

РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ В МЕХАНІЗМАХ ІНІЦІАЦІЇ КАРДІОСКЛЕРОТИЧНОГО ПРОЦЕСУ ЗАЛЕЖНО ВІД ІНДИВІДУАЛЬНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ТВАРИН ДО ГІПОКСІЇ ТА ПРИ КОРЕКЦІЇ ТРИМЕТАЗИДИНОМ

РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ В МЕХАНІЗМАХ ІНІЦІАЦІЇ КАРДІОСКЛЕРОТИЧНОГО ПРОЦЕСУ ЗАЛЕЖНО ВІД ІНДИВІДУАЛЬНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ТВАРИН ДО ГІПОКСІЇ ТА ПРИ КОРЕКЦІЇ ТРИМЕТАЗИДИНОМ – При експериментальному моделюванні дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу в тварин із різною резистентністю до гіпоксії вивчено особливості функціонування системи оксиду азоту та проведено аналіз адекватності даних змін на різних етапах моделюваної патології. Досліджено вплив триметазидину на ініціацію та розвиток дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу залежно від стійкості тварин до гіпоксії.

РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДА АЗОТА В МЕХАНІЗМАХ ІНІЦІАЦІЇ КАРДІОСКЛЕРОТИЧНОГО ПРОЦЕСУ В ЗАВИСИМОСТІ ОТ ІНДИВІДУАЛЬНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ЖИВОТНИХ К ГИПОКСИИ И ПРИ КОРРЕКЦИИ ТРИМЕТАЗИДИНОМ – При експериментальному моделюванні дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу у животнох с різною резистентністю к гипоксии изучены особенности функционирования системы оксида азота и проведен анализ адекватности данных изменений на разных этапах моделируемой патологии. Исследовано влияние триметазидина на инициацию и развитие дифузного ішемічно-некротичного кардіосклероза в зависимости от устойчивости животных к гипоксии.

ROLE OF NO-SYSTEM IN THE INITIATION MECHANISM OF DIFFUSE CARDIOSCLEROSIS DEPENDING ON THE INDIVIDUAL RESISTANCE OF ANIMALS TO HYPOXIA AND WITH TRIMETAZIDINE CORRECTION – The features of the NO-system was studied in experimental modeling of diffuse ischemic necrotic cardiosclerosis in animals with different resistance to hypoxia. The analysis of the adequacy of these changes was done at different stages of experimental pathology. The effect of trimetazidine was studied on the initiation and development of diffuse ischemic necrotic cardiosclerosis depending on the resistance of animals to hypoxia.

Ключові слова: гіпоксія, серце, оксид азоту, дифузний кардіосклероз, триметазидин.

Ключевые слова: гипоксия, сердце, диффузный кардиосклероз, триметазидин.

Key words: hypoxia, heart, nitric oxide, diffuse cardiosclerosis, trimetazidine.

ВСТУП Як відомо, 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. Від наявності та ступеня впливу цих чинників значною мірою залежить інтенсивність кардіосклеротичного процесу в міокарді [8]. У попередніх роботах ми неодноразово досліджували роль ініціюючих чинників у патогенезі дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу (ДІНКС). Не залишається поза увагою індивідуальна реактивність організму, яка здатна внести значні корективи у перебіг даного патологічного процесу. Стійкість тварин до гіпоксії в даному контексті представляє значний інтерес науковців, адже гіпоксія міокарда займає провідну ланку в патогенезі ДІНКС.

Останнім часом значну увагу приділяють NO-ергічній системі, яка наділена багатьма різноманітними функціями в організмі. Дисбаланс цієї системи при багатьох захворюваннях відіграє ключову роль. Зокрема доведено, що у патогенезі стресорного пошкодження саме через цю систему здійснює свій протекторний вплив мелатонін [7], оскільки цей гормон здатний стимулювати експерсію ендотеліальної NO-синтази і збільшувати продукцію оксиду азоту – потужного вазодилататора, що нормалізує кровопостачання за умов вазоконстрикторної дії стрес-синдрому [7]. Тому вивчення особливостей функціонування системи оксиду азоту в патогенезі ДІНКС та з'ясування ролі цієї системи у механізмах ініціації кардіосклеротичного процесу в тварин із різною резистентністю до гіпоксії є актуальним.

