

УДК 612.661+616.127:616.441]-001.5

© М.Р. Хара, В.А. Гаврицьо, 2012.

## СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ МІОКАРДА В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІПЕРТИРЕОЗУ

М.Р. Хара <sup>1</sup>, В.А. Гаврицьо <sup>2</sup><sup>1</sup>Тернопільський національний педагогічний університет імені В.Гнатюка, <sup>2</sup>Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського, м. Тернопіль.

### SEX-RELATED FEATURES OF MYOCARDIUM METABOLISM AT DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL HYPERTHYROIDISM

M.R. Khara, V.A. Havrysiio

#### SUMMARY

Lipid peroxidation, antioxidant protection and energy production were studied in adult male and female rats with thyroxin cardiomyopathy, which simulated by introduction of L-thyroxine (500 mg / kg, intraperitoneally, daily). In the myocardium of the ventricles after 5, 10 and 15 days from the start of the experiment determined the content of diene and triene conjugate (DC, TC), TBA-active metabolites (TBA-am), activity of superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GP) and glutathione reductase (GR), succinate dehydrogenase (SDH), cytochrome oxidase (CO). Found that hyperthyroxinemia caused accumulation in myocardium of the ventricles DC, TC and TBA-am mostly in females despite the higher activity of GP and GR. Lack of protective effects of glutathione system enzymes resulted from significant inhibition of SOD and catalase, indicating a significant accumulation of reactive species of oxygen. Activity of the energy production in these conditions decreased. That was proved by the inhibition of SDH in myocardium both sex animals and CO mostly in females. We conclude that the development of thyroxin cardiomyopathy causes metabolic disbalance in myocardium of the ventricles mostly in female rats, which can results in more intense structural damage.

### ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА МИОКАРДА В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПЕРТИРЕОЗА

М.Р. Хара, В.А. Гаврицьо

#### РЕЗЮМЕ

В експериментах на половозрелых самцах и самках крыс исследовано активность перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и энергообразования в динамике развития тироксиновой кардиомиопатии, которую моделировали введением L-тироксина (500 мг/кг, внутривенно, ежедневно). В миокарде желудочков через 5, 10 и 15 дней с начала эксперимента определяли содержание диеновых и триеновых конъюгатов (ДК, ТК), ТБК-активных продуктов (ТБК-АП), активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), цитохромоксидазы (ЦО). Установили, что гипертироксинемия вызывала накопление в миокарде желудочков крыс ДК, ТК и ТБК-АП, что в самок было более существенным, чем у самцов, несмотря на большую активность ГП та ГР. Недостаточная протекторная эффективность ферментов системы глутатиона была результатом значительного угнетения активности СОД и каталазы, что свидетельствовало о существенном накоплении активных форм кислорода. Активность энергообразования в таких условиях уменьшалась, о чем свидетельствовало угнетение активности СДГ, которое было аналогичным в самцов и самок, и ЦО, что было более существенным в самок. Полученные результаты свидетельствуют о том, что развитие тироксиновой кардиомиопатии вызывает существенный метаболический дисбаланс в миокарде желудочков самок крыс, что разрешает ожидать более интенсивные структурные нарушения.

**Ключові слова:** гіпертиреоз, статеві гормони, метаболізм, серце

За останні роки частота захворювань, пов'язаних із патологією щитовидної залози, в Україні значно зросла. За даними найновіших досліджень, цьому сприяло декілька причин, серед яких – зменшення уваги до вказаної проблеми, звуження мережі ендокринологічних диспансерів, призупинення моніторингу зобної ендемії тощо [1-3]. Серед ймовірних причин, яка останнім часом звертає на себе увагу, – мультифакторне техногенне і хімічне навантаження на навколишнє середовище, характерне для великих міст і промислових центрів [4], йодіндукований тиреотоксикоз як наслідок

передозування йодумісних препаратів [5]. Встановлено, про що свідчать щорічні звіти ВООЗ, чітка гендерна залежність за показником захворюваності на серцево-судинну патологію, свідчить про доцільність та актуальність вивчення особливостей перебігу кардіоміопатій різного генезу, в тому ж числі і тиреоїдної, для підвищення ефективності лікувально-профілактичних заходів.

