

А.М. Пузиренко, І.С. Чекман, Т.П. Куфтирева, Н.О. Горчакова

Вплив амлодипіну та бісопрололу на ультраструктуру міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією

Блокатори кальцієвих каналів та β_1 -адреноблокатори – одні з основних груп антигіпертензивних препаратів. Але на сьогоднішній день їх здатність проявляти протекторний вплив на клітини органів-мішеней вивчена недостатньо. У нашому дослідженні амлодипін вводили у дозі 10 мг/кг, бісопролол – 25 мг/кг через орогастральний зонд щурам зі спонтанною артеріальною гіпертензією протягом 3 міс. За допомогою електронної мікроскопії проведено якісну та кількісну оцінку ультраструктурних особливостей міокарда щурів. Амлодипін значно покращував ультраструктуру міокарда, усував надмірне скорочення міофібрил. Він також сприяв злиттю мітохондрій, яке має компенсаторний характер на тлі гарної збереженості мітохондріальної ультраструктури. Ще однією особливістю дії амлодипіну є значне збільшення числа кровоносних капілярів з ознаками активації біосинтетичних процесів в ендотеліальних клітинах. Бісопролол суттєво зменшував прояви надмірного скорочення міофібрил, але ознаки дистрофічно-деструктивних процесів у міофібрилах та мітохондріях кардіоміоцитів залишалися. Покращувався стан ендотеліальних клітин, але функціональна активність в цих клітинах не посилювалася. Сумісне застосування двох антигіпертензивних препаратів – амлодипіну та бісопрололу призводило до кращого відновлення міофібрил, ніж при їх окремому використанні, тоді як вплив на мітохондрії відмічався аналогічний щодо групи щурів, які отримували бісопролол, тобто гірший, ніж при монотерапії амлодипіном. Не виявлено доцільності комплексного застосування цих препаратів і за станом кровоносних мікросудин, хоча їх кількість зростає на фоні лікування амлодипіном і бісопрололом у порівнянні з щурами зі спонтанною артеріальною гіпертензією, але значно меншою мірою, ніж при монотерапії амлодипіном. Така протекторна дія амлодипіну (менш істотна бісопрололу) на клітини серця щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією може стати додатковим фактором у лікуванні гіпертонії, особливо коли вона поєднується з виникаючими патологічними змінами в серці.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, амлодипін, бісопролол, ультраструктура кардіоміоцита, мітохондрії, кровоносні судини.

ВСТУП

Тісний анатомо-функціональний зв'язок різних систем організму і складні механізми їх регуляції сприяють розвитку метаболічних, функціональних і структурних порушень в органах при артеріальній гіпертензії. Це зумовлює необхідність комплексного підходу до підбору для антигіпертензивної терапії ефективних серцево-судинних засобів, які будуть не тільки достатньою мірою знижувати підвищений артеріальний тиск, а й

проявляти цитопротекторні властивості. У зв'язку з вищезазначеним важливим завданням є пошук антигіпертензивних препаратів з цитопротекторною дією.

В останні роки за частотою призначень при лікуванні артеріальної гіпертензії блокатор кальцієвих каналів III покоління амлодипін посідає одне з провідних місць, що зумовлено його ефективною терапевтичною дією як антигіпертензивного засобу [5, 19]. Також, незважаючи на широку дискусію щодо β -адреноблокаторів, бісопролол залишається

© А.М. Пузиренко, І.С. Чекман, Т.П. Куфтирева, Н.О. Горчакова

не менш популярним препаратом серед групи антигіпертензивних засобів [4, 24]. Проте наразі не проводилося детальних досліджень щодо впливу цих медикаментів на ультраструктуру серця з морфометричним аналізом отриманих даних [10, 11, 20–22].

Метою нашого дослідження було вивчення дії амлодипіну та бісопрололу на ультраструктуру міокарда у щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією та проведення морфометричного аналізу мітохондрій кардіоцитів.

МЕТОДИКА

У дослідях використовували субстанції амлодипіну (“Glochem Industries Limited”, Індія) та бісопрололу (ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна). Щури лінії Вістар-Кіото з нормальним артеріальним тиском та щури зі спонтанною артеріальною гіпертензією (САГ) [3], обох статей були надані віварієм Національного медичного університету. Тварин утримували у приміщенні з постійною температурою (23–25°C) і достатнім природним освітленням. Вони мали вільний доступ до стандартного раціону харчування та води. Всі експериментальні дослідження проводили з дотриманням етичних норм (Directive 86/609/EEC) та з дозволу етичної комісії Національного медичного університету (Експертний висновок № 62 від 05.IV.2012).

Дослідні тварини були розділені на 5 груп (по 7 щурів у кожній групі): дві контрольні та три дослідні. До I контрольної групи ввійшли щури з нормальним артеріальним тиском, до II – щури із САГ. Тварини дослідних груп отримували 10 мг/кг амлодипіну (III група), 25 мг/кг бісопрололу (IV група) і їх комбінацію (V група). Препарати вводили один раз на добу через орогастральний зонд протягом 3 міс. Носієм (розчинником) для всіх препаратів була вода [1]. Після ентерального введення досліджуваних речовин, тварин до їжі допускали через 4 год.

Умови досліджень визначали застосу-

ванням препаратів у клінічній практиці, а також особливостями їх фармакокінетики та коефіцієнта видової чутливості. Вибір доз амлодипіну та бісопрололу базувався на даних попередніх пошукових досліджень [6, 9, 14, 16, 17]. Лімітуючим фактором при виборі дози для цих препаратів була максимальна доза речовин четвертого класу токсичності при внутрішньошлунковому введенні.

Для електронно-мікроскопічних досліджень матеріалом був міокард лівого шлуночка серця, який отримували після введення щурів у наркоз за допомогою кетаміну. Досліджувані фрагменти міокарда щурів спочатку фіксували за допомогою 2,5%-го розчину глутаральдегіду в 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4) протягом 1 год. Потім зразки промивали тричі 0,1 М фосфатним буфером (рН 7,4). Наступний крок полягав у фіксації матеріалу 1%-м розчином чотириокису осмію у тому самому буферному розчині впродовж години. Зневоднювали зразки у спиртах зростаючої концентрації (від 70 до 100 %) та ацетоном, з наступним зануренням у суміш епону та аралдиту, згідно з загальноприйнятою методикою [2]. Напів- та ультратонкі зрізи з блоків отримували на ультратомах LKB (Швеція) та Reichert (Австрія). Ультратонкі зрізи контрастували 2%-м розчином ураніацетату та цитратом свинцю. Препарати міокарда досліджували за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К.