Метою даного дослідження було вивчення особливостей функціонування системи оксиду азоту при експериментальному дифузному ішемічно-некротичному кардіосклерозі та з'ясування ролі цієї системи у механізмах ініціації кардіосклеротичного процесу в тварин із різною стійкістю до гіпоксії та при корекції триметазидином.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди провели на 192 ставевозрілих білих нелінійних щурах-самцях масою 190–250 г, яких утримували на стандартному раціоні виварію. Розподіляли тварин на групи за методикою Березовського, залежно від їх уродженої стійкості до гіпоксії [1, 5]. Дана методика базується на визначенні часу виживання тварин у барокамері при розрідженні повітря до 30 мм рт. ст. (еквівалентно перебуванню на висоті 12 000 метрів над рівнем моря). Спостерігали за станом тварини і відмічали час до появи агональних судом або другого агонального вдиху. Вказаний проміжок часу вважали за час виживання тварини, який свідчить про індивідуальну стійкість кожної тварини до гіпоксії. Описаний тест усім експериментальним тваринам проводили двічі з інтервалом у два тижні. Усіх піддослідних тварин поділили на три групи: перша група – високостійкі до гіпоксії (ВСГ), друга група – середньостійкі (ССГ), третя група – низькостійкі до гіпоксії (НСГ) тварини. Для поділу тварин по групах спочатку вираховували середньоарифметичне значення часу виживання тварин, і тих тварин, в яких час був більшим на 33 %, відносили до першої групи, з меншим часом виживання на 33 % від середньоарифметичного значення – відповідно до третьої групи. Середньостійкі до гіпоксії тварини належали до другої групи. Для подальших експериментів тварин брали не раніше, ніж через 14 днів після другого дослідження і відбирали лише тих тварин, в яких двічі спостерігалися показники приналежності до певної групи.

Моделювання ДІНКС у тварин включало етапи некротичного пошкодження кардіоміоцитів за кате-

холаміновим та кальцієвим механізмами [8]. Виведення тварин з експерименту здійснювали шляхом кровопускання під загальною анестезією за допомогою внутрішньоперитонеального 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 [3]. Визначення вмісту нітрит-аніона у гомогенаті тканини міокарда шлуночків здійснювали за методикою І. М. Nevel [9] 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, що використовуються в дослідних та інших наукових цілях. Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України" в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Результати визначення концентрації нітрит-аніона у гомогенаті тканини міокарда щурів із різною уродженою стійкістю до гіпоксії при розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу показали, що у тварин контрольних груп із різною уродженою стійкістю до гіпоксії виявлено незначні відмінності за даним показником, однак вони були статистично недостовірними. Моделювання патології зумовило достовірно значимі зміни вмісту нітрит-аніона на деяких етапах спостереження. Найбільш активно концентрація нітрит-аніона зменшувалася при моделюванні ДІНКС у групі тварин з низькою стійкістю до гіпоксії (табл. 1) і вже на етапі спостереження 7 діб ДІНКС була на 24,1 % меншою ($p < 0,001$), ніж у відповідній групі контрольних тварин. До наступних етапів спостереження – 14 і 30 діб ДІНКС ця тенденція зменшення показника продовжувалася. До етапу спостереження 30 діб ДІНКС концентрація нітрит-аніона зменшилася на 22,5 % ($p < 0,01$) стосовно показника 7 діб ДІНКС, та на 14,0 % ($p < 0,05$) стосовно показника 14 діб ДІНКС. На даному етапі відмінність від показника контрольної групи поглибилася і становила 41,2 % ($p < 0,001$).

Зміни концентрації нітрит-аніона у тварин із середньою стійкістю до гіпоксії були менш виражені й

достовірно концентрація цього показника зменшилася лише через 14 діб з моменту моделювання патології на 13,5 % ($p < 0,001$), в подальшому ці зміни поглиблювалися. Так, на етапі спостереження 30 діб ДІНКС концентрація нітрит-аніона зменшилася на 18,6 % ($p < 0,01$) стосовно показника 7 діб ДІНКС, а відмінність від контролю становила 22,6 % ($p < 0,001$).

У високостійких до гіпоксії тварин також спостерігалася тенденція до зниження показника концентрації нітрит-аніона у гомогенаті тканини міокарда, проте ці зміни були статистично незначимі стосовно групи контролю високостійких до гіпоксії тварин.

Результати аналізу змін концентрації нітрит-аніона 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 меншим на 21,6 % ($p < 0,05$), через 14 діб – на 22,4 % ($p < 0,01$), а через 30 діб – на 25,4 % ($p < 0,001$) меншим, ніж у середньостійких до гіпоксії тварин у вказані терміни спостереження. Високостійкі до гіпоксії тварини лише на етапі 30 діб ДІНКС відрізнялися достовірно за досліджуванним показником від середньостійких тварин і концентрація нітрит-аніона у них була більшою на 25,4 % ($p < 0,01$).