Метою дослідження було вивчення особливостей метаболічних змін в міокарді в динаміці розвитку експериментального гіпертиреозу залежно від статі.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

В дослідях на 48 статевозрілих самцях та самках щурів (170-200 г) з гіпертиреозом (L-тироксин, 500 мг/кг щоденно протягом 15-ти днів) було вивчено активність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантної системи (АОС) в міокарді шлуночків за вмістом первинних (дієнові – ДК і трієнові кон'югати – ТК) [6] та вторинних (ТБК-активні продукти – ТБК-АП) продуктів [7], активністю супероксиддисмутази (СОД) [8], каталази (КАТ) [9], глутатіонпероксидази (ГП) та глутатіонредуктази (ГР) [10]. Особливість енергетичного метаболізму оцінювали за активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ) [11] та цитохромоксидази (ЦО) [12]. Тварин досліджували через 5, 10 та 15 діб від початку експерименту з дотриманням принципів “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985), ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Результати дослідження піддавали математичній обробці з використанням параметричних методів

статистичного аналізу з визначенням критерію Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз отриманих даних показав, що незалежно від статі прогресування тироксинової кардіоміопатії супроводжувалося нагромадженням в міокарді шлуночків токсичних продуктів ліпопероксидації (табл.1). В міокарді самок вміст ДК через 5 днів від початку експерименту зріс у 2,8 раза, через 10 днів – в 3,2 раза, через 15 днів – в 3,9 раза, ТК – в 2,9, 3,4 та 4,1 раза відповідно. У самців приріст вмісту ДК склав відповідно 3,5, 4,0 та 4,2 раза, а ТК – 3,4, 3,9 та 4,1 раза. Було відмічено, що в самців, на відміну від самок, суттєве накопичення первинних продуктів ПОЛ спостерігали вже через 5 днів згодовування L-тироксину, що відображало більшу чутливість міокарда цих тварин до негативних ефектів гормону. У самок, незважаючи на певне відтермінування активації процесів перекисного окиснення ліпідів, в кінцевому результаті вміст ДК та ТК виявився на 13 % більшим, ніж у самців.

Таблиця 1

## Показники активності ПОЛ, АОС та ферментів енергоутворення в міокарді шлуночків самок і самців щурів в динаміці розвитку тироксинового гіпертиреозу

| Стать тварин      | Самки           |                  |                  |                  | Самці            |                    |                    |                    |
|-------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                   | Конт- роль      | 5 днів           | 10 днів          | 15 днів          | Конт- роль       | 5 днів             | 10 днів            | 15 днів            |
| ДК, ум.од./г      | 0,079±<br>0,006 | 0,221±<br>0,007* | 0,256±<br>0,005* | 0,310±<br>0,005* | 0,065±<br>0,004# | 0,230±<br>0,008*   | 0,262±<br>0,003*   | 0,274±<br>0,002* # |
| ТК, ум.од./г      | 0,076±<br>0,003 | 0,224±<br>0,007* | 0,259±<br>0,005* | 0,312±<br>0,005* | 0,068±<br>0,004# | 0,233±<br>0,008*   | 0,265±<br>0,003*   | 0,276±<br>0,002* # |
| ТБК-АП, мкмоль/кг | 0,324±<br>0,004 | 0,447±<br>0,009* | 0,518±<br>0,007* | 0,651±<br>0,008* | 0,283±<br>0,008# | 0,543±<br>0,010* # | 0,625±<br>0,007* # | 0,617±<br>0,006* # |
| СОД, ум.од./мг    | 0,650±<br>0,016 | 0,295±<br>0,005* | 0,243±<br>0,009* | 0,269±<br>0,010* | 0,628±<br>0,004  | 0,219±<br>0,009#   | 0,146±<br>0,009* # | 0,182±<br>0,004* # |
| КАТ, мккат/кг     | 1,94±<br>0,12   | 1,65±<br>0,02*   | 1,27±<br>0,06*   | 0,79±<br>0,01*   | 1,99±<br>0,07    | 1,63±<br>0,02*     | 1,24±<br>0,08*     | 0,90±<br>0,05* #   |
| ГР, ммоль/хв·кг   | 0,024±<br>0,003 | 0,130±<br>0,001* | 0,545±<br>0,004* | 0,502±<br>0,008* | 0,031±<br>0,004# | 0,546±<br>0,014* # | 0,397±<br>0,013* # | 0,154±<br>0,007* # |
| ГП, ммоль/хв·кг   | 0,091±<br>0,003 | 0,184±<br>0,015* | 0,496±<br>0,015* | 0,223±<br>0,017* | 0,126±<br>0,004# | 0,215±<br>0,008*   | 0,390±<br>0,013* # | 0,112±<br>0,014#   |
| СДГ               | 16,57±<br>0,34  | 12,91±<br>0,19*  | 12,94±<br>0,33*  | 12,64±<br>0,22*  | 16,71±<br>0,19   | 13,08±<br>0,38*    | 13,11±<br>0,19*    | 12,26±<br>0,16*    |
| ЦО                | 7,13±<br>0,07   | 6,13±<br>0,15*   | 5,90±<br>0,12*   | 5,41±<br>0,09*   | 7,38±<br>0,15    | 5,85±<br>0,14*     | 5,91±<br>0,12*     | 6,07±<br>0,09* #   |

Примітка: \* - достовірна ( $p < 0,05$ ) відмінність відносно контролю; # - достовірна відмінність між самцями і самками.

