

ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ТКАНИНІ МІОКАРДА ЩУРІВ ІЗ РІЗНОЮ ІНДИВІДУАЛЬНОЮ СТІЙКІСТЮ ДО ГІПОКСІЇ ПРИ РОЗВИТКУ ДИФУЗНОГО ІШЕМІЧНО-НЕКРОТИЧНОГО КАРДІОСКЛЕРОЗУ

©Г. С. Сатурська

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

РЕЗЮМЕ. Використовуючи експериментальну модель дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу досліджено динаміку показників ліпопероксидації при розвитку кардіосклеротичного процесу у різні терміни спостереження у тварин із різною резистентністю до гіпоксії. Виділено основні етапи модельованої патології та проведено аналіз адекватності змін за досліджуваними показниками.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпоксія, серце, ліпопероксидація, дифузний кардіосклероз.

Вступ. У кардіологічній галузі медицини регулярно проводяться широкомасштабні дослідження, реалізуються проекти, направлені на зменшення захворюваності та інвалідизації від патології серцево-судинної системи. Значні зусилля науковців направлені також на соціологічні дослідження з виявлення причин та факторів ризику серцевої патології [1]. Зокрема виявлено, що більш ніж 80 % смертей від серцево-судинних захворювань реєструють у низько- та середньорозвинених країнах. У високорозвинених країнах цей показник дещо зменшився завдяки потужним заходам первинної та вторинної профілактики серцевої патології [1]. Кардіосклеротичний процес представляє у цьому контексті значний інтерес для дослідників, оскільки з позицій профілактичної медицини запідозрити його слід якомога раніше. Ускладнює ситуацію той факт, що токсичні, ендокринно-обмінні, стресорні пошкодження міокарда здебільшого не мають в анамнезі гострого епізоду, а тому іноді залишаються непоміченими, недіагностованими, а отже – нелікованими. У результаті цього діагноз кардіосклерозу досить часто ставлять на пізніх стадіях розвитку серцевої недостатності. Відомо, що серцева недостатність значно погіршує якість життя хворих аж до важкої інвалідизації. Тому надзвичайно актуальним є спрямування зусиль науковців на дослідження етіології та патогенезу кардіосклерозуючих процесів. Дія гострого та хронічного стресу, що супроводжується гіперкатехоламінемією, порушення кальцієвого гомеостазу, активація процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) здатні викликати у тканині міокарда типовий ланцюжок патологічних змін, які неухильно ведуть до розвитку фіброзу міокарда [2–5]. Особливої уваги заслуговує вивчення процесів ПОЛ, активація яких є одним з найважливіших ініціюючих чинників розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу (ДІНКС). Дослідження вмісту гідропероксидів ліпідів у крові та гомогенатах досліджуваних тканин і органів має важливе діагностичне значення для оцінки активації ПОЛ, що супроводжується окси-

дативним стресом і спостерігається при розвитку ряду захворювань, зокрема, при ішемічній хворобі серця, при інфаркті міокарда [5]. ПОЛ є одним із провідних механізмів некротизування кардіоміоцитів адреналіном, тому активність даного процесу дозволяє оцінити інтенсивність руйнівних процесів у кардіоміоцитах на кожному етапі спостереження, що дуже важливо для оцінки передумов активності склеротичних змін у міокарді.

Наші попередні дослідження доводять, що виражений вплив на перебіг даного патологічного процесу мають індивідуальна реактивність та резистентність організму [6]. Значний інтерес для науковців в даному контексті представляє індивідуальна резистентність організму до гіпоксії, адже саме ішемічно-гіпоксійні впливи займають провідну ланку у патогенезі ДІНКС [6, 7].

Мета дослідження. Вивчення особливостей процесів ліпопероксидації на етапах розвитку дифузного ішемічно-некротичного інфаркту у тварин із різною стійкістю до гіпоксії.

