

А. В. Марущак, Є. І. Шоріков, Д. В. Шорікова, І. Р. Тимофійчук, В. С. Гайдичук
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ЧЕРНІВЦІ

ЗМІНИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І СТАНУ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В СПОНТАННО-ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ПІД ЧАС ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЛІКУВАННЯ РАМІПРИЛОМ ТА КАНДЕСАРТАНОМ

Статтю присвячено вивченню особливостей стану проокисно-антиоксидантної системи щурів серії SHR при використанні препаратів інгібіторів ангіотензинопетворювального ферменту короткотривалої дії. Під час досліджень встановлено наростання процесів пероксидації при одночасному зниженні активності антиоксидантних ферментів у щурів серії SHR, а також існування регіонарних особливостей впливу вищезазначених препаратів на рівень продуктів пероксидного окиснення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист, спонтанно-гіпертензивні щури лінії SHR.

ВСТУП. Щорічно у світі реєструють 3 млн летальних випадків унаслідок артеріальної гіпертензії, асоційованих із нею захворювань та ускладнень, таких, як інсульт, ішемічна хвороба серця, серцева недостатність. Аналіз загальної смертності населення України свідчить про те, що 65 % становить смертність від ішемічної хвороби серця та цереброваскулярних порушень. В осіб із високим артеріальним тиском у 3–4 рази частіше розвивається ішемічна хвороба серця та в 7 разів частіше порушується мозковий кровообіг. Серед осіб із підвищеним артеріальним тиском знають про наявність захворювання 63 % хворих, з них лікуються лише 38 %, причому ефективно – тільки 14 %.

За останні роки дослідники виростили спеціальні трансгенні лінії щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією (SHR), що є адекватною моделлю даного захворювання в людей. З цією патологією тварини народжуються, що розширило можливість експериментального вивчення як патогенетичних механізмів розвитку артеріальної гіпертензії, так і можливості її фармакокорекції [15–17]. Лінію щурів зі спонтанною гіпертензією (spontaneously hypertensive rats, SHR) вивели в 1963 р. японські вчені Л. Okamoto

© А. В. Марущак, Є. І. Шоріков, Д. В. Шорікова, І. Р. Тимофійчук, В. С. Гайдичук, 2016.

й Aold від щурів лінії Вістар, які мали високий артеріальний тиск. Спонтанно-гіпертензивні щури лінії SHR у перші тижні життя мають нормальний артеріальний тиск. У щурів цієї лінії підвищений артеріальний тиск спостерігають у віці 4–12 тижнів. Гіпертензія виникає без видимих причин у 100 % випадків і передається спадково. У міру старіння тварин рівень артеріального тиску підвищується, розвивається гіпертрофія міокарда. Відомо, що артеріальна гіпертензія супроводжується і значними метаболічними порушеннями водно-електролітного обміну [7]. Одним із найважливіших біохімічних показників, які характеризують порушення електролітного гомеостазу, є зміни обміну іонів K^+ , Na^+ і Cl^- та стану небілкових (креатинін, сечовина) азотистих речовин і загального білка. На думку багатьох дослідників, патогенетичною ланкою між артеріальною гіпертензією та атеросклерозом, поряд із дисфункцією ендотелію, акумуляцією та модифікацією холестерину, може бути активація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [18, 19]. Важливо використовувати в лікуванні артеріальної гіпертензії антигіпертензивні препарати, здатні не тільки ефективно знижувати артеріальний тиск, а й позитивно впливати на процеси ПОЛ і антиоксидантну систему. Однак питання щодо впливу деяких антигіпертензивних препаратів

на активність проміжних продуктів ПОЛ у пацієнтів з артеріальною гіпертензією на сьогодні вивчено недостатньо. У зв'язку з цим, метою даного дослідження було провести порівняльний аналіз стану проокисно-антиоксидантної системи спонтанно-гіпертензивних щурів серії SHR у різних органах під впливом препаратів інгібіторів ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 20 спонтанно-гіпертензивних щурах масою 248,0–431,0 г (розплідник лабораторних тварин “Біомодельсервіс”, м. Київ). У період акліматизації після перевезення з розплідника (2 тижні) та протягом експерименту щури перебували у виварії при 20–25 °С, вологості не більше 50 %, природному світловому режимі “день–ніч”, їх утримували в стандартних пластикових клітках на стандартному харчовому раціоні [3]. Дослідження виконано на лабораторних щурах серії SHR. Процеси окисації вивчали за визначенням вмісту продуктів ПОЛ, зокрема малонового діальдегіду (МДА). Активність ферментів антиоксидантного захисту оцінювали за активністю ферментів: глутатіонпероксидази, каталази та відновленого глутатіону. Дослідній групі тварин серії SHR вводили інгібітори АПФ. Дози раміприлу 5 мг/кг (“Хехст АГ”, Німеччина) та кандесартану 4 мг/кг (“Ranbaxy Laboratories Limited”) відповідали діапазону добових доз для людини

з розрахунком коефіцієнта для щурів. Препарати, які порівнювали, вводили 1 раз на день протягом 7 днів з їжею (для короткочасної терапії) та впродовж 21 дня (для тривалої терапії). Контрольній групі нелікованих щурів серії SHR щоденно внутрішньошлунково вводили 0,9 % розчин натрію хлориду в еквівалентному об'ємі (0,2 мл/200 г).

