

УДК 612.13+[612.17+576.311.347](591.139)

Г.Л.Вавілова, Н.А.Струтинська, С.В.Тимошук, О.В.Рудик, В.Ф.Сагач

КАРДІОПРОТЕКТОРНА РОЛЬ МЕЛАТОНІНУ ПРИ СТАРІННІ

Відділ фізіології кровообігу(зав. – чл.-кор. НАН України, проф. В.Ф.Сагач)
Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, м. Київ

Резюме. Досліджували вплив гормону епіфіза мелатоніну на ішемічну толерантність і чутливість мітохондріальної пори до індукторів Ca^{2+} і фенілларсиноксиду в серці старих щурів. На моделі ізольованого за методом Лангендорфа серця показано, що двотижневе введення *in vivo* старим щурам мелатоніну (1,5 мг/кг маси) сприяло більш ефективному відновленню функціональних показників ізольованого серця при ішемії-реперфузії щодо тварин, яким не вводили цього препарату, а також зменшувало чутливість мітохондріальної

пори до індукторів її відкриття. Це супроводжувалося значним зменшенням рівня експресії м-РНК проапоптотичного білка *bax* у серці старих щурів. Результати досліджень, в яких встановлено коригувальний відносно відкриття мітохондріальної пори ефект мелатоніну, можуть слугувати основою для рекомендації його використання з метою корекції функціональних порушень серця при старінні організму.

Ключові слова: мелатонін, серце, мітохондріальна поря, *Bax*, старіння.

Вступ. Відомо, що індукція мітохондріальної пори – МП – (mitochondrial permeability transition pore, МРТР) відіграє ключову роль у клітинних порушеннях за умов оксидативного стресу і є однією з ланок патогенезу таких станів, як гіпоксичний, діабет, хвороба Паркінсона, ішемічно-реперфузійні ушкодження серця тощо [7]. Тому в останні роки вивчення ролі МП при різних захворюваннях набуває актуальності [9]. Серед залежних від віку причин захворювань м'язової, нервової та імунної систем організму визначають дисфункцію мітохондрій, пов'язану, зокрема, з підвищенням чутливості МП до індукторів її відкриття, таких, як Ca^{2+} , модифікатор SH-груп фенілларсиноксид (ФАО), проапоптотичний білок *bax* [8]. На сьогодні ведеться пошук нетоксичних речовин із інгібуючим ефектом щодо відкриття МП. Так, для профілактики передчасного старіння, яке супроводжується проявом вікових патологічних станів у людини, та для підвищення резистентності організму перспективним вважають використання таких антиоксидантів, як епіталамін, карнозин, вітамін Е, коензим Q, а також гормон епіфіза мелатонін, які пригнічують вільнорадикальні процеси в організмі [1, 2]. Дослідження впливу речовин-антиоксидантів, зокрема і мелатоніну, з їх потенційно модульовальною дією відносно чутливості МП до індукторів її відкриття становить значний інтерес щодо корекції залежних від віку функціональних змін серця.

Мета дослідження. Дослідити вплив *in vivo* курсового введення старим щурам мелатоніну на показники функціонального стану ізольованого за методом Лангендорфа серця за умов його ішемії-реперфузії, на чутливість МП до індукторів її відкриття – Ca^{2+} та ФАО та експресію м-РНК *bax* у серці старих щурів.

Матеріал і методи. В експериментах використовували білих щурів-самців лінії Вістар віком 5-6 міс. (дорослі) та 24-27 міс. (старі), яких утримували на стандартному раціоні віварію Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України. Тварин наркотизували шляхом внутрішньоочеревинного введення розчину уретану (1,0 г/кг).

Реєстрація показників скоротливої функції ізольованого серця щурів проводили за класичним методом Лангендорфа [5].

Дослідження відкриття мітохондріальної пори. Мітохондрії виділяли методом диференційного центрифугування в нашій модифікації, як описано [3]. Дослідження відкриття МП проводили шляхом спектрофотометричної реєстрації при $\lambda=520$ нм набряк суспензії мітохондрій серця щурів, як описано [4].

Визначення експресії м-РНК проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції у варіанті зворотної транскрипції з використанням комерційної тест-системи АмпліСенс-200-1 на приладі АМПЛИКОН-24 (Україна) та олігонуклеотидних праймерів (SYNTOL, Росія) (30 пкмоль/мл), комплементарних до відповідних ділянок генів *bax* [5].