Матеріал і методи дослідження. Досліди провели на 96 статевозрілих білих нелінійних щурах самцях масою 190–250 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин поділили на групи залежно від їх стійкості до гіпоксії [6]. Моделювання ДІНКС у тварин включало етапи некротичного пошкодження кардіоміоцитів за катехоламіновим та кальцієвим механізмами [7]. Виведення тварин з експерименту здійснювали шляхом кровопускання під загальною анестезією за допомогою внутрішньоперитонеального введення тіопенталу натрію (50 мг/кг) [6].

Для кількісної оцінки активності процесів ПОЛ використовували визначення вмісту дієнових кон'югатів (ДК) та активних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП) у гомогенаті міокарда шлуночків. Вміст ДК визначали за методом, принцип якого ґрунтується на здатності до інтенсивного УФ-поглинання кон'югованих дієнових структур гідропероксидів ліпідів у діапазоні 232–234 нм. Визначення вмісту ТБК-АП проводили за методом, що

ґрунтується на їх здатності взаємодіяти в кислому середовищі з кислотою тіобарбітуровою [8, 9]. Дані показники визначали через 7, 14 та 30 діб після моделювання ДІНКС.

Усі експериментальні дослідження та евтаназію тварин проводили з дотриманням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в дослідних та інших наукових цілях. Статистична обробка результатів виконана у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет іме-

ні І. Я. Горбачевського МОЗ України» в програмному пакеті Statsoft STATISTICA.

Результати й обговорення. Визначення концентрації ДК і ТБК-АП у гомогенаті тканини міокарда щурів із різною уродженою стійкістю до гіпоксії показало, що вже на етапі раннього кардіосклеротичного процесу відбувалися виражені зміни у процесах ліпопероксидації. У групі тварин з низькою стійкістю до гіпоксії (табл. 1) на етапі спостереження 7 діб ДІНКС концентрація ДК була на 76,1 % більшою ($p < 0,001$), ніж у відповідній групі контрольних тварин, на 14 діб – на 94,9 % більшою ($p < 0,001$), а на 30 діб – у 3,3 раза ($p < 0,001$) перевищувала контроль.

Таблиця 1. Вміст дієнових кон'югатів і активних продуктів тіобарбітурової кислоти у гомогенаті тканини міокарда щурів із різною вродженою стійкістю до гіпоксії при розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу ($M \pm m$)

Стойкість тварин до гіпоксії	Контрольні групи тварин	Термін розвитку ДІНКС		
		ДІНКС 7 діб (n=8)	ДІНКС 14 діб (n=8)	ДІНКС 30 діб (n=8)
ДК, ум.од./г				
Низькостійкі	1,168±0,016	2,068±0,015 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$	3,456±0,015 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$	3,842±0,019 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$
Середньостійкі	1,140±0,011	1,825±0,017 $p < 0,001$	2,307±0,020 $p < 0,01$	2,448±0,019 $p < 0,001$
Високостійкі	1,124±0,010	1,428±0,017 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$	1,312±0,018 $p < 0,01$ $p^* < 0,001$	1,342±0,013 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$
ТБК-АП, мкмоль/кг				
Низькостійкі	0,645±0,018	2,967±0,022 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$	3,226±0,023 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$	3,458±0,020 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$
Середньостійкі	0,632±0,014	2,232±0,015 $p < 0,001$	2,307±0,018 $p < 0,001$	2,432±0,018 $p < 0,001$
Високостійкі	0,618±0,016	1,159±0,017 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$	1,143±0,014 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$	1,123±0,019 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$

Примітки. 1. ДІНКС – дифузний ішемічно-некротичний кардіосклероз; 2. p – достовірність відмінностей у різні терміни розвитку ДІНКС відносно відповідних контрольних груп. 3. p^* – достовірність відмінностей стосовно групи тварин із середньою стійкістю до гіпоксії.

Зміни концентрації ДК у тварин із середньою стійкістю до гіпоксії були менш виражені і достовірно концентрація цього показника збільшилася через 7 діб з моменту моделювання патології на 59,6 % ($p < 0,01$), в подальшому ці зміни посилювалися, і до 14 діб концентрація ДК була у 2,0 рази більшою ($p < 0,001$) стосовно контролю, а на етапі спостереження 30 діб ДІНКС концентрація ДК була більшою у 2,1 раза ($p < 0,001$), ніж у контрольних тварин із середньою стійкістю до гіпоксії.

