Результати й обговорення.** Важлива роль у механізмах деструктивної дії адреналіну належить порушенню балансу про- та антиоксидантних процесів. Оцінка отриманих даних показала, що розвиток АПМ супроводжувався зростанням вмісту ДК і ТК в міокарді ШЛ, що на 24 год експерименту в ♂ становило відповідно 39,3 і 39,1 %, а в ♀ – 32,0 і

32,6 % (табл. 1). При застосуванні прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну концентрація обох метаболітів зменшилася відповідно на 17,3 і 16,7 % у ♂ та на 24,6 і 22,1 % у ♀. В динаміці розвитку АПМ вміст обох метаболітів збільшувався, що на 24 год спостереження у ♂ склало відповідно 36,3 та 36,1 %, а в ♀ – 44,0 та 42,9 %.

У сироватці крові динаміка цих показників була схожою до такої у міокарді ШЛ. На 24 год АПМ концентрація ДК і ТК у ♂ зросла на 55,6 і 55,6 %, а в ♀ – на 49,3 і 49,4 %. При введенні L-аргініну обидва показники достовірно зменшилися у тварин обох статей, зокрема в ♂ на 23,0 і 23,0 %, в ♀ – на 22,3 і 22,2 %, а через добу експерименту зросли в ♂ на 61,8 і 61,8 %, а в ♀ на 61,9 і 60,7 % при відсутності достовірної різниці між тваринами різної статі.

Вміст ТБК-АП у міокарді ШЛ контрольних ♂ був на 20 % більшим, ніж у ♀ (табл. 1). Величина цього показника через 24 год з моменту введення адреналіну зросла в ♂ у 2,8 раза, а у ♀ в 3 рази. Після застосування прекурсора синтезу NO вміст ТБК-АП знизився у ♂ на 24 %, а у ♀ – на 12 % порівняно з показниками 1-ї групи, а через добу експерименту зріс у ♂ на 67 %, а в ♀ – на 65 % порівняно з контролем даної (2-ї) групи.

При дослідженні сироватки крові виявилось, що вміст вторинних продуктів ПОЛ у ♂ був на 14 % більшим, ніж у ♀. Через добу розвитку АПМ даний показник зріс у ♂ на 33 %, а в ♀ – на 37 %. За застосування L-аргініну вміст ТБК-АП лише у крові ♀ був нижчим, ніж у тварин 1-ої групи, на 23 %. На 24 год експерименту аналізований показник у ♂ зріс на 17 %, а в ♀ – на 23 % відносно контролю.

Про активацію АОС в міокарді ШЛ свідчило зростання активності СОД на 1 та 24 год розвитку АПМ в ♂ і ♀, що склало відповідно 1,8 та 2,1 раза (табл. 2). Введення L-аргініну сприяло тому, що активність даного ферменту збільшилася в тварин обох статей, що в ♂ склало 23,4 %, а в ♀ – 23,0 % порівняно з аналогічним показником 1-ї групи. Через добу після введення адреналіну активність СОД була нижчою за порівнюване значення на 28,2 % в ♂ та на 27,9 % – у ♀, незважаючи на активацію ензиму у відповідь на пошкодження міокарда, що через добу експерименту в ♂ склало 15 %, а в ♀ – 13 % і свідчило про реакцію АОС на нагромадження гідроперекисів ліпідів.

Активність каталази в міокарді ШЛ також зростала (табл. 2). На 1 год моделювання АПМ у ♂ це становило 30,8 %, а в ♀ – 30,7 %, а на 24 год – 57,5 та 56,3 % відповідно. Незважаючи на те, що через добу розвитку АПМ на тлі L-аргініну активність цього ферменту зростала (в ♂ – в 1,3, а в ♀ – 1,5 раза), загалом досліджувані значення були достовірно нижчими порівняно з аналогічними у тварин 1-ї групи. У сироватці крові зміни цього показника мали дещо інше спрямування. На початку

некрозоутворення (1 год АПМ) активність КАТ зросла в ♂ на 5 %, а в ♀ – на 6 % у, а через добу експерименту знизилась відповідно на 8 та 7 % порівняно із контролем даної групи.

Концентрація ЦП в сироватці крові контрольних ♂ і ♀ не відрізнялася (табл. 2). Введення адреналіну спричинило зростання показника, що на 24 год експерименту у ♂ склало 36 %, а в ♀ – 41 %. При застосуванні прекурсора NO концентрація ЦП в сироватці крові контрольних тварин даної групи перевищувала аналогічний показник 1-ї групи тварин у ♂ на 19 %, а в ♀ – на 20 %. Через добу експерименту цей показник у ♂ зріс на 9 %, а в ♀ – на 17 % відносно контролю даної групи тварин, але був нижчим за відповідні значення тварин 1-ї групи, зокрема в ♂ – на 13 %, а в ♀ – на 10 %, що свідчило про менше напруження системи антиоксидантного захисту.

