

Ю. А. Свередюк, В. Є. Пелих, С. М. Чарнош, О. В. Денефіль
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ

ЗМІНИ ВМІСТУ НІТРИТ-АНІОНА В МІОКАРДІ ШЛУНОЧКІВ ТА ПЕРЕДСЕРДЬ ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕЛЕКТРОЛІТНО-СТЕРОЇДНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ

Вступ. Артеріальна гіпертензія і метаболічні порушення часто є наслідком тривалого лікування стероїдними препаратами. Харчування з високим вмістом NaCl у раціоні здатне значно збільшити цей ризик. Серйозним ускладненням на основі вказаних порушень часто є розвиток кардіоміопатії. До превентивних у даному випадку належить система монооксиду азоту. L-карнітин, який є антиоксидантом, має здатність впливати на енергетичний обмін, процеси апоптозу, транскрипцію ДНК і може бути перспективним засобом корекції порушень у системі монооксиду азоту.

Мета дослідження – вивчити вміст нітрит-аніона в серці щурів при довготривалій дії дексаметазону, підвищеному вмісті NaCl (4 %) у питній воді та корекції L-карнітином.

Методи дослідження. Експеримент виконано на 96 білих нелінійних щурах з дотриманням норм біоетики. Вміст нітрит-аніона визначали в гомогенатах передсердь і шлуночків за методом Гріса. Стероїдну кардіоміопатію моделювали шляхом щоденного застосування дексаметазону протягом 15 днів. Половина тварин для пиття отримувала 4 % розчин NaCl у водопровідній воді. Корекцію проводили за допомогою L-карнітину per os.

Результати й обговорення. Встановлено, що тривале застосування дексаметазону і високий вміст солі у питній воді призводять до зниження рівня нітрит-аніона в шлуночках серця щурів обох статей (24 %, $p < 0,05$). L-карнітин продемонстрував здатність відновлювати рівень метаболіту. Різниця між статями проявлялася у тварин з нормальним рівнем NaCl у питній воді. При високому рівні солі у воді негативні зміни інтенсивніші й різниця між статями вже не така виражена. У передсердях виявлено лише різницю у вмісті нітрит-аніона між статями (на 13 % ($p < 0,05$), нижчий рівень у самців порівняно із самками на всіх етапах дослідження. Дексаметазон чи сіль не впливає на досліджуваний метаболіт у цій тканині.

Висновки. Стероїдно-електролітне пошкодження серця супроводжується зниженням вмісту нітрит-аніона в міокарді шлуночків, L-карнітин ефективно нівелює ці зміни. У міокарді передсердь виявлено різницю у вмісті нітрит-аніона лише залежно від статі, дексаметазон чи високий вміст солі не впливає на даний показник.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: серце; нітрит-аніон; дексаметазон; сіль; L-карнітин.

ВСТУП. Кардіоміопатія – це порушення структури і функцій серцевого м'язу. Дане поняття включає різноманітні порушення міокарда, що проявляються різними структурними та функціональними змінами. Часто вони генетичні, але також можуть бути спричинені різними захворюваннями, які виникли внаслідок артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця чи клапанної недостатності або ж метаболічних захворювань [1, 2]. Деякі патології пов'язані з порушенням гормонального статусу чи прийманням деяких медикаментозних засобів. Яскравим прикладом гормонів, що здатні призвести до метаболічних пошкоджень чи артеріальної гіпертензії, є глюкокортикоїди, які часто використовують

© Ю. А. Свередюк, В. Є. Пелих, С. М. Чарнош, О. В. Денефіль, 2021.