Курсове введення старим щурам мелатоніну. Курсове введення старим щурам мелатоніну здійснювали шляхом внутрішньоочеревинного введення препарату (1,5 мг/кг) у другій половині дня протягом 14 діб.

Результати дослідження та їх обговорення. Раніше в дослідях *in vivo* та *in vitro* на ізольованих мітохондріях із серця дорослих щурів за умов моделювання оксидативного стресу за допомогою ФАО та аноксії-реоксигенації показано здатність антиоксидантів – тролоксу (водорозчинна форма вітаміну Е) та, зокрема, мелатоніну запобігати вивільненню мітохондріального чинника (МФ) як показника відкриття МП [3].

Виходячи з того, що однією з ключових ланок процесу фізіологічного старіння організму є накопичення та тривала токсична дія вільних радикалів, які є індукторами відкриття МП і, ймовірно, однією з причин підвищеної її чутливості, виникла потреба дослідити вплив антиоксиданта мелатоніну щодо чутливості відкриття МП при старінні. Вибір мелатоніну зумовлений тим, що цьому гормону шишкоподібної залози відводять роль прямого інгібітора відкриття МП [3, 6]. Крім того, мелатонін є менш токсичним порівняно з імунодепресантом циклоспори-

ном А – класичним інгібітором МП, який використовується в медичній практиці.

Вплив курсового уведення мелатоніну на функціональний стан серця старих щурів. Результати експериментів на ізольованому за методом Лангендорфа серці показали, що 40-хвилинна реперфузія після 30-хвилинної тотальної ішемії серця щурів призводить до загального погіршення скоротливої функції серця. Курсове уведення мелатоніну старим щурам виявило коригувальний ефект щодо відновлення окремих функціональних показників роботи ізольованого серця за умов його ішемії-реперфузії. Так, на 40-й хвилині реперфузії ізольованого серця старих щурів, яким вводили мелатонін, тиск у порожнині лівого шлуночка ($P_{лш}$) становив 75 ± 2 % відносно вихідного значення. Це в середньому на 31% більше цього показника в серці старих щурів без курсового уведення мелатоніну (рис.1, а).

Значення $dP/dt \max$ на 40-й хвилині реперфузії в групі з мелатоніном в середньому на 44 % перевищувало значення $dP/dt \max$ у контрольних старих щурів і становило 94 ± 12 %. Продемонстровано, що значення $dP/dt \min$ на 40-й хвилині реперфузії ізольованого серця старих щурів, яким вводили мелатонін, у середньому на 59 % перевищувало значення $dP/dt \max$ у серці контрольних старих щурів і становило 102 ± 15 (рис. 1,б).

Вплив курсового уведення мелатоніну старим щурам на чутливість мітохондріальної пори до дії індукторів її відкриття. Для перевірки припущення того, що коригувальний щодо функціонального стану серця старих щурів за умов ішемії-реперфузії ефект курсового уведення мелатоніну може бути зумовлений тривалим пригніченням відкриття МП у серці старих щурів, досліджували його вплив на чутливість МП до індукторів її відкриття – Ca^{2+} і (FAO). Показано, що мітохондрії серця старих щурів, які отримували мелатонін, мають значно меншу величину набряку за умов дії Ca^{2+} порівняно зі старими тваринами (рис.2, а). Зокрема, величина набряку таких мітохондрій при дії Ca^{2+} (10^{-4} моль/л) зменшувалася майже вдвічі, порівняно з контрольними старими тваринами, і наближалася до такої у дорослих тварин [4]. Крім того, у старих щурів, які отримували мелатонін, спостерігали значне пригнічення FAO-індукованого набряку мітохондрій серця. Зокрема, для таких мітохондрій характерне зме-

нення величини їх набряку за умов дії FAO в концентрації 10^{-5} моль/л, порівняно зі старими тваринами (рис. 2, б).

Навіть уведення FAO в концентрації 10^{-4} моль/л не призводило до такого значного набряку мітохондрій серця щурів, яким вводили мелатонін, яке спостерігається на мітохондріях серця старих щурів за умов дії FAO в концентрації 10^{-5} моль/л. Це свідчить про те, що курсове уведення мелатоніну зменшує чутливість FAO-індукованого відкриття МП на 1-2 порядки і наближає її до такої в дорослих тварин. Циклоспорин А (10^{-5} моль/л) повністю інгібував FAO-індуковане набухання мітохондрій серця старих щурів, яким вводили мелатонін. Цього не спостерігали на мітохондріях серця контрольних старих тварин, яким не вводили мелатоніну, і для яких, як було показано нами раніше [4], характерне часткове інгібування циклоспорином А FAO-індукований набряк мітохондрій.

