

Summary. Morphological examination of the liver in patients with pulmonary tuberculosis showed that such patients have fibrosis of mixed type with a predominance of pericellular, perisinusoidal, perivenular portal and focal fibrosis. The capsule of the liver in these patients diffusely or focally thickened, hyalinized, sometimes infiltrated with lymphoid-histiocytic elements.

Key words: tuberculosis, fibrosis, steatosis, resistance, dystrophy.

Рецензент: д. мед. н., професор Сільченко В. П.

Стаття надійшла до редакції 20.10.2015 р.

Тодоріко Лілія Дмитрівна - д. мед. н., професор, завідувач кафедри фтизіатрії та пульмонології ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет"; +38 050 660-79-59; pulmonology@bsmu.edu.ua

Сем'янів Ігор Олександрович - асистент кафедри фтизіатрії та пульмонології, ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет"; +38 095 193-37-68; igor_semiyaniv@ukr.net

Бесединська Олена Володимирівна - к. мед. н., асистент кафедри патологічної анатомії ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет"; +38 050 676-94-21; besedinska@ukr.net

© Петрик І. О.

УДК: 616.831-005.4-008:547.756

Петрик І. О.

Кафедра фармакології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (вул. Пирогова 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

ВИВЧЕННЯ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИХ МЕХАНІЗМІВ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ПОХІДНОГО 3,2'-СПІРО-ПІРРОЛО-2- ОКСІДОЛУ СПОЛУКИ R-86 НА МОДЕЛІ ПІТУЇТРИН-ІЗАДРИНОВОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА ТА ОЦІНКА ЇЇ ЦИТОПРОТЕРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ В УМОВАХ ДАНОЇ ПАТОЛОГІЇ

Резюме. За умов пітуїтрин-ізадринового інфаркту міокарда у серцевому м'язі щурів виникав глибокий дисбаланс в обміні аденілових нуклеотидів, шляхах анаеробного та аеробного обміну глюкози та формувалась дефіцит макроергу АТФ. На цьому тлі посилювались процеси окисної деструкції ліпідів та протеїнів, формувалась виснаження систем антиоксидантного захисту, знижувався вміст прекурору оксиду азоту L-аргініну та зменшувалась сумарна активність NO-синтази. Застосування похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксидолу сполуки R-86 покращувало енергетичний обмін, зменшувало масштабність оксидативного стресу та стримувало формування розладів в системі L-аргінін / NO-синтаза. При цьому в порівняно із референсними препаратами, найбільш ефективно нормалізації метаболічних процесів за умов даної патології сприяло введення мексидолу, особливо, досліджуваного похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксидолу. Метаболічні ефекти тіотриазоліну за своєю величиною вірогідно поступались сполуці R-86 та похідному бурштинової кислоти. За профілактично-лікувального введення сполука R-86 зменшує кардіодеструктивні процеси при пітуїтрин-ізадриновому інфаркті міокарда вірогідно ліпше мексидолу.

Ключові слова: пітуїтрин-ізадриновий інфаркт міокарда, похідне 3,2'-спіро-пірроло-2-оксидолу сполука R-86, мексидол, тіотриазолін, серцевий тропонін I.

Вступ

Результати попередніх проведених нами досліджень органопротекторної активності похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксидолу сполуці R-86 свідчать, що її притаманна захисна дія на міокард, яка проявилась на різних моделях ішемії серця, у тому числі і в умовах інфаркту міокарда (ІМ). Тому цілком обґрунтованим наступним кроком з доклінічної оцінки кардіопротекторних властивостей цієї біологічно-активної речовини є вивчення можливих механізмів вперше встановленого нами нового виду фармакологічної активності. Відомо, що зменшення пулу макроергів у серцевому м'язі при невідповідності енергопродукції потребам кардіоміоцитів в умовах гострого коронарного синдрому, є одним із тригерних механізмів у ході розвитку ішемічної альтерації серця, порушенні його скоротливості, мембранного транспорту, синтезу структурних молекул, біорегуляторів, стероїдних структур м'язових волокон, тощо [8].

На цьому тлі, в умовах деескалації активності власних антиоксидантних ферментів у міокарді посилюються процеси стероїдної кардіотоксичності, оксидативного та нітрозативного стресу, що супроводжується надлишковим утворенням продуктів окисної модифікації білків та цитотоксичних метаболітів ліпідного обміну. Цілком очевидно, що ефективність потенційних кардіопротекторів певним чином обумовлена їх спроможністю нормалізувати внутрішньоклітинний метаболізм кардіоміоцитів (енергетичний баланс, аеробний гліколіз, функціонування ендогенних антиоксидантних ферментів, обмін в системі монооксиду азоту, тощо).