Концентрація нітрит-аніона у гомогенаті міокарда контрольних тварин із різною стійкістю до гіпоксії достовірно не змінилася під впливом триметазидину (табл. 2). У групах тварин, яким проводили корекцію даним препаратом метаболічних порушень у міокарді при розвитку ДІНКС, спостерігалася нормалізація вмісту нітрит-аніона на деяких етапах спостереження. Так, у високостійких та середньостійких до гіпоксії тварин при корекції триметазидином концентрація нітрит-аніона у гомогенаті міокарда достовірно не відрізнялася від такої у контрольних тварин на усіх етапах спостереження.

У низькостійких до гіпоксії тварин також спостерігався позитивний вплив препарату для корекції, проте він виявився недостатнім для повної нормалізації показника. На етапах спостереження 7, 14 і 30 діб ДІНКС концентрація нітрит-аніона була, відповідно, на 6,0 % ($p < 0,05$), 13,4 % ($p < 0,01$) та 18,5 % ($p < 0,01$) меншою, ніж у контрольних тварин, які отримували препарат без моделювання патології.

Порівняння концентрації нітрит-аніона у гомогенаті міокарда нелікованих та лікованих тварин вия-

Таблиця 1. Зміни концентрації нітрит-аніона у гомогенаті тканини міокарда щурів із різною уродженою стійкістю до гіпоксії при розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу, мкмоль/г ($M \pm m$)

Стойкість тварин до гіпоксії	Контроль (n=8)	Термін розвитку ДІНКС		
		7 діб (n=8)	14 діб (n=8)	30 діб (n=8)
Низькостійкі	7,21±0,13	5,47±0,20 $p < 0,05$ $p^* < 0,001$	4,93±0,21 $p < 0,01$ $p^* < 0,001$	4,24±0,20 $p < 0,001$ $p^* < 0,001$
Середньостійкі	7,34±0,12	6,98±0,30	6,35±0,21 $p^* < 0,001$	5,68±0,19 $p^* < 0,001$
Високостійкі	7,63±0,30	7,53±0,31	7,28±0,22	7,12±0,20 $p < 0,01$

Примітки: 1) p – достовірність відмінностей стосовно груп середньостійких до гіпоксії тварин у різні терміни розвитку ДІНКС;

2) p* – достовірність відмінностей між групами тварин у різні терміни розвитку ДІНКС відносно відповідних контрольних груп.

Таблиця 2. Концентрація нітрит-аніона у гомогенаті тканини міокарда щурів із різною уродженою стійкістю до гіпоксії при розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу, лікованих триметазидином, мкмоль/г (M±m)

Стійкість тварин до гіпоксії	Контроль (триметазидин) (n=8)	Термін розвитку ДІНКС при корекції триметазидином		
		7 діб (n=8)	14 діб (n=8)	30 діб (n=8)
Низькостійкі	7,29±0,14	6,85±0,14 p<0,05 p<0,01	6,31±0,17 p<0,01 p<0,01	5,94±0,16 p<0,01 p<0,001
Середньостійкі	7,56±0,12	7,23±0,18	7,18±0,15 p<0,05	7,12±0,16 p<0,01
Високостійкі	7,65±0,14	7,58±0,13	7,42±0,14	7,36±0,12

Примітки: 1) p – достовірність відмінностей між групами тварин у різні терміни розвитку ДІНКС відносно відповідних контрольних груп;

2) p* – достовірність відмінностей між групами лікованих триметазидином тварин у різні терміни розвитку ДІНКС відносно груп тварин без корекції (табл. 1) у відповідні терміни спостереження.

вило певні особливості впливу препарату, вибрано-го для корекції.

При лікуванні триметазидином у середньостійких до гіпоксії тварин змін концентрація нітрит-аніона у гомогенаті міокарда збільшилася на 13,1 % (p<0,05) через 14 діб моделювання ДІНКС, та на 25,4 % (p<0,01) через 30 діб ДІНКС.

Виражений ефект від лікування був помічений також у низькостійких до гіпоксії тварин, у яких, завдяки використанню досліджуваного препарату, вдалося уникнути значного пригнічення функціонування системи оксиду азоту, про що засвідчило збільшення показника на 25,2 % (p<0,01), 28,0 % (p<0,01) та 40,1 % (p<0,001) на етапах спостереження 7, 14 і 30 діб ДІНКС.

Отже, експериментальним чином встановлено, що при моделюванні ДІНКС у тканині міокарда виникає пригнічення функціонування NO-ергічної системи, на що вказує зниження рівня нітрит-аніона. Це сприяло локальній вазоконстрикції з наступним посиленням ішемії та гіпоксії міокарда.

Останніми часом з'явилися переконливі дані, що свідчать про фундаментальні механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему [9]. Також встановлено, що стресорна реакція на тлі блокування синтезу NO супроводжується значним зростанням рівня адреналіну в крові [2] та ішемією міокарда [4]. З іншого боку відомо, що катехоламіни утворюють з NO сполуки (6-нітродофамін і 6-нітронорадреналін), яким притаманна властивість модифікувати продукцію цього важливого метаболіта за умов стресу [11, 12]. Підвищення синтезу NO стримує нагромадження продуктів вільнорадикального окиснення [13].