Інтенсивність приросту ТБК-АП в міокарді шлуночків була меншою, ніж ДК та ТК (див. табл. 1). Зокрема, в самок через 5 днів спостереження за розвитком гіпертиреозної кардіоміопатії вміст

метаболіту збільшився на 38 %, через 10 днів – на 60 %, через 15 днів – в 101 %, в самців – на 92, 121 та 118 % відповідно. З даного аналізу видно, що приріст ТБК-АП в міокарді самок був рівномірний впродовж

усього експерименту, а в самців, подібно з попереднім описом, відбувався більш суттєво вже на ранньому етапі розвитку даної патології. На 15 добу спостереження вміст ТБК-АП в міокарді самців виявився на 6 % меншим.

Загалом отримані дані свідчили про розвиток окисного стресу в міокарді, що вимагало значної активації систем протидії – ферментів системи антиоксидантного захисту. Аналіз активності ферментів АОС показав, що в динаміці розвитку тироксинової кардіоміопатії відбувалася значна депресія СОД та каталази, що підтверджує синергічний характер дії обох ензимів (див. табл.). В самок активність СОД через 5 днів розвитку гіпертиреозу стала меншою за контрольне значення в 2,2 раза, через 10 днів – в 2,7 раза, через 15 днів – в 2,4 раза, в самців – в 2,9, 4,3 та 3,5 раза відповідно, що свідчило про значне накопичення активних форм кисню та погіршення процесу ферментативної дисмутації супероксиданіон радикалів. Ступінь пригнічення активності каталази в міокарді шлуночків був значно менший лише на початкових етапах експерименту. Зокрема, через 5 та 10 днів згодовування L-тироксину в самок даний показник зменшився відповідно на 18 та 53 %, а в самців – на 22 та 60 %. Поглиблення таких змін констатували на 15 добу спостереження. В самок активність каталази в цей період зменшилася в 2,5 раза, а в самців – в 2,3 раза, що разом із пригніченням СОД демонструвало дефіцит даної ланки захисту з боку АОС. Менш інтенсивна депресія каталази на початкових етапах розвитку гіпертиреозу підтверджувала менш значну роль даного ензиму в захисті міокардіоцитів від пошкодження активними формами кисню. Разом з тим, поглиблення окисного стресу та значне накопичення активних форм кисню викликало суттєву депресію й цієї ланки захисту. Варто зазначити, що за активністю каталази самці і самки відрізнялися лише на останньому етапі спостереження, зокрема показник самок був на 14 % меншим. Активність СОД самок переважала показник самців через 5 днів експерименту на 35 %, через 10 днів – на 66 %, через 15 днів – на 48 %, що, зважаючи на менший порівняно з самцями приріст активності ферменту в динаміці розвитку гіпертиреозу, могло свідчити про важливу роль естрогенів, які є природними антиоксидантами [13, 14].

Зважаючи на те, що серед ферментів АОС, відповідальних за захист міокарда від активних форм кисню, важлива роль відводиться ГП та ГР, подальший аналіз стосувався саме цієї ланки. Характер змін активності обох ферментів в динаміці розвитку тироксинової кардіоміопатії залежав від статі тварин. В самок активність ГП через 5 днів від початку експерименту зросла в 2 рази, через 10 днів – в 5,5 раза. Незважаючи на зменшення даного показника проти попереднього етапу в 2,2 раза, що відбулося через 15 днів спостереження, активність ГП

залишалася більшою за контроль в 2,5 раза. У самців динаміка була аналогічною. Через 5 та 10 днів експерименту активність ГП переважала контрольне значення в 1,7 та 3,1 раза відповідно, а через 15 днів не відрізнялася, що було результатом менш інтенсивної динаміки показника.

Важливу лепту в захист міокарда самок вносив інший цитозольний фермент-антиоксидант – ГР, активність якого в самок на усіх етапах спостереження була збільшеною (через 5 днів в 5,4 раза, через 10 днів в 22,7 раза, через 15 днів в 20,9 раза). Цікаво, що в самців через 5 днів спостереження активність ГР зросла в 17,6 раза, через 10 днів ця перевага над контрольним показником була дещо меншою і становила 12,8 раза, а через 15 днів – 5 разів, що узгоджувалося із ступенем приросту продуктів ліпопероксидації.