Мета - з'ясувати можливі внутрішньоклітинні метаболітопротекторні механізми кардіопротекторної активності похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксидолу сполуки R-86 в умовах пітуїтрин-ізадринового інфаркту міокарда та дати порівняльну оцінку її кардіоцитопротекторної дії.

Матеріали та методи

Для вивчення біохімічних та клітинних механізмів захисної дії сполуки R-86 на ішемізований міокард нами була використана модель пітуїтрин-ізадринного ІМ у статевозрілих щурів-самців лінії Вістар, масою 160-180 г. ІМ створювали шляхом введення впродовж 3 діб коронароспастичного агенту пітуїтрину (AB Endokrininiai (Литва)), дозою 1 Од/кг підшкірно, а потім β-адреноміметика ізопреналіну (ізадрину), 200 мг/кг внутрішньом'язово (Sigma Chemical Co. (St. Louis, США)) [11]. Порівняльну оцінку кардіоцитопротекторних властивостей сполуки R-86 також проводили на аналогічній моделі.

Як препарати порівняння ми використовували наступні кардіоцитопротектори: мексидол ("Мексидол, НВК Фармасофт, Росія), 100 мг/кг та тіотриазолін ("Тіотриазолін" Корпорація Артеріум, Україна) аналогічною дозою внутрішньоочередивно (в/о).

Грунтуючись на результатах скринінгу кардіопротекторної дії, ефективність сполуки R-86 оцінювали в умовно ефективній дозі 10 мг/кг внутрішньошлуноково [9]. При профілактично-лікувальній схемі застосування, превентивне введення сполуки R-86 розпочинали за три доби до моделювання ІМ кожні 24 год, в подальшому переходячи на лікувальний режим з аналогічною кратністю упродовж 7 діб ішемії. Всі референс-препарати вводили за тотожною схемою. Оскільки сполука R-86 є водонерозчинною, готували її суспензії із твіном-80, розраховуючи концентрацію таким чином, щоб об'єм, який вводився в/ш, становив 2 мл/кг.

Для проведення біохімічних досліджень у декапітованих під пропофоловим наркозом тварин, через 12 год після останнього введення досліджуваних речовин вилучали серце. Міокард промивали холодним 1,15% розчином KCl виділяли лівий шлуночок та гомогенізували його у середовищі 1,15% розчину KCl (співвідношення 1:3). Постядерну фракцію отримували з гомогенатів шляхом центрифугування (30 хв., 1500g при +4°C). Стан енергетичного та вуглеводного обміну серця оцінювали за вмістом аденозинмонофосфатної кислоти (АМФ); аденозиндифосфатної кислоти (АДФ); аденозинтрифосфатної кислоти (АТФ), концентрацією пірувату, лактату та малату. Вміст аденілових нуклеотидів досліджували безбілковому трихлороцтовому екстракті серця 1:10 (10% розчин трихлороцтової кислоти) хроматографічним методом [10]. Енергетичний заряд розраховували за коефіцієнтом Аткинсона:

$$\text{Енергетичний заряд} = \frac{2\text{АТФ} + \text{АДФ}}{2(\text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ})}$$

Рівень загального білка визначали мікробіуретовим методом з реактивом Бенедикта [6], малонового діальдегіду (МДА) - за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [2], карбонільних груп протеїнів (КГП) - за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином [4]. Титр пірувата та лактата - колориметричним методом Асатіані В.С. [1]. Активність глутатіонпероксидази (ГПО), супероксиддисмутази (СОД) та каталази визначали відповідно: спектро-

фотометричним методом за накопиченням окисненого глутатіону [3], за відсотком гальмування окиснення кверцетину [5] та швидкістю деградації гідроген пероксиду [7]. Вміст L-аргініну оцінювали за реакцією Сакагучі, в основі котрої лежить утворення забарвленого комплексу аргініну з альфа-нафтолом у присутності гіпоброміду в лужному середовищі. Загальну активність NO-синтаз (КФ 1.14.13.39) встановлювали за кількістю утвореного нітрит-аніону (NO₂⁻) після інкубації постядерного супернатанту гомогенату мозку протягом 60 хв. у середовищі, 1 мл якого містив 1 мМ НАДФН, 2,2 мМ L-аргініну, 1 мМ MgCl₂, 50 мМ KH₂PO₄-NaOH-буфер (pH 7,0) та 2 мМ CaCl₂.

Про наявність та величину кардіоцитопротекторної активності у сполуки R-86 судили за зміною титру кардіомаркера - серцевого тропоніну I у порівнянні з групою контрольної патології та щурами з ІМ, які отримували мексидол. Вміст серцевого тропоніну I у сироватці крові щурів, взятої з правого шлуночка, шляхом його прижиттєвої катетеризації через стегову вену вимірювали на 7 добу модельної патології методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням набору TROPONIN I ELISA KIT (DAI, США) на приладі фірми "Hirson" (Чехія).