Аналогічний аналіз впливу неселективного блокатора синтаз NO L-NAME на функціонування досліджуваних систем показав, що вміст ДК та ТК в міокарді ШЛ був вищим за аналогічні показники інтактних тварин, що в ♂ склало 28,1 та 28,3 %, а в ♀ – 20,0 та 19,5 % відповідно. Через добу експерименту аналізовані значення в ♂ зросли відповідно на 34,3 та 34,4 %, а в ♀ – на 35,7 та 36,3 % порівняно з вихідними даними даної групи і достовірно переважали такі у тварин 1-ї групи, що свідчило про більшу інтенсивність мембраноруйнівних процесів у міокарді за змодельованих умов. У крові концентрація ДК та ТК переважала таку тварин 1-ої групи, що на 24 год АПМ в ♂ склало відповідно 6,4 та 6,5 %, а в ♀ – 23,1 та 23,0 %, що демонструвало більшу чутливість серця самок до такого впливу.

Про негативний вплив L-NAME на досліджувані процеси свідчило й нагромадження ТБК-АП в міокарді ШЛ, що підтверджувалося збільшенням показника в ♂ на 30 %, а в ♀ – на 41 %. На 24 год експерименту концентрація ТБК-АП зросла міокарді ШЛ тварин обох статей відповідно 63,6 та 63,5 % і обидва значення були більшими за показник 1-ї групи тварин на 38,7 та 55,6 % відповідно в ♂ та ♀. У крові вміст даного метаболіту, порівняно з аналогічним показником контрольних тварин у 1-ї групи, також став вищим, в ♂ в 2,5 раза, в ♀ – в 2,8 раза, а на 24 год розвитку АПМ – на 99 та 112 % відповідно.

Застосування блокатора синтаз NO викликало активацію СОД у міокарді ШЛ ♂ на 31,2, а в ♀ – на 31,3 %. Ця тенденція збереглася і при розвитку АПМ. Активність КАТ у міокарді ШЛ на тлі L-NAME була в 1,3 раза вищою, порівняно з групою тварин без корекції активності синтезу NO. Розвиток АПМ викликав зростання активності даного ферменту, що на 24 год склало у ♂ і ♀ відповідно 46,8 та 47,3 %. Варто зазначити, що достовірної різниці

Таблиця 1. Вміст продуктів ПОЛ в пошкодженому адреналіноміокарді та в сироватці крові тварин різної статі за застосування L-arginine та L-NAME (M±m, n=6)

Група	Стать	Контроль				АПМ 1 год				АПМ 24 год			
		ДК (ум.од.кг)	ТЕК-АП (мкмоль/кг)	ДК (ум.од.кг)	ТЕК-АП (мкмоль/кг)	ДК (ум.од.кг)	ТЕК-АП (мкмоль/кг)	ДК (ум.од.кг)	ТЕК-АП (мкмоль/кг)	ДК (ум.од.кг)	ТЕК-АП (мкмоль/кг)	ДК (ум.од.кг)	ТЕК-АП (мкмоль/кг)
Без корекції (1 група)	♂	0,248±0,011	0,246±0,012	0,317±0,016*	0,316±0,013**	0,294±0,020*	0,407±0,010**	0,406±0,004**	0,491±0,029**	0,347±0,008**	0,344±0,012**	0,412±0,015**	
	♀	0,236±0,011	0,232±0,015	0,297±0,017*	0,295±0,009**	0,279±0,008*	0,347±0,008**	0,344±0,012**	0,412±0,015**				
	♂	0,205±0,024#	0,205±0,004#	0,249±0,017#	0,251±0,014**	0,255±0,014**	0,332±0,005**	0,321±0,002**	0,401±0,012**				
L-arginine (2 група)	♀	0,178±0,012#	0,181±0,008#	0,131±0,004#	0,226±0,005**?	0,240±0,005**	0,318±0,010**	0,317±0,026*	0,349±0,020**				
	♂	0,345±0,004#	0,343±0,005#	0,248±0,013#	0,430±0,010**	0,360±0,016**	0,525±0,002**	0,528±0,004**	0,681±0,017**				
	♀	0,293±0,009#	0,290±0,013#	0,234±0,008#	0,361±0,009**	0,317±0,005**	0,456±0,015**	0,455±0,010**	0,641±0,008**				
Без корекції (3 група)	♂	2,854±0,014	2,852±0,060	2,827±0,190#	4,299±0,054**	4,288±0,046**	5,728±0,226*	6,428±0,090**	4,285±0,127**				
	♀	2,813±0,027	2,810±0,051	2,443±0,106#	4,166±0,062**	4,168±0,093**	5,522±0,153*	5,551±0,033**	5,553±0,047**				
	♂	2,198±0,127	2,196±0,036	2,592±0,13#	3,916±0,189**	3,914±0,089**	2,825±0,194#	5,756±0,014**	5,758±0,031**				
L-arginine (2 група)	♀	2,187±0,018	2,185±0,060	1,890±0,073#	3,899±0,025**	3,897±0,037**	2,170±0,113#	5,747±0,024**	5,745±0,095*				
	♂	3,709±0,027	3,711±0,030	7,013±0,208	5,192±0,019**	5,193±0,013**	7,998±0,161**	6,837±0,025**	6,839±0,038**				
	♀	3,698±0,020	3,695±0,055	6,838±0,147	5,181±0,013**	5,180±0,016**	7,733±0,102**	6,831±0,018**	6,829±0,015**				