Отже, курсове уведення мелатоніну старим щурам зменшує чутливість МП до індукторів її відкриття – Ca^{2+} і (FAO), тобто в певній мірі сприяє відновленню проникності мітохондріальних мембран.

Дослідження впливу курсового уведення мелатоніну на експресію м-РНК Вах у серці старих щурів. Курсове уведення мелатоніну також зменшувало базальний рівень експресії м-РНК Вах у серці старих щурів (рис. 3), який, як показано нами раніше [4], підвищується з віком.

Зменшення експресії м-РНК проапоптотичного білка вах у серці старих щурів після курсу мелатоніну, у той час як рівень його експресії є початково збільшений у серці порівняно з дорослими тваринами, безумовно є проявом позитивної коригувальної його дії на серце старих щурів. Це, насамперед, свідчить про те, що в серці старих щурів після курсового уведення мелатоніну зменшується кількість апоптотичних клітин, а також тих клітин, що потенційно можуть бути залучені на шлях запрограмованої загибелі клітин і тим самим погіршувати сприйняття старим серцем різних несприятливих чинників, серед яких є ішемічно-реперфузійний. Розглядаючи Вах як один із компонентів МП, можна припустити, що він може брати участь як у відкритті МП, так і зміні чутливості МП до індукторів її відкриття при старінні.

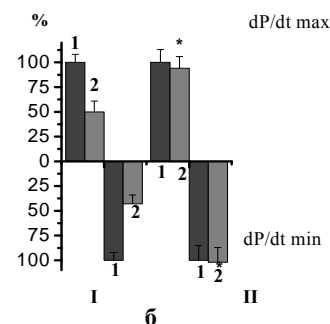
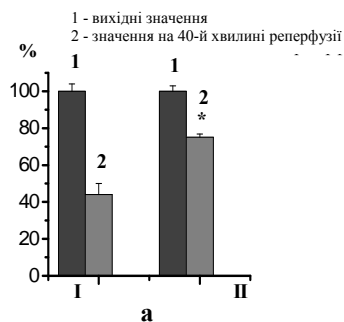


Рис.1. Відновлення скоротливої функції серця за умов ішемії-реперфузії після впливу курсового уведення старим щурам мелатоніну: а – тиск, що розвиває лівий шлуночок; б – dP/dt ; I – контроль (n=11); II – уведення мелатоніну (n=5). Примітка. * – тут і на рис. 2 різниця порівняно з контролем вірогідна

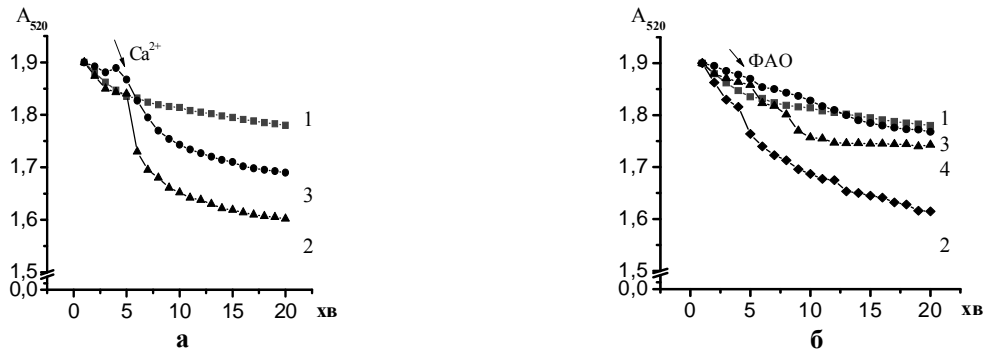
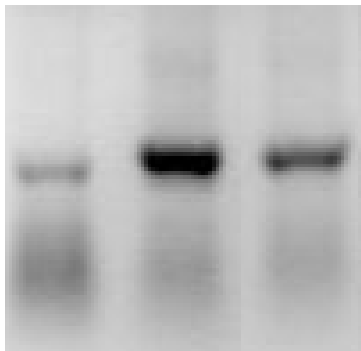


Рис. 2. Типові криві кальцій-індукованого набухання мітохондрій (а): 1 – контроль; 2 – дія Ca^{2+} на мітохондрії серця старих тварин; 3 – дія Ca^{2+} на мітохондрії серця старих шурів, яким вводили мелатонін. Типові криві FAO-індукованого набухання мітохондрій (б): 1 – контроль; 2 - дія FAO (10^{-5} моль/л) на мітохондрії серця старих шурів; 3, 4 – дія FAO (10^{-5} і 10^{-4} моль/л відповідно) на мітохондрії серця старих шурів, яким вводили мелатонін



487 п.о.