Кількісні дані обробляли за допомогою програми статистичної обробки StatPlus 2009. Використовували параметричний критерій t Ст'юдента у випадках нормального розподілу, непараметричний критерій W. Уайта - за його відсутності, парний критерій К. Вілкоксона - для визначення змін у динаміці всередині групи. Відмінності вважали статистично значущими при p < 0,05.

Результати. Обговорення

У ході проведеного дослідження встановлено (табл. 1), що при постадійному введенні пітуїтрину та ізадрину, в серцевому м'язі щурів виявлялись порушення обміну пулу аденілових нуклеотидів, які є характерними для дрібновогнищового ІМ.

Так, станом на 7 добу експерименту, рівень міокардального АТФ був на 55,2% меншим, а вміст АДФ та АМФ, відповідно, вищим на 91,6 та 95,8%, ніж в інтактних тварин (p < 0,05). За умов модельного пітуїтрин-ізадринного ІМ дисбаланс в системі АТФ / АДФ / АМФ асоціювався з падінням енергетичного заряду серцевого м'язу в середньому на 29,1% (p < 0,05).

Експериментальна курсова терапія щурів з ІМ сполукою R-86 та референс-препаратами стримувала формування енергодефіцитного стану кардіоміоцитів в умовах даної патології, однак виразність їх ефекту суттєво відрізнялась у між собою (табл. 1). Так, на тлі семиденної терапії щурів з ІМ мексидолом, вміст АТФ був вищим за аналогічний показник в групі контрольної патології в середньому на 65,0%, АДФ та АМФ - меншим відповідно на 30,2 та 30,6%, ніж у тварин, яким вводили лише 0,9% розчин NaCl (p < 0,05). Також, у щурів з ІМ, які отримували мексидол, падіння енерге-

тичного заряду міокарду було вірогідно меншим у середньому на 25,4%, ніж у тварин контрольної групи.

У ході проведеного дослідження встановлено, що курсове застосування сполуки R-86 в умовах експериментального ІМ стримувало формування дисбалансу в обміні аденілових нуклеотидів кардіоміоцитів щурів більш ефективно, ніж введення препарату бурштинової кислоти (табл. 1). Про це свідчить вірогідно вищий рівень АТФ (в середньому на 16,4%) та більший енергетичний заряд міокарда (в середньому на 9,0%) у щурів з ІМ, які отримували похідне 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу, порівняно з тваринами на тлі терапії мексидолом. Достовірні відмінності між вказаними групами реєструвались і за абсолютним рівнем інших фракцій аденілових нуклеотидів (табл. 1).

Застосування тіотриазоліну також вірогідно покращувало енергетичний обмін у міокарді тварин з ІМ на 7 добу експерименту, однак його захисна дія значно поступалась терапії мексидолом та сполукою R-86. Експериментальна терапія щурів з ІМ тіотриазоліном сприяла збільшенню в серці відносно тварин групи контрольної патології вмісту АТФ в середньому на 44,8%, поряд із зменшенням рівня АДФ на 18,9% та вмісту АМФ на 15,3% ($p < 0,05$). При цьому, за спроможністю підвищувати в серці щурів рівень АТФ і енергетичного заряду та сприяти зниженню рівнів АДФ та АМФ похідне 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу вірогідно перевершувало тіотриазолін в середньому відповідно на 32,2 і 17,9% та 32,4 та 38,5%.

Таким чином, за здатністю нормалізувати обмін аденілових нуклеотидів у міокарді щурів за умов ІМ досліджувані речовини можна розташувати в порядку збільшення ефекту таким чином: сполука R-86 (10 мг/кг) > мексидол (100 мг/кг) > тіотриазолін (100 мг/кг).

В умовах ішемічно-гіпоксичного ураження кардіоміоцитів аеробний шлях перетворення глюкози відступає на другий план при одночасній маніфестації процесів аеробного гліколізу, що супроводжується формуванням лактат-ацидозу. Проведене дослідження показало, що на 7 добу модельного пітуїтрин-ізадринного ІМ у серцевому м'язі щурів порівняно з інтактними тваринами достовірно знижувався вміст пірувату в се-

редньому у 2,5 рази, а рівень лактату підвищувався, в середньому, у 3,6 разів, поряд зі зростанням у 9,2 разів співвідношення лактат/піруват (табл. 2).

Фармакотерапія досліджуваними речовинами стримувала формування дисбалансу між аеробним та анаеробним шляхами метаболізму глюкози, причому найбільша ефективність проявилась у сполуки R-86 та мексидолу, найменша - у тіотриазоліну. Зокрема, на 7 добу міокардальної ішемії у тварин, лікованих похідним 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу, мексидолом та тіотриазоліном вміст лактату був меншим а вміст пірувату вищим ніж у щурів яким в якості терапії вводили лише 0,9% розчин NaCl (група контрольної патології), в середньому, відповідно на 58,2; 43,5 та 27,2% і на 102,7; 82,3 та 65,5%. Позитивну динаміку відзначили стосовно співвідношення лактат/піруват, зростання якого найбільш ефективно стримували сполука R-86 і мексидол. Слід зауважити, що застосування похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу, порівняно з препаратом бурштинової кислоти та тіотриазоліном, у найбільшій мірі сприяло відновленню балансу в системі лактат/піруват в умовах дрібно вогнищевого ІМ.

