

НОВІ АСПЕКТИ КАРДІОПРОТЕКЦІЇ ПРИ ОКСИДАТИВНОМУ СТРЕСІ

¹Лінник О.О., ²Тарасова К.В., ¹Носар В.І., ¹Древицька Т.І.

¹Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця,

²Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Як відомо, мітохондрії відповідають за постійний притік енергії для підтримання окисно-відновного стану клітин, порушення якого викликає підвищення рівня активних форм кисню, що призводить до розвитку оксидативного стресу з порушенням метаболічних процесів, структурних і молекулярних компонентів клітин, зокрема самих мітохондрій. Для відтворення оксидативного стресу в експерименті використовують антрацикліни, зокрема доксорубіцин, але, при дослідженні його впливу на мітохондрії, комплексне вивчення окисного фосфорилування та швидкості входу K^+ до цих органел міокарду не проводилось. Також докладно не вивчені доксорубіцин-індуковані порушення скоротливої активності ізольованих кардіоміоцитів у співставленні зі змінами кардіогемодинаміки *in vitro* та *in vivo*. Як кардіопротектор застосовували рослинний антиоксидант куркумін, що має потенційний цитопротективний ефект при пошкодженнях міокарду та сприяє збереженню функцій серця (Ströfer M. et al., 2011).

Мета. Дослідити механізми порушень мітохондріального апарату і скоротливої активності кардіоміоцитів при доксорубіцин-індукованому оксидативному стресі та можливість їх фармакологічної корекції.

Методи дослідження: функціональні, цитологічні, полярографічні, біоінформативні та статистичні.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на культурі ізольованих неонатальних кардіоміоцитів щурів та статевозрілих щурах. Виділення і культивування кардіоміоцитів здійснювали відповідно до методики Surova O. (2009). Ферментативний гідроліз проводили у середовищі виділення. Культивування проводили у живильному середовищі при 37°C з газовим складом 5% CO_2 та 95% атмосферного повітря. Для моделювання та корекції оксидативного стресу в кардіоміоцитах проводили їх інкубацію з доксорубіцину

гідрохлоридом (SigmaAldrich, 0,5 мкмоль/мл) у середовищі для культивування DMEM+199 протягом 24 годин та куркуміном (SigmaAldrich, 20 мкмоль/мл), відповідно. Для моделювання та корекції оксидативного стресу у дорослих щурів доксорубіцин в дозі 4 мг/кг і куркумін в дозі 50 мг/кг вводили внутрішньоочеревинно тричі. Для визначення і оцінки частоти спонтанних скорочень кардіоміоцитів використовували методику Webster et al. (2000). Механічні властивості кардіоміоцитів оцінювали шляхом визначення: піку скорочення (ПС, мкм), часу досягнення ПС (мс), часу відновлення довжини (мс), максимальної швидкості скорочення і розслаблення (мкм/с). Реєстрацію і аналіз скорочувальної функції клітин проводили за допомогою системи IonOptix. Для оцінки параметрів кардіогемодинаміки застосовували систему MillarInstruments. Через праву сонну артерію у лівий шлуночок (ЛШ) наркотизованих тварин ретроградно вводили стандартний 2F мікрокатетер для реєстрації тиску (SPR-838; MillarInstruments, США), реєстрували показники кардіогемодинаміки за допомогою програми ChartTMv.5.4.2 (ADInstruments, MillarInstruments). Співвідношення тиску та об'єму ЛШ аналізували за допомогою пакета програм PVAN 3.6 (ADInstruments, MillarInstruments) з конвертацією відносних одиниць об'єму (RVU) в абсолютні за формулою, отриманою при калібруванні мікрокатетеру, $\text{slope}20,25 * \text{RVU} - \text{intercept } 29,05$. Оцінювали насосну й діастолічну функцію, скоротливу активність за рядом показників. Мітохондрії (Mx) із міокарду виділяли методом диференційного центрифугування за умови збереження нативності ізольованих органел (Kondrashova M.N. et al., 2001). Дихання та фосфорилування досліджували полярографічним методом з використанням електрода Кларка і приладу Оксиграф (Standart Oxygraph System, Hansatech, England). Функціональний стан Mx вивчали за методом Chance B. (1956). За хроно-амперографічними кривими обчислювали параметри дихання Mx за Chance B. та Estabrook R. (1976). Концентрацію білка визначали методом Lowry O. (1951). Швидкість АТФ-залежного входу K^+ в мітохондрії визначали полярографічним методом за різницею швидкості дихання мітохондрій у метаболічному стані 4 (V_4^{ATP}) та стехіометричними коефіцієнтами (Beavis A., 1987).

Результати. Встановлено, що доксорубіцин порушує всі показники скоротливості кардіоміоцитів. Крім того, доксорубіцин блокує мітохондріальні K^{ATP} -канали, зменшує синтез АТФ, знижує мітохондріальний мембранний потенціал і роз'єднує спряженість дихання і фосфорилування в мітохондріях, що відображається на скорочувальній здатності кардіоміоцитів. Сумісна інкубація з доксорубіцином і куркуміном значно (в 3 рази) знижувала частоту і відновлювала ритмічність спонтанних скорочень, викликала підвищення амплітуди та відсотку вкорочення в 2 рази, викликала збільшення максимальної швидкості скорочення в 1,8 рази і підвищення швидкості розслаблення на 16 %, без значних змін тривалості цих процесів порівняно з моноінкубацією з доксорубіцином. Сумісне застосування доксорубіцину та куркуміну значно покращувало показники мітохондріального дихання і запобігало розвитку мітохондріальної дисфункції при оксидативному стресі. Показники насосної функції у групі щурів з доксорубіцин-індукованим оксидативним стресом були значно нижчими, ніж у контрольних: фракція викиду знизилась на 48%, серцевий викид на 24%, ударна робота на 51%, а ударний об'єм на 20% ($P < 0,05$). Залежна від об'єму кінцево-сistolічна максимальна жорсткість ЛШ знизилась на 30% порівняно з контролем ($P < 0,05$). При цьому, кінцево-сistolічний об'єм зріс на 70% порівняно з контролем ($P < 0,05$). Показники діастолічної функції серця також відрізнялися від контрольних: кінцево-діастолічний об'єм був більшим на 52 %, $dP/dt \min$ знизився на 21%, τG зменшився на 56%, а τW на 21% ($P < 0,05$). Ці зміни можна пояснити зниженням артеріальної жорсткості у щурів з оксидативним стресом на 30% порівняно з контролем ($P < 0,05$). Кінцево-сistolічний тиск та $dP/dt \max$ були нижчими порівняно з контролем у щурів що отримували доксорубіцин (на 46 та 53% відповідно ($P < 0,05$) на фоні підвищення кінцево-діастолічного тиску на 66%.

Висновки та перспективи. Можна стверджувати наявність значного пошкоджуючого ефекту доксорубіцину не лише на клітинному, а й на функціональному рівні. Дослідження протективного впливу куркуміну на показники кардіогемодинаміки є перспективним напрямком нашої роботи.