Як показують отримані результати, реакція ферментів антиоксидантного захисту на розвиток тироксинової кардіоміопатії в самок була суттєвішою, ніж у самців, що свідчило про інтенсивніше накопичення активних форм кисню в міокарді шлуночків, підтверджувалося більшим вмістом первинних продуктів ліпопероксидації і свідчило про створення метаболічного підґрунтя для суттєвіших структурних змін в міокардіоцитів, що потребує морфологічних досліджень і є перспективою даної роботи.

Як відомо, головним ефектом тироксину на рівні клітин-ефекторів є вплив на процеси енергоутворення, зокрема його розбалансування. Оцінка активності СДГ та ЦО показала, що прогресуванні тироксинової кардіоміопатії супроводжувалося пригніченням активності обох ензимів, що в самок склало 28 % через 5 днів та 10 днів експерименту, 31 % – через 15 днів, а в самців – відповідно 28, 27 та 36 %. За цим показником різниці між тваринами різної статі не було. Зменшення активності ЦО в самок до 15 доби спостереження склало 32 %, а в самців – 22 %. Внаслідок різного ступеня встановлених змін показник самок виявився на 11 % меншим, ніж в самців, що відображало суттєвіші розлади енергоутворення і могло бути результатом інтенсивнішого пошкодження мембранних структур активними формами кисню та гідроперекисами ліпідів, вміст яких в самок був значно більший, ніж в самців.

#### ВИСНОВОК

Розвиток тироксинової кардіоміопатії викликає накопичення в міокарді шлуночків шурів продуктів ліпопероксидації, що в самок є більш суттєвим, ніж у самців, незважаючи на більшу активність ферментів системи глутатіону (глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази), ефективність якої є недостатньою в умовах значного пригнічення активності супероксиддисмутази та каталази. Активність

енергоутворення за таких умов знижується, про це свідчить пригнічення активності сукцинатдегідрогенази однаковою мірою в самців і самок та цитохромоксидази – більшою мірою в самок.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Калинин А.П. Современные аспекты тиреотоксикоза / А.П. Калинин, В.С. Лукьянчиков, Нгуен Кхань Вьет // Проблемы эндокринологии – 2000. – Том 46, № 4. – С. 23-26.
2. Хосталек У. Заболевания щитовидной железы и возможности их эффективного лечения / У. Хосталек // М. – 1997. – 158 с.
3. Олійник В.А. Сучасні проблеми тиреоїдології в Україні / В.А. Олійник // Ендокринологія. – 2001. – Т. 6, дод. – С. 216.
4. Порівняльний аналіз захворювання щитоподібної залози у міського населення Криму, оперованого в період 1990-1999рр. / О.Ф. Безруков, І.І. Руднева, В.П. Фесенко [і співавт]. // Вісн. наук. досл. – 2001. – № 4. – С. 7-11.
5. Герасимов Г.А. Всеобщее йодирование пищевой поваренной соли для профилактики йоддефицитных заболеваний: преимущества значительно превышают риск / Г.В. Герасимов // Пробл. эндокринол. – 2001. – Т. 47, № 3. – С. 22-24.
6. Методика определения концентрации ДК и ТК в биологических субстратах / под. ред. М.И.Прохоровой. – Л.: Издательство Ленинградского ун-та. – 1982. – 272 с.
7. Методика определения концентрации МДА в биологических субстратах / под. ред. М.И.Прохоровой. – Л.: Издательство Ленинградского ун-та. – 1982. – 272 с.
8. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
9. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. М. Майорова, В. Э. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
10. Круглікова Г.О. Методи визначення активності глутатіонпероксидази на глутатіонредуктази / Г.О. Круглікова, У.М. Штутман // Укр. біохім. журн. – 1976. – Т. 68, № 2. – С. 223-338.
11. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. – Л.: Изд. ЛГУ, 1982. – 168 с.
12. Кривченкова Р.С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // В кн.: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 47-49.
13. Мамбетова А.Ж. Механизмы кардиопротекторного действия эстрадиола / А.Ж. Мамбетова, А.И. Матюшин // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – Т. 129, № 1. – С. 67-69.
14. Adjunctive 17beta-estradiol administration reduces infarct size by altered expression of canine myocardial connexin43 protein / T.M. Lee, M.S. Lin, T.F. Chou [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2004. – V. 63, N 1. – P. 109-117.