Отже, за здатністю нормалізувати вуглеводний обмін у міокарді за умов ІМ досліджувані препарати можна розташувати в порядку збільшення ефекту таким чином: сполука R-86 (2 мг/кг) > мексидол (100 мг/кг) > тіотриазолін (100 мг/кг).

При редукції вінцевого кровоплину, що має місце при розвитку гострого коронарного синдрому з підйомом сегменту ST (великовогнищевий), або без його ескалації (дрібновогнищевий ІМ), у серцевому м'язі активуються процеси окиснення ліпідних та білкових структур кардіоміоцитів. Результати проведеного дослідження свідчать, що на 7 добу дрібновогнищевого пітуїтрин-ізадринного ІМ вміст МДА та КГП у міокарді щурів групи контрольної вірогідно підвищився відносно інтактних тварин у середньому відповідно у 2,1 та 1,7 разів (табл. 3).

Фармакотерапія сполукою R-86, подібно до референсних препаратів мексидолу або тіотриазоліну, стримувала розвиток оксидативного стресу в міокарді, однак істотно відрізнялась за своєю ефективністю залеж-

Таблиця 1. Вплив профілактично-лікувального застосування сполуки R-86, мексидолу або тіотриазоліну у щурів із пітуїтрин-ізадринним інфарктом міокарда на вміст в серцевому м'язі аденілових нуклеотидів ($M \pm m$, $n=15$).

Групи тварин	Показники			
	АТФ, мкмоль / г сухої тканини	АДФ, мкмоль / г сухої тканини	АМФ, мкмоль / г сухої тканини	Енергетичний заряд
Інтактні щурі	3,64±0,15	0,882±0,031	0,502±0,015	0,810±0,005
ІМ + 0,9% розчин NaCl (контрольна патологія)	1,63±0,08@	1,69±0,09@	0,983±0,039@	0,574±0,008@
ІМ + R-86 (10 мг/кг)	3,12±0,11 @*&~	0,926±0,033 *&~	0,512±0,014 *&~	0,785±0,007 @*&~
ІМ + мексидол (100 мг/кг)	2,68±0,09 @*~	1,18±0,04@*~	0,682±0,025 @*~#	0,720±0,007@*~
ІМ + тіотриазолін (100 мг/кг)	2,36±0,08 @*	1,37±0,03 @*	0,833±0,051 @*	0,666±0,010 @*

Примітки: 1. @ - $p < 0,05$ відносно інтактних тварин; 2. * - $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології; 3. & - $p < 0,05$ відносно терапії мексидолом; 4. ~ - $p < 0,05$ відносно терапії тіотриазоліном.

Таблиця 2. Вплив профілактично-лікувального застосування сполуки R-86, мексидолу або тіотриазоліну у щурів із пітуїтрин-ізадринним інфарктом міокарда на вміст в серцевому м'язі метаболітів глюкози ($M \pm m$, $n=15$).

Групи тварин	Показники		
	Лактат, мкмоль / г сухої тканини	Піруват, мкмоль / г сухої тканини	Лактат / Піруват
Інтактні щурі	2,36±0,14	0,281±0,011	8,45±0,46
ІМ + 0,9% розчин NaCl (контрольна патологія)	8,58±0,25@	0,113±0,006@	78,0±3,42@
ІМ + R-86 (10 мг/кг)	3,59±0,11@*~ &	0,229±0,016*~	16,5±0,90@*~ &
ІМ + мексидол (100 мг/кг)	4,85±0,15@*~	0,206±0,011*~	24,3±1,17@*~
ІМ + тіотриазолін (100мг/кг)	6,25±0,12@*	0,187±0,009*	34,5±1,76@*

Примітки: 1. @ - $p < 0,05$ відносно інтактних тварин; 2. * - $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології; 3. & - $p < 0,05$ відносно терапії мексидолом; 4. ~ - $p < 0,05$ відносно терапії тіотриазоліном.

Таблиця 3. Вплив профілактично-лікувального застосування сполуки R-86, мексидолу або тіотриазоліну у щурів із пітуїтрин-ізадринним інфарктом міокарда на вміст в серцевому м'язі продуктів оксидативного стресу ($M \pm m$, $n=15$).