Морфометричні дослідження проведені за допомогою програми “ОРГАНЕЛА” на напівавтоматичному пристрої обробки графічних зображень. У кожній дослідній групі обробці підлягали 30 зон міокарда при збільшенні в 20–27 тисяч разів. Визначали об’ємну та кількісну щільність мітохондрій у цитоплазмі каріоміоцитів, площу зрізу цих органел.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою статистичної програми MS Excel 97. Розраховували середнє арифметичне значення (M), середнє квадратичне відхилення, похибку середньої арифметичної (m); отримані результати ви-

ражали у вигляді $M \pm m$. Вірогідність різниці між кількісними значеннями двох вибірко-вих сукупностей оцінювали за критерієм t Стьюдента при нормальному розподілі ознак. Відмінності між показниками, що порівнювалися, вважали достовірними при рівні значимості $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Електронно-мікроскопічний аналіз отриманих результатів показав, що ультраструктурна організація міокарда лівого шлуночка щурів лінії Вістар-Киото не має ознак порушень. Кардіоміоцити містять міофібрили, організовані у типові саркомери, де розрізняються диски А та І, які в сусідніх міофібрилах розташовуються приблизно на одному рівні. Мітохондрії овальної або витягнутої форми, з чітко структурованою зовнішньою мембраною, матриксом помірної електронної щільності та кристами, розташованими переважно паралельно.

Морфометричний аналіз показав, що мітохондрії займають $30,3 \pm 2,9\%$ об'єму кардіоміоцитів (таблиця, рис. 1). Їх кількісна щільність становить $(51,1 \pm 5,20) \cdot 10^{-2}/\text{мкм}^3$ при середній площі зрізу $(41,3 \pm 2,04) \cdot 10^{-2} \text{ мкм}^2$.

Кровоносні мікросудини здебільшого мають розкритий просвіт, куди виступає ядровмісна зона ендотеліоцитів, периферичні ділянки цих клітин помірної товщини, містять переважно мікропіноцитозні пухирці.

Основною відмінністю міокарда лівого шлуночка серця щурів із САГ, від тварин з нормальним артеріальним тиском на електронно-мікроскопічному рівні є мозаїчність ультраструктури кардіоміоцитів, що зумовлено різним ступенем і поширеністю пошкоджень, які стосуються, в першу чергу, скоротливого та енергетичного апаратів цих клітин.

Лише поодинокі кардіоміоцити містять міофібрили без деструктивних ознак. Спостерігається лізис міофіламентів, який іноді поширюється на весь саркомер. Міофібрили значною мірою скорочені, внаслідок чого в саркомерах не розрізняються диски А та І, а Z-лінії різко зближені (рис. 2,а).

Порушення скоротливих структур міокарда корелюють зі змінами вставних дисків, до яких вони кріпляться. В одних кардіоміоцитах спостерігається розширення щілини, внаслідок розходження плазматичних мембран сусідніх кардіоміоцитів, в інших – ділянки плазмалем закручуються, в них змінюється порядок розташування десмосомальних і щілинних з'єднань.

З порушеннями скоротливості кардіоміоцитів можуть бути також пов'язані зміни, що відбуваються з системою Т-трубочок і саркоплазматичною сіткою, взаємодія яких зумовлює вивільнення та акумуляцію кальцію в кардіоміоцитах і чергування скорочення та розслаблення міофіламентів. У щурів із САГ каналця цієї системи повсюдно розширені, Т-трубочки глибоко проникають у кардіоміоцит, що і викликає, очевидно, підвищене

Морфометричні показники, що характеризують зміни мітохондрій у кардіоміоцитах щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією та під впливом курсового (3 міс) введення амлодипіну та бісопрололу ($M \pm m$; $n=30$)

Групи тварин	Об'ємна щільність, %	Кількісна щільність, $10^{-2}/\text{мкм}^3$	Площа зрізу, 10^{-2} мкм^2
Контроль 1	$30,3 \pm 2,9$	$51,1 \pm 5,2$	$41,3 \pm 2,04$
Контроль 2	$21,16 \pm 2,47^*$	$59,21 \pm 10,63$	$31,96 \pm 1,53^*$
Тварини, яким вводили			
амлодипін	$27,46 \pm 1,76^{**}$	$21,38 \pm 4,36^{*,**}$	$81,16 \pm 7,69^{*,**}$
бісопролол	$24,46 \pm 1,45^*$	$55,05 \pm 3,90$	$35,07 \pm 1,90^*$
амлодипін і бісопролол	$22,41 \pm 2,64^*$	$65,91 \pm 10,13$	$32,93 \pm 1,89^*$

* вірогідність відносно контрольної групи 1, ** відносно контрольної групи 2.

вивільнення кальцію і, відповідно, посилене скорочення міофібрил.

При артеріальній гіпертензії мітохондрії в кардіоміоцитах лівого шлуночка часто набувають хвилястого вигляду через інвагінації зовнішньої мембрани. подекуди спостерігається локальний лізис зовнішніх мембран, який іноді поширюється на всю мітохондрію, так що в цитоплазмі залишаються одні внутрішні мембрани – кристи (див. рис. 2,б).

Морфометричний аналіз в свою чергу показав, що кількість мітохондрій у 1 мкм^3 не відрізняється від такої у здорових тварин (див. таблицю). При цьому їхня об'ємна щільність вірогідно менша, що відбувається внаслідок зниження середньої площі зрізу. Водночас аналіз розподілу мітохондрій за площею показав, що в кардіоміоцитах щурів із САГ на фоні превалюючого збільшення числа дрібних мітохондрій з'являється невелика кількість крупних органел, що не було

притаманно тваринам з нормальним артеріальним тиском (див. рис. 1). А той факт, що найбільш крупні мітохондрії набряклі, дає підставу розглядати таке збільшення розміру цих органел не як компенсаторну гіпертрофію, а як прояв дистрофічних процесів.