ють при різних захворюваннях запального генезу [3]. Ще одним фактором, який сприяє підвищенню артеріального тиску, є надмірне споживання солі з їжею, що також може сприяти розвитку кардіоміопатії [4, 5]. Наприклад, при артеріальній гіпертензії маса лівого шлуночка і товщина стінки збільшуються за рахунок інтерстиціальної інфільтрації або внутрішньоклітинного накопичення метаболічних субстратів. Метаболічна кардіоміопатія розвивається за умов широкого спектра патологічних станів і переважно пов'язана із системними порушеннями метаболізму, яких було набуто в дорослому віці. Ця кардіоміопатія характеризується структурними (зменшення щільності капілярів та зростання відстані між ними, збільшення діаметра гіпертрофованих кардіоміоцитів) та функціо-

нальними змінами (гіпоксія), інтерстиціальним фіброзом унаслідок зниження енергозабезпечення без ішемічної хвороби чи гіпертензії [4, 6]. Глюкокортикостероїди є найбільш ефективними препаратами в протизапальній терапії при таких захворюваннях, як ревматоїдний артрит, системний червоний вовчак, бронхіальна астма. Проте в разі тривалого використання можливі й негативні наслідки: синдром Кушинга, пригнічення надниркових залоз, гіперглікемія, дисліпідемія, серцево-судинні захворювання, остеопороз, порушення психіки та імуносупресія [1, 7, 8].

У серцево-судинній системі одним з механізмів, що здатні викликати як загальну, так і місцеву вазодилатацію та, як наслідок, запобігати артеріальній гіпертензії і порушенню метаболізму, які виникають на основі гіпоксії, є система монооксиду азоту (NO) [9, 10]. Окрім регуляції судинного тону, NO відіграє важливу роль у здатності до скорочення, реконструкції судин та функції барорецепторів. Це вказує на те, що судини резистивного типу перебувають під модулюючим впливом судинорозширювальної дії NO [11]. Монооксид азоту, враховуючи короткий час його життя та особливості метаболізму, зазвичай визначають за рівнем нітрит-аніона (NO₂⁻), оскільки саме він переважно є неактивним метаболітом при розпаді молекули NO [12].

L-карнітин є дуже важливою амінокислотою, яка виконує важливі функції у клітині. Наприклад, у мітохондрії вона бере участь у генерації енергії при окисненні жирних кислот, також відомі антиоксидантні ефекти L-карнітину, нейромодуючі властивості, здатність впливати на процеси апоптозу при міопатії та транскрипцію ДНК. Такі ефекти можуть вплинути на метаболізм монооксиду азоту.

Мета дослідження – вивчити вміст нітрит-аніона в серці щурів при довготривалій дії дексаметазону, підвищеному вмісті NaCl (4 %) у питній воді та корекції L-карнітином.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконали на 96 статевозрілих білих нелінійних щурах віком 5–6 місяців, масою 0,17–0,23 кг. Пошкодження під дією глюкокортикоїдів моделювали шляхом застосування дексаметазону в дозі 350 мкг/кг маси тварини *per os* протягом 15 днів. Половина щурів отримувала 4 % розчин NaCl у водопровідній воді для пиття. Корекцію патологічного стану проводили, використовуючи препарат L-карнітину (“Агвантар”, розчин оральний 20 %, ТОВ “Ерсель Фарма Україна”) в дозі 200 мг/кг маси тварини протягом 19 днів. Достовірність отриманих відмінностей між результатами (мінімальний рівень значущості $p < 0,05$) оцінювали за допомогою критеріїв Ньюмена – Кейлса (by

Newman – Keuls) (програма BioStat, AnalystSoft Inc., версія 6). Вміст нітрит-аніона визначали в гомогенатах передсердь і шлуночків за методом Grica.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При дослідженні вмісту нітрит-аніона в міокарді передсердь інтактних тварин було виявлено на 12,7 % ($p < 0,05$) достовірно нижчий рівень метаболіту в самців порівняно із самками, а на тлі приймання L-карнітину – на 13,5 % ($p < 0,05$). При застосуванні дексаметазону в самців, порівняно із самками, рівень NO₂⁻ також виявився меншим (на 13,4 %, $p < 0,05$), при використанні L-карнітину на тлі тривалого приймання дексаметазону ця різниця становила 13,9 % ($p < 0,05$).