Групи тварин	Показники	
	МДА, мкмоль / г сухої тканини	КГП, нмоль / мг протеїну
Інтактні щурі	10,5±0,44	2,11±0,14
ІМ + 0,9% розчин NaCl (контрольна патологія)	21,9±0,70@	3,66±0,17@
ІМ + R-86 (10 мг/кг)	11,6±0,14@*~ &	2,55±0,07@*~ &
ІМ + мексидол (100 мг/кг)	13,8±0,28@*	2,90±0,13@*
ІМ + тіотриазолін (100мг/кг)	15,9±0,27@*	3,11±0,14@*

Примітки: 1. @ - $p < 0,05$ відносно інтактних тварин; 2. * - $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології; 3. & - $p < 0,05$ відносно терапії мексидолом; 4. ~ - $p < 0,05$ відносно терапії тіотриазоліном.

но від обраного препарату. В гострому періоді найбільшу антиоксидатну ефективність виявили в адемолю і мексидолу, порівняно меншу в тіотриазоліну. Станом на 7 добу ІМ у тварин, лікованих мексидолом, досліджуваним похідним 3,2'-спіро-пірроло-2-оксидолу та тіотриазоліном вміст МДА в міокарді виявився достовірно меншим, у середньому, відповідно, на 37,0; 47,0 і 27,4%, а карбонільних груп - на 20,8; 30,3 та 15,0% порівняно з тваринами групи контрольної патології. Курсове введення щурам з ІМ сполуки R-86 супроводжувалось ще більш суттєвим пригніченням утворення в серці МДА відносно мексидолу, в середньому, відповідно на 15,9% та 12,1% та порівняно з тіотриазоліном, відповідно, на 27,0 і 18,0% ($p < 0,05$).

Повноцінна ліквідація проявів оксидативного стресу можлива лише на тлі збереження активності ендоген-

них антиоксидантних ензимів, тому ми поставили за мету оцінити в міокарді пул найбільш потужних антиоксидантних ензимів - СОД, ГПО та каталази на тлі терапії досліджуваними речовинами (табл. 4). Як і передбачалось, закономірним є пригніченням їх активності в умовах даної патології, що відмічали і інші дослідники

Так, на 7 добу ІМ у групі контрольної патології падіння активності ГПО, СОД та каталази відносно інтактних тварин в міокарді становило відповідно 40,0; 47,1% та 54,4% ($p < 0,05$). Введення в умовах ішемії усіх досліджуваних речовин перешкоджало виснаженню систем антиоксидантного захисту кардіоміоцитів, хоча і відрізнялось за своєю виразністю. При цьому, найбільш ефективними виявились сполука R-86 та препарат порівняння мексидол, які достовірно підвищували активність досліджуваних ензимів у підгострому періоді ІМ у середньому на 40-80%. На відміну від цього, курсове введення тіотриазоліну сприяло вірогідному підвищенню активності ГПО, СОД та каталази в середньому лише відповідно на 23,3%; 29,9% та 35,7%).

Таким чином, за умов ІМ за антиоксидантною ефективністю досліджувані речовини в порядку збільшення ефекту можна розташувати таким чином: сполука R-86 (10 мг/кг) \geq мексидол (100 мг/кг) $>$ тіотриазолін (100 мг/кг).

Одним із різновидів оксидативного стресу - є нітрозативний стрес, який відіграє вирішальну роль у реалізації апоптотичних програм загибелі кардіоміоцитів при пост-реперфузійних ураженнях серця або у відновному періоді ІМ. Враховуючи це, та спроможність сполуки R-86 зменшувати прояви нітрозативного стресу в головному мозку при модельному інсульті, є всі підстави сподіватись на можливе виявлення у досліджуваного похідного модульовальної дії на метаболізм NO в умовах ІМ.

Саме тому наступний етап ми присвятили з'ясуванню питання, як впливає сполука R-86 на систему L-аргінину / NO-синтаза в міокарді щурів на тлі постадійного введення пітуїтрину та ізадрину. Встановлено, що розвиток модельного ІМ супроводжувався достовірним падінням вмісту L-аргінину в серцевому м'язі щурів на 7 добу експерименту в середньому на 24,0% (табл. 5).

Аналізуючи отримані дані, встановлено, що найбільш виразний негативний ефект ішемії спостерігався при визначенні в серці сумарної активності NO-синтази, яка на 7 добу ІМ зменшилась в середньому на 45,7%. Відомо, що основною ізоформою NO-синтази в серці є її ендотеліальна компонента (eNOS). Таким чином, при гострому коронарному синдромі існує дефіцит субстрату L-аргінину, який є необхідним для біосинтезу монооксиду.