Амлодипін значною мірою нормалізує ультраструктуру міокарда, але повністю не відновлює його. Так, цей антигіпертензивний препарат запобігає посиленню скоротливості міофібрил, а збереженість зовнішніх і внутрішніх мембран мітохондрій значно краща, ніж у щурів із САГ (рис. 3,а). Більш повний опис цієї частини нашого дослідження викладено у нашій праці [18].

Результати проведеного морфометричного аналізу (див. таблицю, рис. 1) дають підставу вважати, що амлодипін викликає злиття мітохондрій, яке, враховуючи добру збереженість їхньої ультраструктури, має компенсаторну спрямованість на фоні вазо-

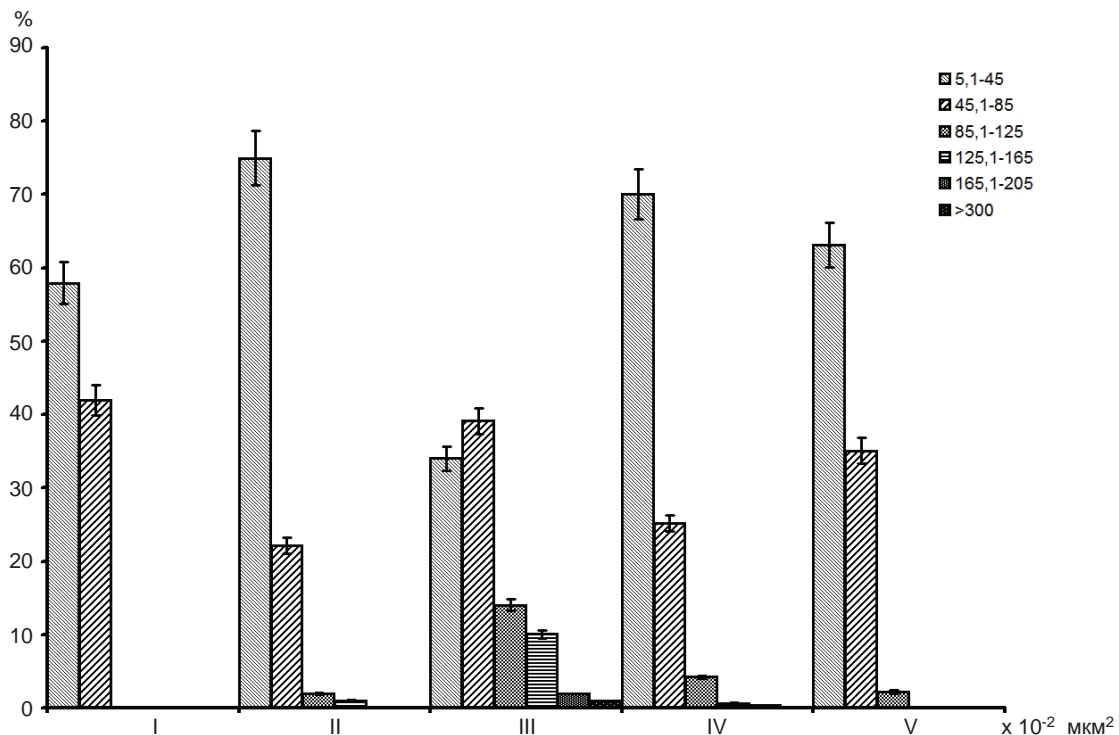


Рис. 1. Розподіл мітохондрій за площею у щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією та під впливом амлодипіну і бісопрололу: I – щури з нормальним артеріальним тиском, II – щури з гіпертензією, III–IV – щури, яким вводили амлодипін і бісопролол і їх комбінацію відповідно. За віссю абсцис – площа зрізу мітохондрій (10^{-2} мкм^2); за віссю ординат – кількість мітохондрій (%). Різною штриховкою відображені групи мітохондрій залежно від діапазону величини площі

дилатації коронарних артерій і покращення перфузії міокарда. Таке злиття мітохондрій може пояснюватися активацією мітофузинів їх зовнішніх і внутрішніх мембран під впливом ефектів, які може викликати амлодипін [7, 8, 15].

Однією із особливостей дії амлодипіну є значне збільшення кількості кровоносних капілярів (див. рис. 3,б). У цитоплазмі ендотеліальних клітин цих гемокапілярів поширені рибосоми, полісоми, каналці ендоплазматичної сітки, ядра рівномірно заповнені хроматином, що є ознакою їх біосинтетичної активності (див. рис. 3,в). Невеликі діаметри, розкриті просвіти, близьке розташування капілярів свідчать про їх активне новоутворення, що відновлює зменшене при артеріальній гіпертензії число цих мікросудин. Такий ангіогенез, певно, зумовлений нормалізуючим

впливом амлодипіну на вміст синтази оксиду азоту та підвищенням функціональної активності ендотеліоцитів, що значно страждає на фоні підвищеного артеріального тиску. А як ми знаємо, підвищення функціональної активності ендотеліоцитів – це основний момент для ініціації міграції та поділу даних клітин [12, 13, 23, 25]. Ці новоутворені судини можуть сприяти зменшенню пошкоджень тканин, що пов'язані з недостатністю кровопостачання.