Дослідження та евтаназію щурів проводили з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001). Статистичну обробку здійснювали за допомогою прикладних програм Statistica 8.0. Проводили розрахунок таких статистичних показників: середньої арифметичної, середньоквадратичного відхилення, стандартної похибки середньої арифметичної. Для оцінки відмінностей середніх величин при нормальному характері розподілу вибірових сукупностей використовували параметричний t-критерій Стьюдента. Статистично вірогідними вважали зміни при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати дослідження вмісту продуктів ПОЛ та антиоксидантного захисту в щурів звичайної лінії, лінії SHR і при лікуванні раміприлом та кандесартаном наведено в таблицях 1–3.

Таблиця 1 – Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту в серці щурів звичайної лінії, лінії SHR та при лікуванні раміприлом і кандесартаном ($M \pm m$, $n=8$)

У серці щурів звичайної лінії	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,056±0,002	0,07±0,002	0,728±0,017	0,508±0,041
Самці	0,059±0,001	0,08±0,001	0,725±0,019	0,503±0,043
У серці щурів лінії SHR	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,056±0,004	0,065±0,007	0,725±0,024	0,509±0,012
Самці	0,055±0,002	0,075±0,004	0,728±0,048	0,510±0,012
У серці щурів лінії SHR (раміприл)	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,051±0,001	0,12±0,009 $p_2 \leq 0,05$	0,645±0,005	0,472±0,036
Самці	0,047±0,001	0,13±0,003 $p_3 \leq 0,05$	0,648±0,002	0,488±0,042
У серці щурів лінії SHR (кандесартан)	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,029±0,001 $p_4 \leq 0,05$	0,12±0,004 $p_4 \leq 0,05$	0,662±0,05	0,414±0,02
Самці	0,032±0,001 $p_5 \leq 0,05$	0,13±0,002 $p_5 \leq 0,05$	0,667±0,05	0,418±0,02

Примітка. Тут і в таблицях 2, 3: p – достовірність показників відносно тварин звичайної лінії (самок), p_1 – відносно тварин звичайної лінії (самців), p_2 – відносно тварин лінії SHR (при лікуванні раміприлом самок), p_3 – відносно тварин лінії SHR (при лікуванні раміприлом самців), p_4 – відносно тварин лінії SHR (при лікуванні кандесартаном самок), p_5 – відносно тварин лінії SHR (при лікуванні кандесартаном самців).

Таблиця 2 – Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту в печінці щурів звичайної лінії, лінії SHR та при лікуванні раміприлом і кандесартаном ($M \pm m, n=8$)

У печінці щурів звичайної лінії	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,134±0,012	0,44±0,82	0,642±0,098	0,582±0,011
Самці	0,138±0,02	0,48±0,53	0,638±0,048	0,604±0,014
У печінці щурів лінії SHR	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,131±0,07	0,47±0,012	0,636±0,018	0,591±0,01
Самці	0,132±0,03	0,46±0,012	0,638±0,014	0,597±0,01
У печінці щурів лінії SHR (раміприл)	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,097±0,001 $p_2 \leq 0,05$	0,55±0,07	0,626±0,028	0,549±0,024
Самці	0,0104±0,004	0,54±0,06	0,630±0,028	0,541±0,02
У печінці щурів лінії SHR (кандесартан)	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,087±0,001 $p_4 \leq 0,05$	0,64±0,012 $p_4 \leq 0,05$	0,617±0,007	0,538±0,018
Самці	0,089±0,004 $p_5 \leq 0,05$	0,62±0,012 $p_5 \leq 0,05$	0,614±0,017	0,571±0,018

Таблиця 3 – Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту в нирках щурів звичайної лінії, лінії SHR та при лікуванні раміприлом і кандесартаном ($M \pm m, n=8$)