Встановлено, що при експериментальній терапії ІМ досліджуваною сполукою та препаратами порівняння, найбільш виразна дія на функціонування системи оксиду азоту проявилась на тлі курсового застосування похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксидолу, яка достовірно відрізнялась від решти кардіопротекторів (мексидолу та тіотриазоліну). Так, на 7 добу ІМ на тлі введення сполуки R-86 або мексидолу вміст L-аргінину практич-

Таблиця 4. Вплив профілактично-лікувального застосування сполуки R-86, мексидолу або тіотриазоліну у щурів із пітуїтрин-ізадринним інфарктом міокарда на активність в серцевому м'язі антиоксидантних ензимів ($M \pm m$, $n=15$).

Групи тварин	Показники		
	ГПО, мкмоль / хв на 1 мг протеїну	СОД, ум.од. / мг протеїну	Каталаза, мккатал / мг протеїну
Інтактні щурі	86,0 \pm 2,45	5,31 \pm 0,23	15,6 \pm 0,61
ІМ + 0,9% розчин NaCl (контрольна патологія)	51,6 \pm 2,49@	2,81 \pm 0,23@	7,12 \pm 0,35@
ІМ + R-86 (10 мг/кг)	72,0 \pm 1,64*~	4,52 \pm 0,27*~	12,9 \pm 0,48*~
ІМ + мексидол (100 мг/кг)	67,3 \pm 2,07@*	4,11 \pm 0,27@*	11,8 \pm 0,42@*~
ІМ + тіотриазолін (100мг/кг)	63,6 \pm 2,39@	3,65 \pm 0,27@*	9,66 \pm 0,44@*

Примітки: 1. @ - $p < 0,05$ відносно інтактних тварин; 2.* - $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології; 3. ~ - $p < 0,05$ відносно терапії тіотриазоліном.

Таблиця 5. Вплив профілактично-лікувального застосування сполуки R-86, мексидолу або тіотриазоліну у щурів із пітуїтрин-ізадринним інфарктом міокарда на обмін в серці монооксиду азоту ($M \pm m$, $n=15$).

Групи тварин	Показники	
	L-аргінін, нмоль / мг протеїну	NO-синтаза, пмоль / хв на 1 мг протеїну
Інтактні щурі	13,0 \pm 0,35	11,1 \pm 0,39
ІМ + 0,9% розчин NaCl (контрольна патологія)	9,88 \pm 0,34@	6,03 \pm 0,32@
ІМ + R-86 (10 мг/кг)	12,5 \pm 0,25*~	10,3 \pm 0,36*~ &
ІМ + мексидол (100 мг/кг)	11,5 \pm 0,35@*	9,13 \pm 0,32@*~
ІМ + тіотриазолін(100мг/кг)	11,0 \pm 0,33@*	7,16 \pm 0,31@*

Примітки: 1. @ - $p < 0,05$ відносно інтактних тварин; 2.* - $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології; 3. & - $p < 0,05$ відносно терапії мексидолом; 4. ~ - $p < 0,05$ відносно терапії тіотриазоліном.

Таблиця 6. Вплив профілактично-лікувального застосування сполуки R-86 або мексидолу у щурів із пітуїтрин-ізадринним інфарктом міокарда на титр в сироватці крові з правого шлуночка серцевого тропоніну I ($M \pm m$, $n=7$).

Групи тварин	Тропонін I, нг/мл
Інтактні щурі	0,044 \pm 0,007
ІМ + 0,9% розчин NaCl (контрольна патологія)	13,354 \pm 0,465@
ІМ + R-86, 10 мг/кг	5,397 \pm 0,225@* &
ІМ + мексидол, 100 мг/кг	8,194 \pm 0,279@*

Примітки: 1. @ - $p < 0,05$ відносно інтактних тварин; 2.* - $p < 0,05$ відносно групи контрольної патології; 3. & - $p < 0,05$ відносно терапії мексидолом.

но не відрізнявся від такого у інтактних щурів. При аналізі активності NO-синтази, досліджувана речовина за спроможністю її підвищувати вірогідно перевершувала мексидол та тіотриазолін в середньому відповідно на 12,8 та 43,9%.

Таким чином, за умов ІМ за NO-модулювальною дією досліджувані речовини можна розташувати в порядку збільшення ефекту таким чином: сполука R-86 (10 мг/кг) > мексидол (100 мг/кг) > тіотриазолін (100 мг/кг).

Покращення перебігу метаболічних процесів в ішемізованому міокарді, зокрема нормалізація енергетичного обміну, відновлення функціонування оксидантно-антиоксидантної системи та обміну монооксиду азоту, є підґрунтям до збереження морфологічної цілісності структурно-функціональної одиниці серця - кардіоміоциту. Про реалізацію мембрано- або цитопротективної дії того чи іншого препарату або біологічно-активної речовини в умовах ІМ можна судити за зміною концентрації кардіомаркерів. Одним із найбільш чутливих, ранніх та кардіоспецифічних маркерів, зміна концентрації якого в крові напряму віддзеркалює ступінь та глибину некротичних змін у серці, а, значить, інтенсивність процесів кардіодеструкції, є рівень серцевого тропоніну I. З позицій доказової медицини для визначення ступеня ішемії серця, аналізу ефективності терапії ІМ та подальшого прогнозу, моніторингу даного кардіомаркера надається перевага з-поміж визначення альтернативних біохімічних показників, таких як, наприклад активність амінотрансфераз або креатинфосфокінази [12]. Екстраполяція цієї тези в експериментальну фармакологію є справедливою, цілком слушною та доречною і для доклінічної оцінки ефективності перспективних кардіопротекторів.