Курс лікування бісопрололом значною мірою нормалізує ультраструктуру міокарда, але повністю не відновлює його. Значна кількість кардіоміоцитів містить міофібрили, організовані у типові саркомери однакової довжини. Разом з тим спостерігаються ділянки розходжень міофіламентів та часткова або навіть повна відсутність одного-двох сарко-

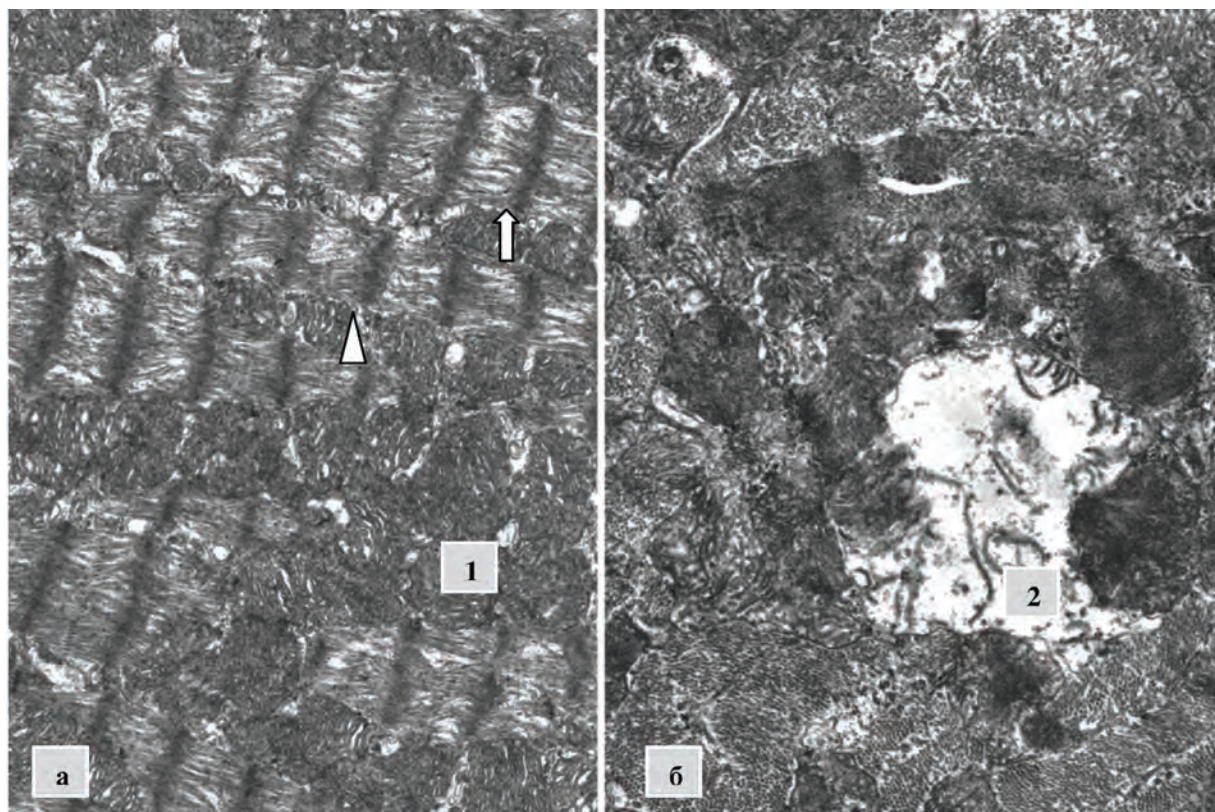


Рис. 2. Фрагменти міокарда лівого шлуночка серця шурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією (електронно-мікроскопічні фото): а – перескорочені міофібрили (Δ); ділянки розходження (\uparrow) міофібрил; електронно-щільні (1) мітохондрії у кардіоміоцитах. Збільшення 19500. На б – набрякла мітохондрія з залишками крист (2). Збільшення 16000

мерів у міофібрилах. Відмічаються крім того міофібрили з ознаками нерівномірного скорочення, але надмірного скорочення структур не спостерігається. Відсутність останніх позитивно відображується і на вставних дисках, де зникають ділянки розходження сусідніх плазмолем (рис. 4,а,б).

T-трубочки та каналці саркоплазматичної сітки без суттєвих порушень і не відрізняються від цих же структур у щурів з нормальним артеріальним тиском. Мітохондрії мають переважно витягнуту форму. Слід однак відмітити, що зовнішня мембрана, як і у щурів із САГ, яких не лукували, подекуди не зберігає своєї цілісності, але поширеність таких органел суттєво менша після лікування бісопрололом (див. рис. 4,б).

Морфометричний аналіз показав, що при лікуванні бісопрололом кількісна щільність, як і об'ємна щільність і площа зрізу мітохондрій залишаються статистично однотипними з показниками у щурів без лікування (див. таблицю). Також у цих групах відсутня різниця в розподілі мітохондрій за площею (див. рис. 1). Разом з тим зіставлення результатів якісного та кількісного аналізу свідчить про різну спрямованість процесів в мітохондріях щурів в цих групах. Відсутність органел з ознаками лізису та набряку дає підставу вважати, що після курсу лікування бісопрололом у кардіоміоцитах розвиваються компенсаторні процеси, тоді як при артеріальній гіпертензії – деструктивно-дистрофічні процеси. Крім того, майже вдвічі більший, ніж у щурів з