Достовірну різницю у вмісті досліджуваного метаболіту між тваринами різної статі спостерігали і за умов підвищеного вмісту NaCl у питній воді. У контрольних самців цей показник був на 13,6 % ($p < 0,05$) нижчим, ніж у самок, у тварин, які отримували лише L-карнітин, різниця становила 14,1 % ($p < 0,05$), за дії дексаметазону – 14,9 % ($p < 0,05$), при використанні комбінації L-карнітину і дексаметазону – 13,4 % ($p < 0,05$). L-карнітин, дексаметазон і підвищений вміст кухонної солі у питній воді не викликали достовірних змін рівня нітрит-аніона в міокарді передсердь.

Визначення вмісту нітрит-аніона в міокарді шлуночків показало, що в інтактних самців цей показник був нижчим на 9,7 % ($p < 0,05$) порівняно із самками. Щоденне приймання L-карнітину сприяло незначному, але достовірному зростанню вмісту досліджуваного метаболіту всього на 6,7 % ($p < 0,05$), у самців достовірних змін не було виявлено (за таких умов різниця між тваринами різної статі тепер уже становила 10,4 % (менший рівень у самців)). Тривале застосування дексаметазону викликало зниження рівня NO₂⁻ у міокарді шлуночків тварин обох статей: у самок – на 25,5 % ($p < 0,01$), у самців – на 21,2 % ($p < 0,02$), що призвело до нівелювання різниці між статями. Використання L-карнітину на тлі тривалого приймання дексаметазону спричинило підвищення рівня NO₂⁻ на 41,3 % ($p < 0,001$) у самок і на 28,2 % ($p < 0,01$) у самців та, відповідно, відновлення його вмісту відносно груп інтактних тварин відповідної статі. У цьому випадку різниця у рівнях досліджуваного показника між статями також зберігалась достовірною – у самців даний показник був на 13,3 % ($p < 0,05$) нижчим, ніж у самок (табл.).

Порівняно з групою інтактних тварин, які вживали питну воду із збільшеним вмістом NaCl, вміст нітрит-аніона не змінився. Вміст цього метаболіту в самців за даних умов був на 8,2 %

Таблиця – Вміст нітрит-аніона в міокарді передсердь і шлуночків щурів різної статі при розвитку електролітно-стероїдної кардіоміопатії та її корекції

Щури	Група тварин							
	контрольна		L-карнітин		дексаметазон		дексаметазон+ L-карнітин	
Стать	самки	самці	самки	самці	самки	самці	самки	самці
Рівень NaCl у питній воді:	Вміст NO ₂ ⁻ у міокарді передсердь, 10 ⁻⁵ моль/кг, M±σ							
нормальний	1,899± 0,083	1,657± 0,092 [§]	1,934± 0,075	1,672± 0,070 [§]	1,847± 0,088	1,600± 0,094 [§]	1,923± 0,075	1,655± 0,091 [§]
4 %	1,896± 0,093	1,638± 0,078 [§]	1,941± 0,076	1,667± 0,070 [§]	1,820± 0,075	1,550± 0,079 [§]	1,939± 0,072	1,679± 0,072 [§]
	Вміст NO ₂ ⁻ у міокарді шлуночків, 10 ⁻⁵ моль/кг, M±σ							
нормальний	1,677± 0,075	1,515± 0,084 [§]	1,790± 0,117*	1,604± 0,075 [§]	1,249± 0,077*	1,194± 0,095*	1,765± 0,077	1,530± 0,070 [§]
4 %	1,590± 0,077	1,460± 0,087 [§]	1,821± 0,078*	1,581± 0,081* [§]	1,210± 0,074* [#]	1,105± 0,070* ^{#§}	1,698± 0,064* [#]	1,491± 0,074* ^{#§}

Примітки:

- * – достовірна різниця відносно контрольної групи (p<0,05);
- # – достовірна різниця відносно групи тварин зі звичайним рівнем NaCl у питній воді (p<0,05);
- § – достовірна різниця між тваринами різної статі (p<0,05).