У високостійких до гіпоксії тварин також спостерігалось збільшення показника концентрації ДК у гомогенаті тканини міокарда, проте ці зміни

були менш інтенсивні. Через 7 діб з моменту моделювання патології концентрації ДК у даної групи тварин збільшилася лише на 26,8 % ($p < 0,01$), в подальшому цей показник стабілізувався і навіть дещо знизився, адже на етапі спостереження 14 діб відмінність від контролю становила 17,0 % ($p < 0,001$), а на 30 діб ДІНКС концентрація ДК була більшою на 19,6 % ($p < 0,001$) стосовно відповідного показника контрольної групи тварин із високою стійкістю до гіпоксії.

Результати аналізу змін концентрації ДК у високостійких та низькостійких до гіпоксії тварин стосовно середньостійких до гіпоксії тварин у різні

терміни розвитку кардіосклеротичного процесу показали, що через 7 діб з моменту моделювання ДІНКС показник у низькостійких до гіпоксії тварин був більшим на 13,2 % ($p < 0,001$), через 14 діб – на 50,0 % ($p < 0,001$), а через 30 діб ДІНКС – на 57,4 % ($p < 0,001$) меншим, ніж у середньостійких до гіпоксії тварин у вказані терміни спостереження. Високостійкі до гіпоксії тварини на етапі 7 діб ДІНКС відрізнялися достовірно меншою активністю ліпопероксидації за досліджуваним показником від середньостійких тварин і концентрація ДК у них була меншою на 22,0 % ($p < 0,001$), на етапах спостереження 14 і 30 діб ДІНКС – відповідно на 43,0 % ($p < 0,001$) і 45,1 % ($p < 0,001$) меншою від аналогічного показника середньостійких до гіпоксії тварин.

Визначення концентрації ТБК–АП у гомогенаті тканини міокарда щурів із різною вродженою стійкістю до гіпоксії при розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу підтвердило наявність високої активності щодо утворення в міокарді продуктів гідропероксидів ліпідів. У групі тварин з низькою стійкістю до гіпоксії на етапі спостереження 7 діб ДІНКС концентрація ТБК–АП була у 4,6 раз більшою ($p < 0,001$), ніж у відповідній групі контрольних тварин. До наступних етапів спостереження – 14 і 30 діб ДІНКС, цей показник продовжував наростати. До етапу спостереження 14 діб ДІНКС концентрація ТБК–АП збільшилася у 5,0 раз ($p < 0,001$), а до етапу спостереження 30 діб ДІНКС – у 5,4 раза ($p < 0,001$) стосовно показника контрольної групи.

Концентрація ТБК–АП у тварин із середньою стійкістю до гіпоксії була більшою, ніж у контрольній групі, у 3,5 раза ($p < 0,001$) на етапі спостереження 7 діб ДІНКС, у 3,7 раза ($p < 0,001$) на етапі спостереження 17 діб ДІНКС, у 3,8 раза ($p < 0,001$) на етапі спостереження 30 діб розвитку ДІНКС.

У високостійких до гіпоксії тварин також спостерігалось збільшення показника концентрації ТБК–АП у гомогенаті тканини міокарда, проте ці зміни були менш інтенсивні у порівнянні з низькоста середньостійкими до гіпоксії тваринами. Через 7 діб з моменту моделювання патології концентрації ТБК–АП у даної групи тварин збільшилася на 87,5 % ($p < 0,001$), в подальшому не збільшувалася, і до 14 діб відмінність від контролю становила 85,0 % ($p < 0,001$), а на етапі спостереження 30 діб ДІНКС концентрація ДК була більшою на 81,7 % ($p < 0,001$) стосовно відповідного показника контрольної групи тварин із високою стійкістю до гіпоксії.