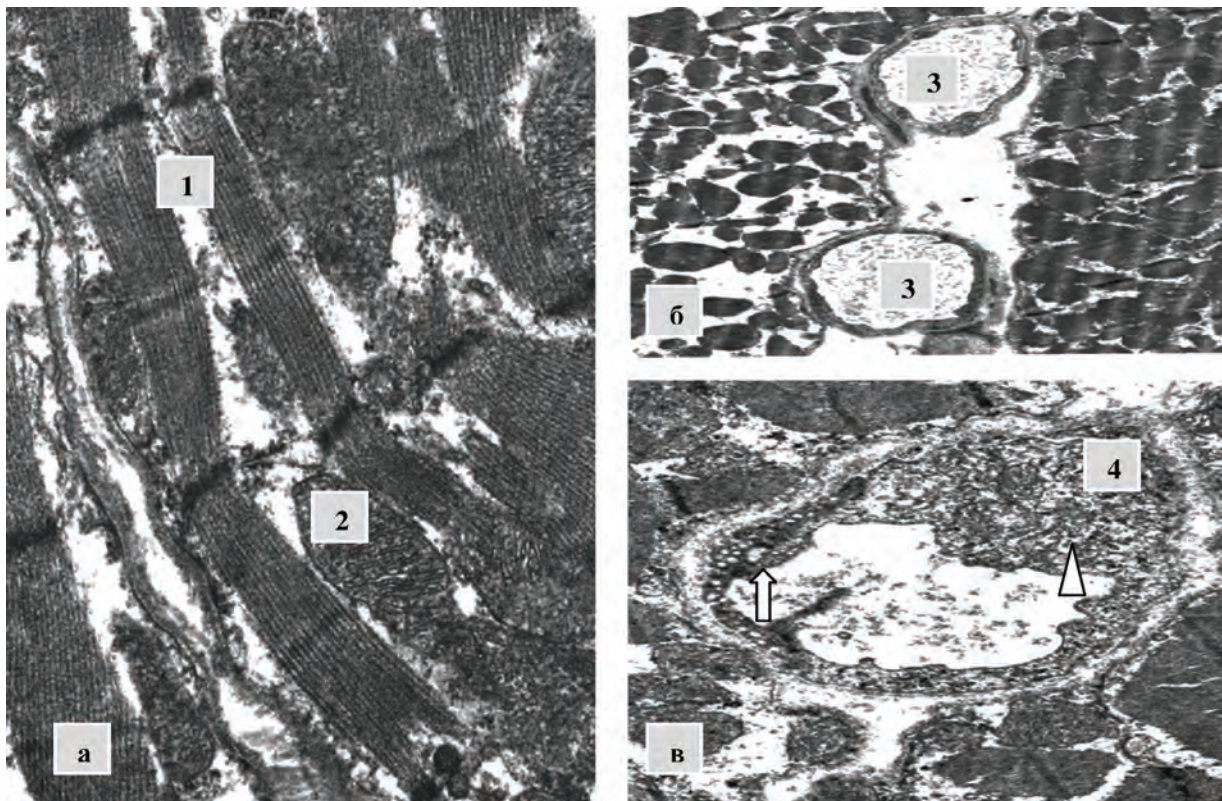


Рис. 3. Фрагменти міокарда лівого шлуночка серця щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією після лікування амлодипіном (електронно-мікроскопічні фото): а – міофібрили без ознак перескорочення (1), мітохондрії (2) в кардіоміоцитах. Збільшення 40000. На б – кровеносні капіляри з розширеними просвітами (3). Збільшення 8000. На в – мітохондрії (4), каналця ендоплазматичної сітки (Δ) в ендотеліоциті помірної електронної щільності. Вакулярні структури (↑) в електроннощільному ендотеліоциті. Збільшення 26000

гіпертензією відсоток найдрібніших мітохондрій (розміром до 7 мкм), може свідчити про спрямованість клітин до компенсаторного новоутворення мітохондрій, на фоні зменшеної енергопотреби кардіоміоцитів, що розвивається при негативному іно- та хронотропному впливі бісопрололу на серце. Ендотеліальні клітини переважно без виразних пошкоджень, що в цілому не відрізняє їх від ендотеліоцитів у здорових тварин.

Комбінована дія двох гіпотензивних препаратів – бісопрололу та амлодіпіну, як і їх окреме застосування, позитивно впливає на скоротливу та енергетичну функцію кардіо-

міоцитів. Так, не спостерігається надмірного скорочення міофібрил, Z-лінії сусідніх саркомерів розташовуються переважно на одному рівні. Разом з тим все ж залишаються ділянки розходження та лізису міофібрил (рис. 5,а).

Мітохондрії дещо різняться за ультраструктурою у різних кардіоміоцитах. Частина з них відновлює цілісність зовнішніх мембран, мають матрикс середньої електронної щільності та помірну кількість крист (див. рис. 5,б). В інших мітохондріях зовнішня мембрана не завжди візуалізується або збережена лише на окремих ділянках (див. рис. 5,в).

Морфометричний аналіз, в свою чергу,

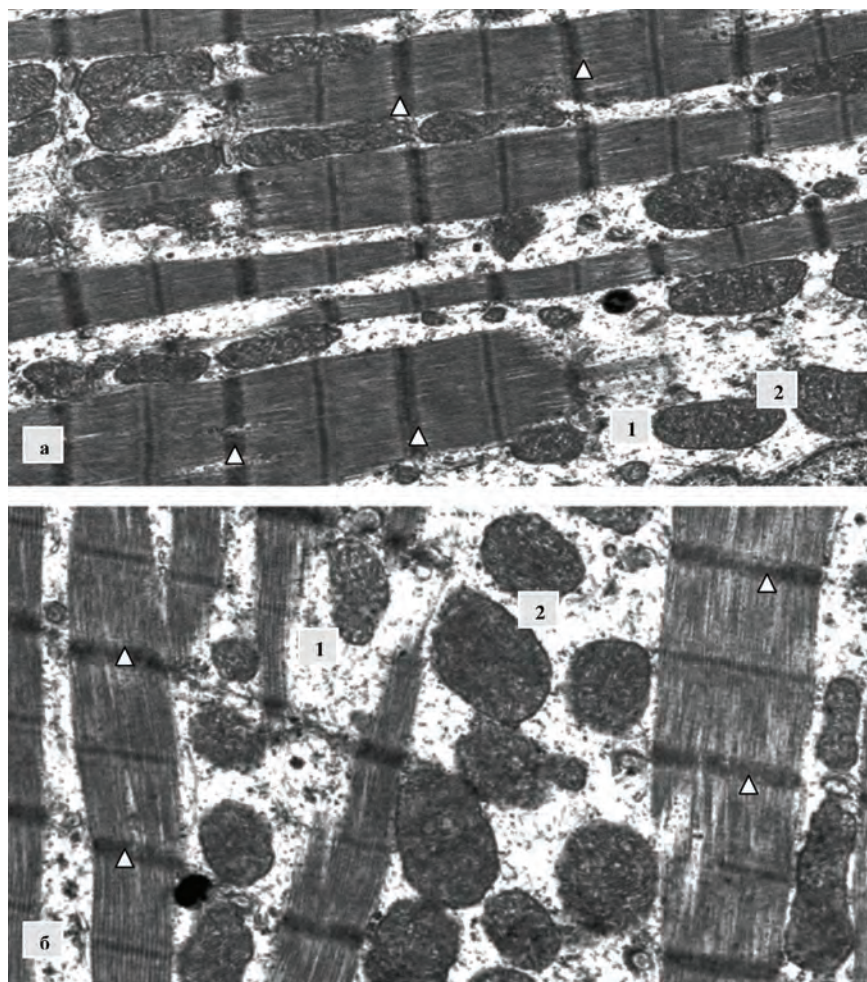


Рис. 4. Фрагменти міокарда лівого шлуночка серця щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією після лікування бісопрололом (електронно-мікроскопічні фото): а, б – Z-лінії (Δ) у типових саркомерах, ділянки лізису міофібрил (1), мітохондрії (2). Збільшення 22000