(p<0,05) меншим, ніж у самок. L-карнітин на тлі високого вмісту кухонної солі у питній воді сприяв достовірному зростанню досліджуваного показника: в самок – на 14,5 % (p<0,05), у самців – на 8,2 % (p<0,05) (у самок він виявився на 13,2 % (p<0,05) вищим порівняно із самцями). Дані групи також не відрізнялись від груп тварин, які вживали звичайну питну воду та L-карнітин. Використання дексаметазону на тлі високого вмісту солі в питній воді, порівняно з контрольною групою, призвело до зменшення кількості NO₂⁻ на 23,9 % (p<0,01) у самок і на 24,4 % (p<0,01) у самців, що в самок відповідало рівню тварин, які не вживали збільшеної кількості NaCl, а в самців вміст усе ще залишався на 7,5 % (p<0,05) меншим, ніж у відповідній групі тварин, які перебували на дієті з нормальним рівнем солі. У такій ситуації рівень нітрит-аніона у самців був достовірно на 8,7 % (p<0,05) нижчим порівняно із самками. Застосування L-карнітину спричинило суттєве зростання рівня досліджуваного метаболіту в міокарді шлуночків самок – на 40,3 % (p<0,001). Він був достовірно навіть дещо більшим (на 6,8 %, p<0,05) від рівня контрольних тварин, які пили воду з підвищеним вмістом кухонної солі, але не відрізнявся достовірно від рівня щурів з корекцією L-карнітином тривалого приймання дексаметазону, які не приймали збільшеної кількості солі, та групи інтактних тварин. У самців, які вживали сіль і дексаметазон, приймання L-карнітину призвело до зростання рівня NO₂⁻ в міокарді шлуночків на

35 % (p<0,01), що, у свою чергу, нівелювало негативні ефекти як NaCl, так і дексаметазону на рівень даного метаболіту, про що свідчила відсутність достовірної різниці відносно контрольної групи тварин, які перебували на сольовій дієті, та інтактної групи. Вміст нітрит-аніона в самок, порівняно із самцями, при цьому достовірно був на 12,2 % (p<0,05) вищим.