Примітки: 1) \* – достовірна (p<0,05) відмінність в межах статі; 2) # – достовірна відмінність між тваринами різної статі; 3) n – достовірна відмінність відносно показника тварин без корекції.

Таблиця 2. Показники активності АОС в сироватці крові та міокарді шлуночків тварин з адреналіновим пошкодженням міокарда при застосуванні L-arginine та L-NAME (M±m, n=6)

Група	Стать	Контроль				АПМ 1 год				АПМ 24 год			
		СОД (ум.од.кг)	КАТ (мкмоль/кг)	СОД (ум.од.кг)	КАТ (мкмоль/кг)	СОД (ум.од.кг)	КАТ (мкмоль/кг)	СОД (ум.од.кг)	КАТ (мкмоль/кг)	СОД (ум.од.кг)	КАТ (мкмоль/кг)	СОД (ум.од.кг)	КАТ (мкмоль/кг)
Без корекції (1 група)	♂	13,43±1,19	3,04±0,21	23,55±1,94**	4,39±0,08**	28,73±0,97**	7,15±0,02**						
	♀	13,65±1,35	2,87±0,19	24,12±2,21**	4,14±0,06**	28,30±0,97**	6,56±0,15**						
L-arginine (2 група)	♂	17,53±0,63	3,14±0,14	16,68±0,40	3,69±0,03**	20,62±0,87**	4,16±0,02**						
	♀	17,80±0,68	3,09±0,11	17,10±0,35	3,75±0,15**	20,37±0,53**	4,17±0,01**						
L-NAME (3 група)	♂	19,52±0,44	3,90±0,02	33,83±1,68**	6,11±0,01**	41,57±1,31**	7,33±0,05**						
	♀	19,90±0,44	3,86±0,04	33,35±1,44**	6,16±0,15**	40,95±0,84**	7,32±0,03**						
Без корекції (1 група)	♂	11,15±0,21	9,35±0,13	14,73±0,38**	7,52±0,16*	17,30±0,25**	7,31±0,10*						
	♀	10,56±0,37	9,35±0,16	13,27±0,31**	7,45±0,16*	17,94±0,33**	7,20±0,06*						
L-arginine (2 група)	♂	13,68±0,25	9,56±0,17#	13,96±0,22#	10,08±0,15**	15,00±0,42**	8,80±0,15**						
	♀	13,40±0,49	9,41±0,07#	12,62±0,20#	9,99±0,14**	16,19±0,37**	8,79±0,13**						
L-NAME (3 група)	♂	15,15±0,07#	8,78±0,15	16,75±0,12**	7,37±0,16*	18,91±0,16**	7,97±0,16**						
	♀	16,79±0,12#	8,78±0,15	16,96±0,28	7,38±0,16*	18,36±0,09**	7,96±0,18**						

Примітки: 1) \* – достовірна (p<0,05) відмінність в межах статі; 2) # – достовірна відмінність між тваринами різної статі; 3) n – достовірна відмінність відносно показника тварин без корекції.

між тваринами різної статі за змодельованих умов не було.