показав, що кількість мітохондрій в одиниці об'єму цитоплазми кардіоміоцитів вірогідно не змінюється порівняно з цим показником як у тварин з нормальним артеріальним тиском, так і у щурів із САГ (див. таблицю). Водночас їхня об'ємна щільність, не відрізняється від такої у тварин із САГ і залишається вірогідно меншою, ніж у здорових тварин. Причиною такого розподілу є вірогідне зменшення середньої площі мітохондрій, у порівнянні з контролем. І хоча ці морфометричні показники мітохондрій у тварин, яких лікували і яких не лікували не відрізняються, аналіз

розподілу таких органел за площею свідчить про відсутність гігантських мітохондрій після сумісного застосування бісопрололу з амлодипіном, що наявні у щурів із САГ (див. рис. 1).

Також, порівнюючи характер дії бісопрололу та амлодипіну окремо та їх комбінації на кількісні показники мітохондрій, можна бачити, що зміни при комплексному лікуванні однотипні з монотерапією бісопрололом, тоді як амлодипін викликав значне збільшення середньої площі мітохондрій при зменшенні їх кількості.

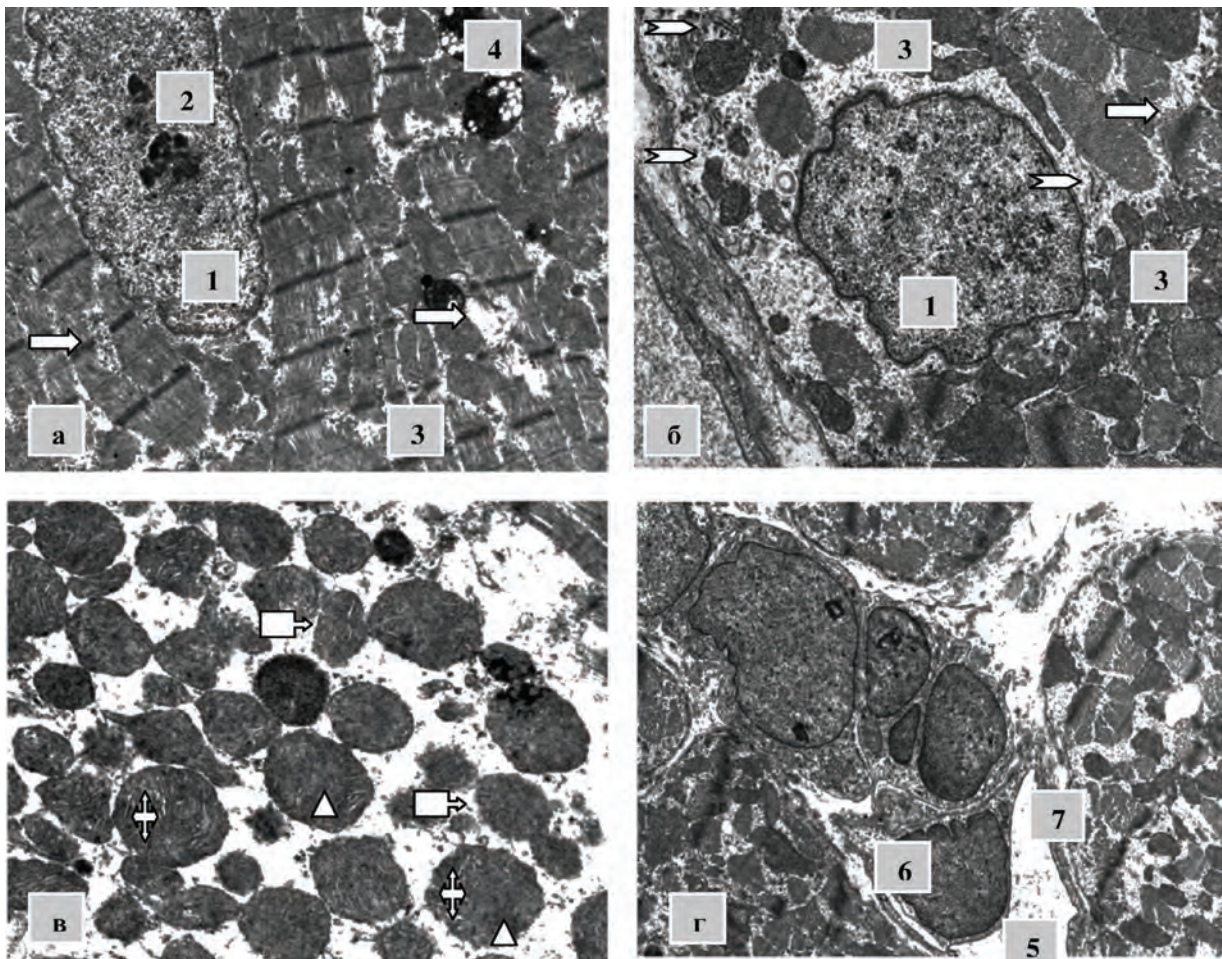


Рис. 5. Фрагменти міокарда лівого шлуночка серця щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією після лікування амлодипіном з бісопрололом (електронно-мікроскопічні фото): а, б – ядро (1), ядерця (2), мітохондрії (3), ділянки лізису міофібрил (⇔), каналця зернистої ендоплазматичної сітки (⊃), залишкові тільця (4) в кардіоміоцитах. Збільшення 19500. На в – неповністю відновлена зовнішня мембрана (⊃), кристи (⊕), матрикс (Δ) у мітохондріях. Збільшення 28000. На г – просвіт кровоносного капіляра (5), ядро (6), стоншені периферичні ділянки ендотеліоцитів (7). Збільшення 10000

Число кровоносних мікросудин у міокарді збільшується у порівнянні з щурами, яких не лікували, але не такою мірою, як при монотерапії амлодипіном. Просвіти мікросудин під сумісним впливом амлодипіну з бисопрололом подекуди відкриті, а інколи звужені (див. рис. 5,г).