Результати аналізу змін концентрації ТБК–АП у високостійких та низькостійких до гіпоксії тварин стосовно середньостійких до гіпоксії тварин у різні терміни розвитку кардіосклеротичного процесу показали, що через 7 діб з моменту моделювання ДІНКС показник у низькостійких до гіпоксії тварин був більшим на 33,0 % ($p < 0,001$), через 14 діб – на

39,8 % ($p < 0,001$), а через 30 діб – на 42,2 % ($p < 0,001$) більшим, ніж у середньостійких до гіпоксії тварин у вказані терміни спостереження. Високостійкі до гіпоксії тварини достовірно відрізнялися за досліджуваним показником від середньостійких тварин і концентрація ТБК–АП у них була меншою на 48,1 % ($p < 0,001$), через 14 діб – на 50,5 % ($p < 0,001$), а через 30 діб – на 53,8 % ($p < 0,001$) більшим, ніж у середньостійких до гіпоксії тварин у вказані терміни спостереження.

Таку динаміку показників ПОЛ можна пояснити тим, що катехоламіни у великій концентрації безпосередньо, через аденілциклазу і кальмодулін, та через інші регуляторні системи активують основні процеси поновлення ліпідного бішару мембран, тобто збільшують активність фосфоліпаз, ліпаз пероксидного окиснення ліпідів. При тяжких та тривалих стресорних впливах ці фактори призводять не просто до пришвидшеного поновлення, а до реалізації так званої «ліпідної тріади» пошкодження біомембран. Тріада складається з активації фосфоліпаз і ліпаз, активації ПОЛ і детергентної дії лізофосфатидів та надлишку жирних кислот. Руйнівна дія детергентів полягає в тому, що вони здатні порушувати будову ліпідного бішару мембран, чим відкривають доступ вільних радикалів до ненасичених жирних кислот, звичайно прихованих у гідрофобному шарі. Це призводить до глибоких зрушень в ліпідному оточенні мембранозв'язаних клітинних білків, а саме: ферментів, рецепторів та каналів іонної проникності. Активність цих життєво важливих білків знижується. У міокарді тварин, які перенесли стрес, це відображається у зниженні активності іонів Na, K-АТФази, Ca-АТФази і виникненні надлишку іонів Ca^{2+} , а отже, і кальмодуліну [10].

Внаслідок такої фіксації первинного адренергічного ефекту реалізуються різноманітні пошкодження, спричинені надлишком іонів Ca^{2+} : знижується вміст глікогену, ресинтез якого є порушеним, а також ефективність окиснювального фосфорювання у збагачених іонами Ca^{2+} мітохондріях, порушується виведення іонів Ca^{2+} з міофібрил. Внаслідок цього виникає своєрідний феномен – постстресорна ригідність міокарда, знижується резистентність серця до гіпоксії. Вільнорадикальні продукти ПОЛ можуть спричиняти пошкодження також і ДНК клітинних ядер, запускаючи при цьому нуклеїнові механізми пошкодження клітин. Деякі дослідники накопичення продуктів ПОЛ вважають маркером ступеня пошкодження міокарда [11].

Існує ще механізм прямого кардіотоксичного впливу адреналіну, що зумовлений особливостями його метаболічних перетворень. У результаті окиснення надлишку адреналіну в адренохром утворюється семіхінон адреналіну, який може «скидати» електрон на кисень і сприяти накопиченню супероксидрадикалу [12]. Одним із небезпечних наслід-

ків руйнації мітохондрії є не тільки вихід ферментів, а й втрата електронів із утворенням великої кількості активних форм кисню та азоту і розвитку оксидативного стресу [5]. Ці процеси залежать від генетично запрограмованих механізмів, що й пояснює різну динаміку продуктів ПОЛ у ході експерименту на тваринах з різною стійкістю до гіпоксії.

Висновки. 1. Ступінь активації ліпопероксидації при моделюванні кардіосклеротичного процесу залежить від індивідуально-типологічних властивостей організму, зокрема від стійкості до гіпоксії. У тварин із високою стійкістю до гіпоксії підвищення рівня дієнових кон'югатів було менш інтенсивним, ніж у середньо- та низькостійких тварин. У низькостійких до гіпоксії тварин даний показник при розвитку патології був максимальним.