У нирках щурів звичайної лінії	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,215±0,023	0,24±0,012	0,510±0,012	0,485±0,024
Самці	0,218±0,038	0,26±0,014	0,512±0,018	0,489±0,036
У нирках щурів лінії SHR	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,127±0,021 $p \leq 0,005$	0,24±0,012	0,565±0,024	0,489±0,012
Самці	0,132±0,018 $p_1 \leq 0,005$	0,26±0,014	0,572±0,028	0,491±0,018
У нирках щурів лінії SHR (раміприл)	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,182±0,019 $p_2 \leq 0,005$	0,33±0,014	0,576±0,024	0,443±0,014
Самці	0,179±0,019 $p_3 \leq 0,005$	0,32±0,014	0,578±0,024	0,445±0,014
У нирках щурів лінії SHR (кандесартан)	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Самки	0,143±0,14 $p_4 \leq 0,005$	0,43±0,012 $p_4 \leq 0,05$	0,535±0,024	0,406±0,012
Самці	0,144±0,14 $p_5 \leq 0,005$	0,45±0,012 $p_5 \leq 0,05$	0,539±0,024	0,405±0,012

Вміст МДА в серці щурів лінії SHR не відрізнявся від показників контрольних тварин. Активність ферментів антиоксидантного захисту не зазнала суттєвих змін. Застосування раміприлу викликало незначне зниження активності каталази в 1,1 раза і зростання активності відновленого глутатіону в 1,7 раза, а інші показники залишались на попередньому рівні. Достовірне зменшення рівня МДА в 2,2 раза, а також підвищення активності відновленого глутатіону в 1,9 раза спричинили використання кандесартану, активність каталази мала тенденцію до подаль-

шого зниження, але ці цифри не набували достовірної різниці (табл. 1).

Зміни в печінці щурів лінії SHR рівня продуктів ПОЛ та активності ферментів антиоксидантного захисту суттєво не відрізнялись від таких показників у серці спонтанно-гіпертензивних тварин. Застосування раміприлу також викликало незначне зниження активності каталази в 1,2 раза і зростання активності відновленого глутатіону в 1,24 раза, а також достовірне зменшення рівня МДА в 1,4 раза. Лікування кандесартаном мало подібну тенденцію з незначним поглибленням у

бік зниження рівня МДА в 1,4 раза, а також підвищення активності відновленого глутатіону в 1,9 раза. Активність каталази мала подібну тенденцію до зниження, особливо при застосуванні кандесартану, але ці цифри не набували достовірності (табл. 2).

У нирках щурів лінії SHR спостерігали достовірне зниження рівня МДА приблизно в 1,7 раза при незмінній активності ферментів антиоксидантного захисту, лише підвищувалась активність глутатіонпероксидази в 1,1 раза. Застосування раміприлу супроводжувалось зростанням рівня МДА в 1,4 раза відносно показників у щурів лінії SHR, але ці показники були меншими від рівня МДА у тварин звичайної лінії. Використання кандесартану мало подібну тенденцію, але рівень МДА був достовірно нижчим, ніж у тварин звичайної лінії, в 1,5 раза і вищим, ніж у щурів лінії SHR, в 1,2 раза. Застосування раміприлу й, особливо, кандесартану призводило до достовірного зростання активності відновленого глутатіону в 1,7 раза. В нирках щурів лінії SHR активність глутатіонпероксидази збільшувалась в 1,2 раза. Раміприл

зберігав подібну тенденцію щодо активності глутатіонпероксидази, кандесартан повертав показники до рівня контролю, але вони залишались дещо вищими (табл. 3).

Зростання рівня продуктів ПОЛ супроводжувалось одночасним зниженням активності ферментів антиоксидантного захисту в щурів серії SHR.

ВИСНОВКИ. 1. У нирках спонтанно-гіпертензивних тварин спостерігали зниження рівня продуктів ПОЛ при незмінній активності ферментів антиоксидантного захисту в щурів серії SHR.

2. Зміни рівня МДА та активності ферментів антиоксидантного захисту в щурів серії SHR мали свої регіонарні особливості, найбільш суттєві зміни відмічено в нирках спонтанно-гіпертензивних тварин.

3. Застосування раміприлу і кандесартану продемонструвало неоднозначний вплив на показники ПОЛ та рівень антиоксидантного захисту, що вказує на перспективи подальших досліджень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аргинин в медицинской практике (обзор литературы) / Ю. М. Степанов, И. Н. Кононов, А. И. Журбина, А. И. Филипова // Журн. АМН України. – 2004. – **10**, № 2. – С. 339–351.
2. Кишко Т. О. Аргинин: биологическое действие, влияние на синтез азота / Т. О. Кишко, С. Г. Шандренко, Н. П. Дмитренко // Журн. АМН України. – 2008. – **14**, № 1. – С. 150–158.
3. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів: метод. рек. / В. М. Коваленко, А. В. Стефанов, Ю. М. Максимов, І. М. Трахтенберг // Доклінічні дослідження лікарських засобів / за ред. О. В. Стефанова. – К.: МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2001. – С. 74–97.
4. Западнюк В. И. Лабораторные животные / В. И. Западнюк. – К.: Вища шк., 1996. – 382 с.
5. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической диагностике / В. С. Камышников. – Мн.: Беларусь, 2000. – **1**. – 494 с.
6. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: МОРИОН, 2000. – 320 с.
7. Мальцев В. И. Гомеостаз натрия и калия в организме, его нарушения / В. И. Мальцев, В. К. Казимирко // Здоров'я України. – 2004. – № 4. – С. 27.
8. Майчук Е. Ю. Современные представления об использовании ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента для лечения артериальной гипертен-

зии / Е. Ю. Майчук, И. В. Воеводина // РМЖ. – 2005. – **13**, № 19. – С. 1287–1291.

9. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: Новая волна, 2007. – 1200 с.

10. Метелица В. И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств / В. И. Метелица. – 2-е изд. – М.: БИНОМ; СПб.: Невский диалект, 2002. – 926 с.

11. Набока О. І. Визначення ефективної дози і гострої токсичності карборену / О. І. Набока // Запорозж. мед. журн. – 2007. – № 3 (41). – С. 154–156.

12. Рациональная фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний / под ред. Е. И. Чазова, Ю. Н. Беленкова. – М.: Литтерра, 2005. – С. 810.

13. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – М., 2000. – С. 318–320.

14. Лекарственные препараты в России: справочник Видаль. – М.: Астра-ФармСервис, 2007. – 1632 с.

15. Тарасова К. В. Комплексний вплив активаторів і блокаторів мембранних каналів на показники гемодинаміки щурів з нормальним артеріальним тиском та зі спонтанною гіпертензією / К. В. Тарасова, І. М. Карвацький, В. Г. Шевчук // Фізіол. журн. – 2004. – **50**, № 4. – С. 117–122.

16. Чекман І. С. Спонтанна артеріальна гіпертензія у щурів: патогенетичні механізми розвитку / І. С. Чек-

ман, Я. М. Корнійкова, Р. С. Довгань // Ліки. – 2007. – № 1–2. – С. 10–15.

17. Fukuda S. Agerelated in blood pressure, hemato; ogical values, concentrations of serum biochemical constituents and weights of organs in the SHR/lzm, SHRSP/lzm and WKY/ lzm / S. Fukuda, S. Tsuchikura, H. Iida // Exp. Anim. – 2004. – 53, № 1. – P. 67–72.

18. Soyabean protein hydrolysate prevents the development of hypertension in spontaneously hypertensive

rats / H. Y. Yang, S. H. Yang, S. I. Chen [et al.] // British J. of Nutrition. – 2004. – № 92. – P. 507–512.

19. Нестеров Ю. И. Возможности коррекции пероксидного окисления липидов комбинированной антигипертензивной терапией у больных артериальной гипертензией [Электронный ресурс] / Ю. И. Нестеров, А. Т. Тепляков // Артериальная гипертензия. – 2004. – № 3. – Режим доступа : <http://www.consilium-medicum.com/artgyper/article/ 11228/>.

А. В. Марущак, Е. И. Шориков, Д. В. Шорикова, И. Р. Тимофийчук, В. С. Гайдичук
БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СОСТОЯНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У СПОНТАННО-ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС ВО ВРЕМЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ РАМИПРИЛОМ И КАНДЕСАРТАНОМ

Резюме

Статья посвящена изучению особенностей состояния проокислительно антиоксидантной системы крыс серии SHR при использовании препаратов ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента кратковременного действия. Во время исследований установлено нарастание процессов пероксидации при одновременном снижении активности антиоксидантных ферментов у крыс серии SHR, а также существование регионарных особенностей влияния вышеупомянутых препаратов на уровень продуктов пероксидного окисления липидов и активность ферментов антиоксидантной защиты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пероксидное окисление липидов, антиоксидантная защита, спонтанно-гипертензивные крысы линии SHR.

A. V. Marushchak, Ye. I. Shorikov, D. V. Shorikova, I. R. Tymofiychuk, V. S. Haydychuk
BUKOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI

CHANGES OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS DURING EXPERIMENTAL TREATMENT BY RAMIPRIL AND CANDESARTAN

Summary

This article talks about an investigation of the state of antioxidant-oxidation system for spontaneously hypertensive rats (SHR) using angiotensin-converting enzyme (ACE) drugs of short-term action. The study found that there is an increase of peroxidation processes while reducing the activity of antioxidant enzymes in the rats (SHR), and there are features of regional influence of drugs above the level of lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes.

KEY WORDS: lipid peroxidation, antioxidant protection, spontaneously hypertensive rat (SHR).

Отримано 22.02.16

Адреса для листування: А. В. Марущак, Буковинський державний медичний університет, Театральна площа, 2, Чернівці, 58002, Україна.