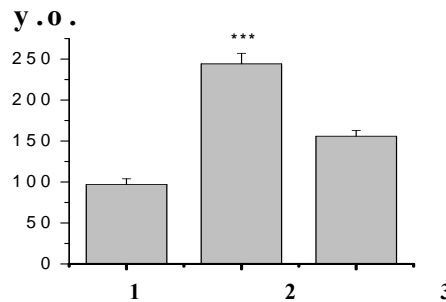


Рис. 3. Експресія мРНК *Bax* у серці шурів: 1 – дорослі шури (n=3); 2 – старі шури (n=3); 3 – старі шури після курсового уведення їм мелатоніну (n=3). (п.о. – пари основ)

Отримані нами результати дають підставу стверджувати, що курсове уведення мелатоніну виявляє загальний коригувальний ефект щодо відновлення функціонального стану серця при старінні. Це супроводжується зменшенням чутливості МП до індукторів її відкриття в серці старих шурів, тобто відновленням до такої, яку спостерігали в дорослих тварин, а також зменшенням загального рівня експресії м-РНК *bax* у серці старих тварин. Отримані результати підтверджують участь МП у розвитку змін функціонального стану серця за умов ішемії-реперфузії в старих шурів і нормалізації цього стану після курсового уведення шурам мелатоніну.

Висновки

1. Двотижневе курсове уведення *in vivo* старим шурам мелатоніну сприяє відновленню функціонального стану серця при ішемії-реперфузії.
2. Курсове уведення мелатоніну старим шурам зменшує чутливість МП до дії Ca^{2+} і FAO, а також зменшує рівень експресії м-РНК *Bax* у серці тварин.

Література

1. Кветная Т.В. Мелатонин: роль и значение в возрастной патологии / Т.В.Кветная, И.В.Князькин – СПб.: ВМедА, 2003. – 93с.
2. Сагач В.Ф. Пригнічення мітохондріальної пори як один із механізмів кардіопротекторної дії коензиму Q_{10} / В.Ф.Сагач, Г.Л.Вавілова, О.В.Рудик // Фізіол. ж. – 2007. – Т. 52, № 4. – С. 35-42.

3. Вплив індукторів та інгібіторів мітохондріальної пори на її утворення та на вивільнення неіндукованого мітохондріального фактора / В.Ф.Сагач, Г.Л.Вавілова, Н.А.Струтинська [та ін.] // Фізіол. ж. – 2003. – Т. 49, № 1. – С. 3-12.
4. Старіння підвищує чутливість до індукторів мітохондріальної пори в серці шурів / В.Ф.Сагач, Г.Л.Вавілова, О.В.Рудик [та ін.] // Фізіол. ж. – 2004. – Т. 50, № 2. – С. 49-63.
5. Мелатонін відновлює ішемічну толерантність та зменшує чутливість відкриття мітохондріальної пори в серці старих шурів / В.Ф.Сагач, О.В.Рудик, Г.Л.Вавілова [та ін.] // Фізіол. ж. – 2006. – Т. 52, № 3. – С. 3-14.
6. Direct inhibition of the mitochondrial permeability transition pore: a possible mechanism responsible for anti-apoptotic effects of melatonin. / S.Andrabi, I.Sayeed, D.Siemen [et al.] // FASEB J. – 2004. – Vol. 18, № 7. – P. 869-871.
7. Duchen M.R. Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology / M.R.Duchen // Mol. Aspects Med. – 2004. – Vol. 25, № 4. – P. 365-451.
8. Mather M.W. Aging enhances the activation of the permeability transition pore in mitochondria / M.W.Mather, H.Rottenberg // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2000. – Vol. 273, № 2. – P. 603-608.
9. Zoratti M. Mitochondrial permeability transitions: how many doors to the house? / M.Zoratti, I.Szabo, U.De Marchi // Biochim. Biophys. Acta. – 2005. – Vol. 1706, № 1-2. – P. 40-52.