Аналіз рівня серцевого тропоніну I в умовах пітуїтрин-ізадринного ІМ, показав, що у групі тварин контрольної патології на 7 добу експерименту має місце розвиток деструктивних явищ в кардіоміоцитах, про що свідчило вірогідне ($p < 0,05$) підвищення титрів досліджуваного маркера відносно групи інтактних щурів в середньому у 303,5 рази (табл. 6).

Семиденна курсова терапія щурів з ІМ сполукою R-86 дозою 10 мг/кг в/ш, так само як і мексидолом 100 мг/кг в/о супроводжувалась вірогідною деескалацією титрів серцевого тропоніну I в середньому відповідно у 2,47 та 1,63 рази. Причому за своєю ефективністю досліджуване похідне 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу на 51,8% переважало референс-препарат ($p < 0,05$).

Таким чином, підсумовуючи результати досліджень цього розділу, слід відзначити, що за умов експериментальної моделі ІМ у серцевому м'язі виникав глибокий дисбаланс в обміні аденилових нуклеотидів, шляхах анаеробного та аеробного обміну глюкози та формувалась дефіцит макроергу АТФ. На цьому тлі посилювались процеси окисної деструкції ліпідів та протеїнів, формувалось виснаження систем антиоксидантного захисту, знижувався вміст прекурсорів оксиду азоту L-аргініну та зменшувалась сумарна активність NO-синтази. Застосування похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу сполуки R-86 покращувало енергетичний обмін, зменшувало масштабність оксидативного стресу та стримувало формування розладів в системі L-аргінін /

НО-синтаза. При цьому порівняно з референтними препаратами, найбільш ефективно нормалізації метаболічних процесів за умов ІМ сприяло введення мексидолу і, особливо, досліджуваного похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу. Метаболічні ефекти тіотриазоліну за своєю величиною вірогідно поступались сполуці R-86 та похідному бурштинової кислоти.

Кардіопротекторна дія адемола може реалізуватись через збільшення енергетичного заряду кардіоміоцитів, підвищення активності ключових антиоксидантних ферментів (ГПО, СОД, каталази) та збереження пулу NO при ІМ.

Разом із цим лікувальне введення обох речовин гальмувало розвиток некротичних процесів в ішемізованому міокарді, що сприяло збереженню цитоархітектоники серцевого м'язу. На нашу думку, дане явище, є закономірним віддзеркаленням позитивного модулювального ефекту сполуки R-86 та мексидолу на внутрішньоклітинний метаболізм в кардіоміоцитах.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. До внутрішньоклітинних метаболітотропних механізмів кардіопротекторної активності похідного

3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу сполуки R-86 в умовах пітуїтрин-ізадринного інфаркту міокарда відносяться енергомодулювальна дія, антиоксидантний ефект, коригувальний вплив в серцевому м'язі на дисбаланс у обміні монооксиду азоту та послаблення прояву лактат-ацидозу. За зазначеними властивостями сполука R-86 вірогідно перевершує тіотриазолін та мексидол.

2. За умови профілактично-лікувального введення сполуки R-86 зменшує кардіодеструктивні процеси в міокарді щурів при пітуїтрин-ізадринному ІМ, що доводиться вірогідним зниженням у сироватці крові з правого шлуночка титру серцевого тропоніну I відносно контрольної патології у середньому відповідно у 2,47 разів ($p < 0,05$). За впливом на зазначений кардіомаркер сполука R-86 вірогідно ($p < 0,05$) переважає мексидол у середньому на 51,8%.

Результати роботи експериментально обґрунтовують доцільність подальшого доклінічного вивчення сполуки R-86 як можливої основи для створення перспективного лікарського засобу, призначеного для підвищення ефективності кардіопротекції при гострій ішемії міокарда. Отримані результати є підґрунтям для цілеспрямованого синтезу сполук з кардіопротекторною дією в ряду 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу.