ВИСНОВКИ. Рівень нітрит-аніона в міокарді передсердь нижчий у самців порівняно із самками, але не залежить від дії L-карнітину, дексаметазону чи підвищеного вмісту кухонної солі в питній воді. Як тривале застосування дексаметазону, так і підвищений вміст кухонної солі в питній воді сприяють зменшенню рівня нітрит-аніона в міокарді шлуночків. Використання L-карнітину для корекції вказаних порушень виявилось абсолютно ефективним (відсутність достовірної різниці відносно інтактних тварин). Різниця у рівнях досліджуваного метаболіту між тваринами різної статі відсутня лише при тривалому прийманні дексаметазону, в інших випадках його вміст завжди достовірно нижчий у самців, ніж у самок.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення шляхів і засобів патогенетичної стимуляції фізіологічних механізмів протекції міокарда (системи монооксиду азоту) за умов розвитку стероїдно-електролітної кардіоміопатії дозволяє суттєво покращити корекцію чи попередити розвиток серйозних ускладнень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Extracorporeal membrane oxygenation support in severe hypertrophic obstructive cardiomyopathy associated with persistent pulmonary hypertension in an infant of a diabetic mother / J. F. Goldberg, C. M. Mery, P. S. Griffiths [et al.] // *Circulation*. – 2014. – No. 130 (21). – P. 1923–1925.
2. Spontaneous development of left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in mice lacking all nitric oxide synthases / K. Shibata, Y. Yatera, Y. Furuno [et al.] // *Circulation Journal*. – 2010. – No. 74 (12). – P. 2681–2692.
3. Goodwin J. E. Glucocorticoid-induced hypertension / J. E. Goodwin, D. S. Geller // *Pediatric Nephrology*. – 2012. – 27 (7). – P. 1059–1066.
4. Transient hypertrophic cardiomyopathy and hypertension associated with hydrocortisone in preterm infant / J. Jiang, J. Zhang, M. Kang, J. Yang // *Medicine*. – 2019. – No. 98 (33). – P. 1–4.
5. Altered nitric oxide system in cardiovascular and renal diseases / J. Lee, E.H. Bae, S.K. Ma, S.W. Kim // *Chonnam Medical Journal*. – 2016. – No. 52 (2). – P. 81–90.
6. Hypertrophic intraventricular flow obstruction after very-low-dose dexamethasone (Minidex) in preterm infants: case presentation and review of the literature / C. Paech, N. Wolf, U. H. Thome, M. Knüpfer // *Journal of Perinatology*. – 2014. – No. 34 (3). – P. 244–246.
7. Dexamethasone-induced cardiac deterioration is associated with both calcium handling abnormalities and calcineurin signaling pathway activation / F. D. S. Guimarães, Wilson Max Almeida Monteiro De Moraes, L. H. M. Bozi [et al.] // *Molecular and Cellular Biochemistry*. – 2016. – No. 424 (1–2). – P. 87–98.
8. Ito D. Exercise training upregulates nitric oxide synthases in the kidney of rats with chronic heart failure / D. Ito, O. Ito, N. Mori [et al.] // *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. – 2013. – No. 40 (9). – P. 617–625.
9. Altered regulation of renal nitric oxide and atrial natriuretic peptide systems in angiotensin II-induced hypertension / E. H. Bae, S. K. Ma, J. Lee, S. W. Kim // *Regulatory Peptides*. – 2011. – No. 170 (1–3). – P. 31–37.
10. Transient nitric oxide reduction induces permanent cardiac systolic dysfunction and worsens kidney damage in rats with chronic kidney disease / L. G. Bongartz, B. Braam, M. C. Verhaar [et al.] // *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. – 2010. – No. 298 (3). – P. 15–23.
11. Maneesai P. Hesperidin prevents nitric oxide deficiency-induced cardiovascular remodeling in rats via suppressing TGF- β 1 and MMPs protein expression / P. Maneesai, S. Bunbupha, P. Potue [et al.] // *Nutrients*. – 2018. – No. 10 (10). – P. 1549.
12. Role of L-carnitine in protection against the cardiac oxidative stress induced by aspartame in Wistar albino rats / R. A. Al-Eisa, F. A. Al-Salmi, R. Z. Hamza, N. S. El-Shenawy // *Plos One*. – 2018. – No. 13 (11). – P. 1–12.

REFERENCES

1. Goldberg, J.F., Mery, C.M., Griffiths, P.S., Parekh, D.R., Welty, S.E., Bronicki, R.A., et al. (2014). Extracorporeal membrane oxygenation support in severe hypertrophic obstructive cardiomyopathy associated with persistent pulmonary hypertension in an infant of a diabetic mother. *Circulation*, 130 (21), 1923-1925.
2. Shibata, K., Yatera, Y., Furuno, Y., Sabanai, K., Morisada, N., Nakata, S., et al. (2010). Spontaneous development of left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in mice lacking all nitric oxide synthases. *Circulation Journal*, 74 (12), 2681-2692.
3. Goodwin, J.E., & Geller, D.S. (2012). Glucocorticoid-induced hypertension. *Pediatric Nephrology*, 27 (7), 1059-1066.
4. Jiang, J., Zhang, J., Kang, M., Yang, J. (2019). Transient hypertrophic cardiomyopathy and hypertension associated with hydrocortisone in preterm infant. *Medicine*, 98 (33), 1–4.
5. Lee, J., Bae, E.H., Ma, S.K., Kim, S.W. (2016). Altered Nitric Oxide System in Cardiovascular and Renal Diseases. *Chonnam Medical Journal*, 52 (2), 81-90.
6. Paech, C., Wolf, N., Thome, U.H., Knüpfer, M. (2014). Hypertrophic intraventricular flow obstruction after very-low-dose dexamethasone (Minidex) in preterm infants: case presentation and review of the literature. *Journal of Perinatology*, 34 (3), 244-246.
7. Guimarães, F.D.S., Wilson, Max Almeida Monteiro De Moraes, Bozi, L.H.M., Souza, P.R., Antonio, E.L., Bocalini, D.S., et al. (2016). Dexamethasone-induced cardiac deterioration is associated with both calcium handling abnormalities and calcineurin signaling pathway activation. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 424 (1-2), 87-98.
8. Ito, D., Ito, O., Mori, N., Cao, P., Suda, C., Muroya, Y., et al. (2013). Exercise training upregulates nitric oxide synthases in the kidney of rats with chronic heart failure. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 40 (9), 617-625.
9. Bae, E.H., Ma, S.K., Lee, J., Kim, S.W. (2011). Altered regulation of renal nitric oxide and atrial natriuretic peptide systems in angiotensin II-induced hypertension. *Regulatory Peptides*, 170 (1-3), 31-37.
10. Bongartz, L.G., Braam, B., Verhaar, M.C., Cramer, M.J., Goldschmeding, R., Gaillard, C.A., et al. (2010). Transient nitric oxide reduction induces permanent cardiac systolic dysfunction and worsens kidney damage in rats with chronic kidney disease. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 298 (3), 15-23.
11. Maneesai, P., Bunbupha, S., Potue, P., Berkan, T., Kukongviriyapan, U., Kukongviriyapan, V., et al. (2018). Hesperidin prevents nitric oxide deficiency-induced cardiovascular remodeling in rats via suppressing TGF- β 1 and MMPs protein expression. *Nutrients*, 10 (10), 1549.
12. Al-Eisa, R.A., Al-Salmi, F.A., Hamza, R.Z., El-Shenawy, N.S. (2018). Role of L-carnitine in protection against the cardiac oxidative stress induced by aspartame in Wistar albino rats. *Plos One*, 13 (11), 1-12.