КАРДИОПРОТЕКТОРНА РОЛЬ МЕЛАТОНИНА ПРИ СТАРЕННІ*Г.Л.Вавилова, Н.А.Струтинская, С.В.Тимощук, Е.В.Рудык, В.Ф.Сагач*

Резюме. Исследовали влияние гормона эпифиза мелатонина на ишемическую толерантность и чувствительность митохондриальной поры к индукторам её открывания – Ca^{2+} и фенилларсеноксиду в сердце старых крыс. На модели изолированного по Лангендорфу сердца крыс показано, что двухнедельное введение *in vivo* старым крысам мелатонина (1,5 мг/кг веса) способствовало более эффективному восстановлению функциональных показателей изолированного сердца при ишемии и реперфузии по сравнению с животными, которым не вводили этот препарат, а также уменьшало чувствительность митохондриальной поры к ее индукторам. Это сопровождалось значительным снижением уровня экспрессии м-РНК проапоптотического белка *bax* в сердце старых крыс. Результаты экспериментов, в которых установлен корректирующий относительно открывания митохондриальной поры эффект мелатонина, могут служить основой для рекомендации его применения с целью коррекции функциональных нарушений сердца при старении организма.

Ключевые слова: мелатонин, сердце, митохондриальная пора, *Bax*, старение.

CARDIOPROTECTIVE ROLE OF MELATONIN WITH AGING*G.L.Vavilova, N.A.Strutynska, S.V.Timoshchuk, O.V.Rudyk, V.F.Sagach*

Abstract. The effect of epiphysial hormone – melatonin on ischemic tolerance and sensitivity of the mitochondrial pore to the inductors of Ca^{2+} and phenylarsenoxide in the heart of old rats was studied. It has been shown on a model of an isolated rat heart according to Langendorf that a two week's *in vivo* injection of melatonin to old rats (1,5 mg/kg of the body weight), contributed to a more effective restoration of the functional indices of the isolated heart in case of ischemia-reperfusion in relation to the animals which were injected this preparation, it also diminished the sensitivity of the mitochondrial pore to its inductors. It was accompanied with a considerable decrease of the level of the expression of m-RNA proapoptotic *bax* protein in the heart of old rats. The results of the studies, dealing with the establishment of the correction effect of melatonin in relation to the opening of the mitochondrial pore, may serve as a basis for a recommendation of its use for the purpose of correcting cardiac dysfunctions with aging of a human organism.

Key words: melatonin, heart, mitochondrial permeability transition pore, *bax*, aging.

O.O.Bogomolets Institute of Physiology of Ukraine's
National Academy of Sciences (Kyiv)

Рецензент – доц. Р.С.Булик

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol. 13, № 4. – P.50-53

Надійшла до редакції 14.07.2009 року

© Г.Л.Вавилова, Н.А.Струтинська, С.В.Тимощук, О.В.Рудик, В.Ф.Сагач, 2009

УДК 616.127-005.8+616.12.-008.331.1

І.І.Вакалюк

**ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ ГІПЕРАЛЬДОСТЕРОНЕМІЇ
У ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ З МЕТАБОЛІЧНИМ
СИНДРОМОМ ТА ПОСТІНФАРКТНИМ КАРДІОСКЛЕРОЗОМ**

Кафедра внутрішніх хвороб стоматологічного факультету (зав. – проф. М.А.Оринчак)
Івано-Франківського національного медичного університету

Резюме. У роботі наведені результати обстеження 44 хворих на артеріальну гіпертензію (АГ) з метаболічним синдромом (МС) та постінфарктним кардіосклерозом. Проведено загальноклінічне та антропометричне обстеження, ПОГТТ з паралельним визначенням рівня глікемії (глюкозооксидазний метод) та рівня ендогенного інсуліну (імуноферментний метод), визначення ліпідного спектра крові, рівня мікроальбумінурії, а також рівня циркулюючого альдостерону в крові. Показано,

що в тяжкості перебігу АГ у хворих на АГ з МС та постінфарктним кардіосклерозом провідна роль належить активації симпатно-адреналової та РААС систем із подальшим збільшенням рівня циркулюючого альдостерону в крові. Доведено, що рівень циркулюючого альдостерону в крові залежить від віку хворих.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, метаболічний синдром, постінфарктний кардіосклероз, гіперальдостеронемія.

Вступ. Артеріальна гіпертензія (АГ) є важливою медичною та соціально-економічною проблемою України та всього світу. Перебіг АГ та ризик виникнення ранніх ускладнень тісно пов'язаний з наявністю чинників ризику – компонентів

метаболічного синдрому (МС), а саме: абдомінальним ожирінням, дисліпідемією, мікроальбумінурією (МАУ), гіперінсулінемією чи цукровим діабетом 2-го типу [2]. В основі розвитку та прогресування АГ лежить хронічний дисбаланс ней-