При корекції триметазидином спостерігалось підвищення вмісту нітрит-аніона, порівняно з тваринами, яким моделювали ДІНКС без корекції. Отже, корекція препаратом з метаболічною дією сприяла нормалізації функціонування NO-ергічної системи, локального кровообігу в міокарді, зменшувала ішемічні впливи, сповільнювала подальший розвиток кардіосклеротичних змін.

ВИСНОВКИ 1. Ступінь пригнічення функціонування системи оксиду азоту при моделюванні кардіосклеротичного процесу залежить від індивідуально-типологічних властивостей організму, зокрема від стійкості до гіпоксії. У тварин із високою стійкістю до

гіпоксії зниження рівня нітрит-аніона було менш інтенсивним, ніж у середньо- та низькостійких тварин. У низькостійких до гіпоксії тварин даний показник при розвитку патології був мінімальним.

2. Через 30 діб експерименту настає максимальне зниження концентрації нітрит-аніона. Ця закономірність найбільш виражена у низькостійких до гіпоксії тварин, що вказує на наявність знижених адаптаційно-компенсаторних можливостей функціонування системи оксиду азоту при розвитку патології у тварин із низькою стійкістю до гіпоксії.

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

Перспективи подальших досліджень Виявлений дисбаланс NO-ергічної системи при моделюванні ДІНКС у тварин із різною резистентністю до гіпоксії може бути зумовлений як ендотеліальною дисфункцією, так і змінами продукції цитокінів, особливостями імунної відповіді, що має важливе регуляторне значення. Тому доцільно в подальшому вивчати дану експериментальну патологію, зокрема важливо дослідити особливості змін цитокінів, показників імунної системи при моделюванні кардіосклеротичного процесу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Березовский В. А. Напряжение кислорода в тканях животных и человека / В. А. Березовский. – К. : Наукова думка, 1975. – 279 с.
- Вплив L-аргініну і блокатора синтази оксиду азоту N^o-нітро-L-аргініну на вміст катехоламінів у крові щурів за умов стресу / Н. М. Кургалюк, Т. М. Мишутіна, Т. В. Серебровська [та ін.] // Ендокринологія. – 2002. – Т. 7, № 1. – С. 73–76.
- 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 лікарська токсикологія. – 2008. – № 5/6. – С. 63–68.
- Зміни системи оксиду азоту при гострій ішемії та реперфузії міокарда / О. О. Мойбенко, М. Я. Юзків, А. В. Коцюруб [та ін.] // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 3–11.
- Маркова О. О. Міокардіодистрофія і реактивність організму / О. О. Маркова. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1998. – 152 с.
- Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко [та ін.] // К. : Авіцена, 2002. – 156 с.

7. Непорада К. С. Механізми стресопротекторної дії мелатоніну на підшлункову залозу залежно від стресостійкості організму / К. С. Непорада, Н. М. Слободяник, В. М. Слободяник // Мед. хім. – 2011. – Т. 13, № 1(46). – С. 5–8.

8. Сатурська Г. С. Порівняльний аналіз різних експериментальних моделей кардіосклерозу з розвитком серцевої недостатності / Г. С. Сатурська // Здобутки клін. та експер. мед. – 2012. – Т. 17, № 2. – С. 127–132.

9. Фундаментальні механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему як основи патогенетичного лікування її захворювань / О. О. Мойбенко, В. Ф. Сагач, М. М. Ткаченко [та ін.] // Фізіол. журн. – 2004. – Т. 50, № 1. – С. 11–30.

10. Hevel I. M. Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase / I. M. Hevel // J. Biol. Chem. – 1991. – Vol. 266, № 34. – P. 22789–2791.

11. NO-cGMP pathway increases the hyperpolarisation-activated current, I_h, and heart rate during adrenergic stimulation / N. Herring, L. Rigg, D. A. Terrar [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2001. – Vol. 52, № 3. – P. 446–453.

12. Palumbo A. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase by 6-nitrocatecholamines, putative reactions products of nitric oxide with catecholamines under oxidative stress conditions / A. Palumbo, G. Astarita, M. Ischia // Biochem. J. – 2001. – Vol. 35, № 6. – P. 105–110.

13. Wang N. Benidipine reduces myocardial infarct size involving reduction of hydroxyl radicals and production of protein kinase C-dependent nitric oxide in rabbits / N. Wang, S. Minatoguchi, X. H. Chen // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2004. – Vol. 43, № 6. – P. 747–757.

Отримано 20.10.14