ВИСНОВКИ

1. Курсове, протягом трьох місяців, введення амлодипіну призводить до значного покращення ультраструктури міокарда. Цей антигіпертензивний препарат усуває перекорочення міофібрил. Він також сприяє злиттю мітохондрій, яке носить компенсаторний характер на тлі гарної збереженості мітохондріальної ультраструктури. Ще однією особливістю амлодипіну є значне збільшення числа кровоносних капілярів, з ознаками активації біосинтетичних процесів в ендотеліальних клітинах.

2. Курсове, протягом 3 міс, введення бисопрололу призводить до зменшення надмірного скорочення міофібрил, але ознаки дистрофічно-деструктивних процесів у міофібрилах і мітохондріях кардіоміоцитів залишалися. Також покращувався стан ендотеліальних клітин, але посилення функціональної активності в цих клітинах не простежувалося.

3. Сумісне застосування двох антигіпертензивних препаратів – амлодипіну та бисопрололу призводило до кращого відновлення міофібрил, ніж при їх окремому використанні, тоді як вплив на мітохондрії відмічався аналогічний щодо групи щурів, які отримували бисопролол, тобто гірший, ніж при монотерапії амлодипіном. Не виявлено доцільності комплексного застосування цих препаратів і за станом кровоносних мікросудин, число яких на фоні лікування амлодипіном і бисопрололом, хоча і збільшено у порівнянні зі щурами із САГ, але значно меншою мірою, ніж при монотерапії амлодипіном.

А.Н. Пузыренко, И.С. Чекман, Т.П. Куфтырева, Н.А. Горчакова

ВЛИЯНИЕ АМЛОДИПИНА, БИСОПРОЛОЛА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ МИОКАРДА КРЫС СО СПОНТАННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Блокаторы кальциевых каналов и β_1 -адреноблокаторы – одни из основных групп антигипертензивных препаратов. Но, на сегодняшний день их способность оказывать протекторное влияние на клетки органов-мишеней изучена недостаточно. В нашем исследовании амлодипин вводили в дозе 10 мг/кг, бисопролол – 25 мг/кг через орогастральный зонд крысам со спонтанной артериальной гипертензией в течение 3 мес. С помощью электронной микроскопии проведена качественная и количественная оценка ультраструктурных особенностей миокарда крыс. Амлодипин значительно нормализовал ультраструктуру миокарда, устранял чрезмерное сокращение миофибрилл. Он также способствовал слиянию митохондрий, которое носит компенсаторный характер на фоне хорошей сохранности митохондриальной ультраструктуры. Еще одной особенностью действия амлодипина является значительное увеличение числа кровеносных капилляров с признаками активации биосинтетических процессов в эндотелиальных клетках. Бисопролол существенно уменьшал проявления чрезмерного сокращения миофибрилл, но признаки дистрофически-деструктивных процессов в миофибриллах и митохондриях кардиомиоцитов сохранялись. Также улучшалось состояние эндотелиальных клеток, но стимуляция функциональной активности в этих клетках не прослеживалась. Совместное применение двух антигипертензивных препаратов – амлодипина и бисопролола приводило к лучшему восстановлению миофибрилл, чем при их раздельном использовании, тогда как влияние на митохондрии отмечалось аналогичное, что и в группе крыс, получавших бисопролол, то есть хуже, чем при монотерапии амлодипином. Не выявлено целесообразности комплексного применения этих препаратов и по влиянию на состояние кровеносных микрососудов, хотя их количество увеличивается на фоне лечения амлодипином и бисопрололом по сравнению с крысами со спонтанной артериальной гипертензией, но значительно в меньшей степени, чем при монотерапии амлодипином. Такое протективное действие амлодипина (меньше бисопролола) на клетки сердца крыс со спонтанной артериальной гипертензией может стать дополнительным фактором в лечении гипертонии, особенно когда она сочетается с развившимися патологическими изменениями в сердце.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, амлодипин, бисопролол, ультраструктура кардиомиоцита, митохондрии, кровеносные сосуды.

**A.M. Puzyrenko, I.S. Chekman, T.P. Kufyryeva,
N.O. Gorchakova**

THE EFFECT OF AMLODIPINE, BISOPROLOL ON THE MYOCARDIAL ULTRASTRUCTURE OF THE HYPERTENSIVE RATS

Calcium channel blockers and β_1 -adrenoblockers are effective antihypertensive agents, but their cell protective properties are not investigated well. Spontaneously hypertensive rats received a 10 mg/kg/day amlodipine dose and 25 mg/kg/day bisoprolol dose via an orogastric tube during three months. We performed examination of the myocardium's fragments under a scanning electron microscope. Morphometric investigation of mitochondrions we performed using special program what is named "ORGANELLE". Amlodipine significantly normalizes the ultrastructure of the myocardium. This antihypertensive drug prevented the signs of over-contractility of myofibrils. Amlodipine causes the fusion mitochondrions which has compensatory character on the background of good safety of mitochondrial ultrastructures. Another feature of amlodipine is a significant increase in the number of capillaries. Bisoprolol significantly reduced over-contractility of the myofibrils, but the signs of dystrophic-destructive processes in myofibrils and mitochondrions of cardiomyocytes remained. Bisoprolol improved the condition of the endothelial cells, but the activation of the functional activity of these cells has not been observed. The combined use of two antihypertensive drugs amlodipine and bisoprolol led to a better recovery of myofibrils than their separate use, whereas the effect on mitochondrions noted similar as in the group of rats received bisoprolol and that effect was worse than during amlodipine's monotherapy. Also we didn't reveal a reason to combine these drugs after analysis of the effect of the drug combination on the conditions of blood microvessels, which number was increased compared with hypertensive rats, but significantly less than when rats received only amlodipine. These essential cell-protective effects of amlodipine and bisoprolol in spontaneously hypertensive rats could be a significant additional factor in the treatment of hypertension complicated with pathological changes in the heart. Key words: hypertension, amlodipine, bisoprolol, ultrastructure of cardiomyocytes, mitochondrions, blood vessels.