2. До 30 доби експерименту настає максимальне наростання концентрації продуктів ліпопероксидації і ця закономірність найбільш виражена у низькостійких до гіпоксії тварин, що прямо вказує на більшу активність мембраноруйнівних процесів та опосередковано свідчить про знижені адаптаційно-компенсаторні можливості функціонування системи антиоксидантного захисту.

3. Експериментальне дослідження дозволяє зробити висновок про етапність процесу кардіосклерозування: з 7 до 14 діб – ранній період, з 14 до 30 діб – пізній період фіброзу міокарда. Етап спостереження до 7 діб дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу можна вважати періодом ініціації кардіосклеротичних змін.

Перспективи подальших досліджень. В організмі існує система, що здатна протидіяти процесам ПОЛ, запобігаючи їх надмірній активації та забезпечувати рівновагу про- та антиоксидантних реакцій. Тому в подальшому доцільно вивчати особливості функціонування антиоксидантної системи при моделюванні ДІНКС залежно від резистентності тварин до гіпоксії. Важливою патогенетичною ланкою в ініціації окисного стресу також є TNF- α , який через активацію фосфоліпази A₂ здатний стимулювати утворення ейкозаноїдів, які інгібують фермент, метаболізуючий супероксид-аніон – мітохондріальну MnSOD, що зумовлює накопичення супероксид-аніонів і пошкодження мітохондріальної мембрани. Тому доцільно експериментально дослідити роль фактора некрозу пухлин-альфа у патогенезі ДІНКС у тварин залежно від їх стійкості до гіпоксії.

ЛІТЕРАТУРА

1. 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.

2. 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.

3. Female rats fed a high-fat diet were associated with vascular dysfunction and cardiac fibrosis in the absence of overt obesity and hyperlipidemia: therapeutic potential of resveratrol / M. Aubin, C. Lajoie, R. Clement [et al.] // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* – 2008. – Vol. 325, № 3. – P. 961–968.

4. 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.

5. 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.

6. 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.

7. Пат. 66297 Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання дифузного кардіосклерозу / Хара М. Р., Боднар Я. Я., Сатурська Г. С., Пелих В. Є.; заявник і патентовласник Терн. держ. мед. університет ім. І. Я. Горбачевського. – № u 2011 08088; заявл. 29.06.11; опубл. 26.12.11, Бюл. № 24.

8. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Коробейникова // *Лаб. дело.* – 1989. – № 7. – С. 8–10.

9. Методы клинических лабораторных исследований / Под ред. проф. В. С. Камышникова. – 4-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2011. – 750 с.

10. Type 5 adenylyl cyclase disruption alters not only sympathetic but also parasympathetic and calcium-mediated cardiac regulation / S. Okumura, J. Kawabe, A. Yatani [et al.] // *Circ. Res.* – 2003. – Vol. 93, № 4. – P. 364–371.

11. Ланкин В. З. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / В. З. Ланкин, А. К. Тихазе, Ю. Н. Беленков // *Кардиология.* – 2000. – Т. 40, № 7. – С. 48–61.

12. Коробко Д. Б. Вивчення антирадикальної та мітопротективної дії ряду оригінальних 7-арилалкіл-8-гідразино-похідних 1,3-диметилксантину / Д. Б. Коробко // *Здобутки клініч. та експер. мед.* – 2014. – Т. 20, № 1. – С. 51–55.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

**CHANGE OF PARAMETERS OF LIPID PEROXIDATION IN MYOCARDIAL TISSUE
OF RATS WITH DIFFERENT INDIVIDUAL RESISTANCE TO HYPOXIA
DURING THE DEVELOPMENT OF DIFFUSE ISCHEMIC-NECROTIC
CARDIOSCLEROSIS**

©H. S. Saturdayska

SHEI «Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky of MPH of Ukraine»

SUMMARY. Using the experimental model of diffuse ischemic necrotic cardiosclerosis, the dynamics of parameters of lipid peroxidation in the development of diffuse ischemic necrotic cardiosclerosis were studied in different periods of observation at animals with different resistance to hypoxia. The main stages of modeled pathology were studied. The analysis the adequacy of changes in the studied parameters was done.

KEY WORDS: hypoxia, heart, lipid peroxidation, diffuse cardiosclerosis.

Отримано 28.10.2014