NITRITE-ANIONS CONTENT CHANGES IN THE VENTRICLES AND ATRIA MYOCARDIUM OF RATS UNDER CONDITIONS OF DEVELOPMENT OF ELECTROLYTE-STEROID CARDIOMYOPATHY

Summary

Introduction. Arterial hypertension and metabolic disorders are often the result of long-term steroid treatment. Eating a diet with high NaCl level can significantly increase this risk. A serious complication due to these disorders is often the development of cardiomyopathy. One of the preventive measures in this case is the nitric monooxide system. L-carnitine, which is an antioxidant, has the ability to influence energy metabolism, apoptosis processes, DNA transcription and it can be a promising means of correcting disturbances in the nitric monooxide system.

The aim of the study – to learn the content of NO_2^- in the heart of rats under prolonged exposure to dexamethasone, an increased content of NaCl (4 %) in drinking water and under correction with L-carnitine.

Research Methods. The experiment was carried out on 96 white nonlinear rats in compliance with the bioethics standards. The content of nitrite anion was determined in homogenates of the atria and ventricles by the Gris method. Steroid cardiomyopathy was modeled by daily dexamethasone administration for 15 days. Half of the animals received 4 % NaCl solution in tap water for drinking. Correction was performed with L-carnitine given per OS.

Results and Discussion. It was found that long-term use of dexamethasone and high salt content in water lead to a decrease in NO_2^- levels in the heart ventricles of rats of both sexes (24 %, $p < 0.05$). L-carnitine demonstrates the ability to restore metabolite levels. The difference between the sexes appears in animals with normal NaCl levels in water. With a high level of salt in the water, the negative changes are more intense and the difference between the sexes is no longer so pronounced. In the atria, only a difference in the content of NO_2^- between the sexes was found (13 % ($p < 0.05$) lower in males than in females at all stages of the study). Dexamethasone or salt does not affect the metabolite in this tissue.

Conclusions. Steroid-electrolyte damage of the heart is accompanied with a decrease in nitrite anion in the ventricular myocardium, L-carnitine effectively neutralizes these changes. In the atrial myocardium, a difference in the content of nitrite anion was found only depending on gender; dexamethasone or high salt content did not affect this indicator.

KEY WORDS: heart; NO_2^- ; dexamethasone; salt; L-carnitine.

Отримано 08.09.21

Адреса для листування: В. Є. Пелих, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: pelykh_ve@tdmu.edu.ua.