National O.O. Bogomolets Medical University, Department of Pharmacology, Kyiv

Institute of Problems of Pathology of National O.O. Bogomolets Medical University, Department of Electron Microscopy, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Западнюк И.В., Западнюк В.И., Захариев К.А. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.
2. Каруну В.Я. Электронная микроскопия. – К.: Вища школа, 1984. – 208 с.
3. Маркель А.Л., Маслова Л.Н., Шишкина Г.Т. Патологи-

зиологический анализ факторов риска артериальной гипертензии и атеросклероза. – Новосибирск, 1992. – 72 с.

4. Пузыренко А.М., Загородний М.И., Горчакова Н.О. β -Адреноблокатори: сучасні клініко-фармакологічні аспекти застосування в медичній практиці // Укр. наук.-мед. молод. журн. – 2012. – № 1. – С. 9–12.
5. Пузыренко А.М., Горчакова Н.О., Чекман І.С. Довгань Р.С. Сучасні клініко-фармакологічні аспекти застосування блокаторів кальцієвих каналів в медичній практиці // Тас само. – № 3. – С. 30–34.
6. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Докл. АН СССР. – 1979. – № 6. – С. 1513–1516.
7. Chan D. Mitochondrial fusion and fission in mammals // Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. – 2006. – 22. – P. 79–99.
8. Chen H., Vermulst M., Wang Y.E., Chomyn A., Prolla T.A., McCaffery J.M., Chan D.C. Mitochondrial fusion is required for mtDNA stability in skeletal muscle and tolerance of mtDNA mutations // Cell. – 2010. – 14(2). – P. 280–289.
9. Choi S.M., Kim J.E., Ahn B.O. Effects of amlodipine orotate on hypertension-related complications in spontaneously hypertensive rats // Arzneimittelforschung. – 2006. – 56, № 1. – P. 12–17.
10. Hazama F., Ozaki T., Amano S. Scanning electron microscopic study of endothelial cells of cerebral arteries from spontaneously hypertensive rats // Stroke. – 1979. – 10(3). – P. 245–52.
11. Khan N.A., Chattopadhyay P., Abid M., Pawdey A., Kishore K., Wahi A.K. Protective effects of amlodipine on mitochondrial injury in ischemic reperfused rat heart // J. Environ. Biol. – 2012. – 33(3). – P. 591–595.
12. Kizhakekuttu T.J., Wang J., Dharmashankar K., Ying R., Gutterman D.D., Vita J.A., Widlansky M.E. Adverse alterations in mitochondrial function contribute to type 2 diabetes mellitus-related endothelial dysfunction in humans // Arterioscler. Thromb. Vas.c Biol. – 2012. – 32(10). – P. 2531–2539.
13. Lee Y.J., Choi D.H., Cho G.H., Kim J.S., Kang D.G., Lee H.S. Arctium lappa ameliorates endothelial dysfunction in rats fed with high fat/cholesterol diets // BMC Complement. Altern. Med. – 2012. – 12(1). – P. 116.
14. Lu J.C., Cui W., Zhang H.L. Additive beneficial effects of amlodipine and atorvastatin in reversing advanced cardiac hypertrophy in elderly spontaneously hypertensive rats // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2009. – 36, № 11. – P. 1110–1119.
15. Mozdy A., Shaw J. A fuzzy mitochondrial fusion apparatus comes into focus // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2003. – 4(6). – P. 468–478.
16. Mougnot N., Modiani O., Lechat P. Bisoprolol and hydrochlorothiazide effects on cardiovascular remodeling in spontaneously hypertensive rats // Pharmacol. Res. – 2005. – 51, № 4. – P. 359–365.
17. Nishio M., Sakata Y., Mano T. Beneficial effects of

- bisoprolol on the survival of hypertensive diastolic heart failure model rats // *Eur. J. Heart. Fail.* – 2008. – **10**, № 5. – P. 446–453.
18. Puzyrenko A.M., Chekman I.S., Kuftyreva T.P., Gorchakova N.O. The effect of amlodipine on the myocardial ultrastructure of the hypertensive rats // *J. Int. Scien. Publications.* – 2012. – **6**. – P. 351–358.
19. Sanaei-Zadeh H. Treatment of amlodipine overdose // *Indian. J. Crit. Care Med.* – 2012. – **16**. – P. 182.
20. Sag C., Yokusoglu M., Cincik M., Ozkan M., Kayir H., Uzun M., Baykal B, Ozogul C., Baysan O., Uzbay I.T. The prevention of myocardial ultrastructural changes by perindopril, atenolol and amlodipine in chronic alcohol administered rats // *Pharmacol. Res.* – 2006. – **53**(2). – P. 142–148.
21. Sorop O., Bakker E.N., Pisteu A., Spaan J.A., VanBavel E. Calcium channel blockade prevents pressure-dependent inward remodeling in isolated subendocardial resistance vessels // *Amer. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2006. – **29**(3). – P. 1236–1245.
22. Singh A., Bangalore S. Do angiotensin receptor blockers prevent myocardial infarctions as well as other initial therapies? // *Curr. Opin. Cardiol.* – 2012. – **27**(4). – P. 381–385.
23. Sun L., Bai Y., Du G. Endothelial dysfunction – an obstacle of therapeutic angiogenesis // *Aqing. Res. Rev.* – 2009. – **8**(4). – P. 306–313.
24. Statsenko M.E., Derevianchenko M.V. The Place of adrenergic blockers in the Treatment of Cardiovascular Disease in Patients With Chronic Obstructive Pulmonary Disease // *Kardiologija.* – 2012. – **52**. – P. 57–63.
25. Vesterdal L.K., Mikkelsen L., Folkmann J.K., Sheykhzade M., Cao Y., Roursgaard M., Loft S., Müller P. Carbon black nanoparticles and vascular dysfunction in cultured endothelial cells and artery segments // *Toxicol. Lett.* – 2012. – **214**(1). – P. 19–26.

*Нац. мед. ун-т ім. О.О. Богомольця, Київ;
Ін-т проблем патології нац. мед. ун-ту ім. О.О.
Богомольця, Київ
E-mail: a.puzyrenko@ukr.net*

*Матеріал надійшов
до редакції 17.12.2011*