Вміст ЦП в крові тварин після введення L-NAME зріс відносно аналогічного показника контролю 1-ї групи, що в ♂ склало 26 %, а в ♀ – 37 %. Розвиток АПМ викликав нагромадження ЦП. До того ж значення даного показника було достовірно більшим, ніж у тварин, яким даний середник не вводили. Останнє може бути свідченням активації системи антиоксидантного захисту у відповідь на більш інтенсивне накопичення продуктів ПОЛ, що підтверджувалося високими показниками активності СОД та каталази.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бурлака А. П. Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі / А.П. Бурлака, Є.П. Сидорик. – К. : Наукова думка, 2006. – 228 с.
2. Владимиров Ю. А. ПОЛ в биологических мембранах // Ю. А. Владимиров, А. И. Арчасков. – М., 1972. – 252 с.
3. Вплив L-аргініну і блокатора синтази оксиду азоту N-нітро-L-аргініну на вміст катехоламінів у крові щурів за умов стресу / Н. М. Кургалюк, Т. М. Мишутіна, Т. В. Семеновська [та ін.] // Ендокринологія. – 2002. – Т. 7, № 1. – С. 73–76.
4. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
5. Каб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Каб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982 – 311с.
6. Караева Е. Н. Новые аспекты действия эстрогенов / Е. Н. Караева // Экспер. и клин. фарм. – 2003. – Т. 66, № 4. – С. 71–78.
7. Колесова О. Е. ПОЛ и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова, А. А. Маркин, Т. Н. Федорова // Лаб. дело – 1984. – № 9. – С. 540–546.
8. Лагодич Т. С. Вплив донаторів оксиду азоту на скоротливу функцію міокарда / Т. С. Лагодич // Фізіол. журнал. – 2001. – Т. 47, № 1. – С. 34–39.

**Висновок.** Прекурсор синтезу оксиду азоту L-аргінін сприяє менш інтенсивному нагромадженню продуктів ПОЛ в міокарді в умовах некротичного його пошкодження. Попереднє блокування синтази оксиду азоту має наслідком більш інтенсивне, ніж без такого впливу, накопичення метаболітів ліпопероксидації та викликає суттєвішу реакцію ферментів антиоксидантного захисту. Чутливішими до таких впливів є самці.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у дослідженні впливу модуляторів синтезу оксиду азоту на ступінь некротичного пошкодження міокарда залежно від статі.

9. Марков Х. М. L-аргінін – оксид азота в терапії болезней сердца и сосудов / Х. М. Марков // Кардиология. – 2005. – Т. 45, № 6. – С 87–95.
10. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С.16–19.
11. Хара М. Р. Оксид азоту та серцево-судинна система (огляд літератури) / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // Здобутки клін. та експер. мед. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 14–19.
12. Хара М. Р. Особливості ПОЛ АОС у гонадектомованих самок щурів при моделюванні некротичного пошкодження міокарда та корекції / М. Р. Хара, В. Є. Пелих // Медична хімія. – 2010. – № 1. – С. 80–82.
13. Doxorubicin inactivates myocardial cytochrome C oxidase in rats: cardioprotection by Mito-Q / K. Chandran, D. Aggarwal, R.Q. Migrino [et al.] // Biophys J. – 2009. – Vol. 96, № 4. – P. 1388–1398.
14. Monkada S. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology / S. Monkada, R. M. J. Palmer, E. A. Higgs // Pharmacol. Rev. – 1991. – Vol. 43, № 2. – P. 109–142.

## THE INFLUENCE OF MODULATORS OF SYNTHESIS NO ON THE ACTIVITY POL AND AOX IN RATS' HEART OF DIFFERENT SEX AT THE ACTION OF TOXIC DOSE OF ADRENALINE

©M. R. Khara, K. Ye. Yuriyiv

*Ternopil National Pedagogical University by V. Hnatiuk,  
SHEI «Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky»*

**SUMMARY.** The effect of modulators of the activity of nitric oxide on development of the necrotic process in the heart is studied in experiments in mature rats according to sex. The content of lipid peroxidation products and activity of antioxidative system (superoxide dismutase, catalase and ceruloplasmin) were determined in ventricular myocardium and blood serum in 1 and 24 h after injection of cardiotoxic dose of adrenaline. Development of necrotic process caused the accumulation of primary and secondary products of lipid peroxidation in the myocardium of ventriculars and blood serum of animals of both sexes. Its intensity decreased at the previous application of precursor of the synthase of nitric oxide L-arginine and increased at the application of nonselective blocker of the synthase of nitric oxide L-NAME. Significant processes of membranes damaging in the myocardium of animals against the background of blocker of the synthase of nitric oxide caused a compensatory increasing of activity of superoxide dismutase and catalase. The males animals were more sensitive to the effects of L-arginine and L-NAME. **KEY WORDS:** myocardium necrosis, SEX, nitrogen oxide, POL, AOX.