Список літератури

- Асатиани В.С. Ферментативные методы анализа /Асатиани В.С.- Москва: Наука, 1969.- 739с.
- Владимиров Ю.В. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах /Ю.В.Владимиров, А.И.Арчаков.- М.: Наука, 1972.- 252с.
- Власова С.Н. Активность глутатион-зависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей /С.Н.Власова, Е.И.Шабунина, И.А.Персегина //Лаб. дело.- 1990.- №8.- С.19-22.
- Коган В.С. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов /Коган В.С., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л.- М.: Медицина, 1988.- 287с.
- Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основан- ный на реакции окисления кверцетина /В.А.Костюк, А.И.Потапович, Ж.В.Ковалева //Вопр. мед. химии.- 1990.- №2.- С.88-91.
- Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии /Г.А.Кочетов.- М.: Высшая школа, 1980.- 272с.
- Королюк М.А. Метод определения активности каталазы /М.А.Королюк //Лаб. дело.- 1988.- №1.- С.16-19.
- Мойбенко А.А. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца /А.А.Мойбенко, В.Е.Досенко, А.Н.Пархоменко.- К.: Наукова думка, 2008.- 514с.
- Петрик І.О. Моніторинг кардіопротекторних ефектів похідного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу сполуки R-86 при модельній кардіальній ішемії за різних режимів введення /І.О.Петрик //Вісник Вінницького нац. мед. унів.- 2014.- Т.18, №2.- С.441-444.
- Прохорова М.И. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) /Прохорова М.И.- Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982.- 272с.
- Фармакологическая коррекция нарушенной в сопряженных системах NO-свободные тиолы при экспериментальном инфаркте миокарда с помощью метаболитотропного кардиопротектора "лизиний" /И.Ф.Беленичев, Л.И.Кучеренко, Н.В.Бухтиярова [и др.] //Эксперим. физиология та біохімія.- 2012.- №2.- С.7-11.
- ESC guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation /G.Steg, S.K.James, D.Atar [et al.] //Eur. Heart J.- 2012.- Vol.33.- P.2569-25619.

Петрик І.А.

ИЗУЧЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНОГО 3,2'-СПИРО-ПИРРОЛО-2-ОКСИНДОЛА СОЕДИНЕНИЯ R-86 НА МОДЕЛИ ПИТУИТРИН-ИЗАДРИНОВОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ОЦЕНКОЙ ЕЕ ЦИТОПРОТЕРНЫХ СВОЙСТВ В УСЛОВИЯХ ДАННОЙ ПАТОЛОГИИ

Резюме. В условиях питуитрин-изадринного инфаркта миокарда в сердечной мышце крыс формировался глубокий дисбаланс в обмене адениловых нуклеотидов, анаэробном и аэробном обмене глюкозы, возникал дефицит макроэргов АТФ. На этом фоне усиливались процессы окислительной деструкции липидов и протеинов, истощалась система антиоксидантной защиты, снижалось содержание прекурсора оксида азота L-аргинина, и уменьшалась суммарная активность NO-синтазы. Применение производного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу соединения R-86 улучшало энергетический обмен, уменьшало масштабность оксидативного стресса и сдерживало формирование расстройств в системе L-аргинин / NO-синтаза. При этом в сравнении с референтными препаратами, наиболее эффективно способствовало нормализации метаболических процессов в условиях данной патологии введение мексидола и, особенно, исследуемого производного 3,2'-спіро-пірроло-2-оксіндолу. Метаболические эффекты тіотриазоліна по своей величине достоверно уступали соедине-

нии R-86 и производного янтарной кислоты. В режиме профилактико-лечебного введения, соединение R-86 достоверно лучше мексидола способствует уменьшению кардиодеструктивных процессов при питуитрин-изадриновом инфаркте миокарда у крыс.

Ключевые слова: питуитрин-изадриновый инфаркт миокарда, производное 3,2'-спиро-пирроло-2-оксиндола соединение R-86, мексидол, тиотриазолин, сердечный тропонин I.

Petryk I.O.

STUDY OF INTRACELLULAR PROCESS CARDIOPROTECTIVE EFFECT DERIVATIVE 3,2'- SPIRO-PYRRHOL-2-OXINDOLE COMPOUND R-86 ON MODELS PITUITRIN-ISADRINUM MYOCARDIAL INFARCTION AND ASSESSMENT OF ITS CYTOPROTECTIVE PROPERTIES IN THE CONDITIONS OF THIS PATHOLOGY

Summary. *In the context pituitrin-isadrinum myocardial infarction in the heart muscle of rats occurred deep imbalance in the exchange of adenylic nucleotides, ways of anaerobic and aerobic metabolism of glucose and formed deficit of macroergs ATP. Against this background strengthened the processes of oxidative degradation of lipids and proteins, formed the depletion of antioxidant protection, reduced content of nitric oxide precursor L-arginine and decreased total activity of NO-synthase. The use of derivative 3,2'- spiro-pyrrhol-2-oxindole compound r-86 improves energy metabolism, oxidative stress decreased the magnitude and hindered formation in a system of disorders L-arginine / NO-synthase. Thus in comparison with the reference drugs most effectively normalize of metabolic processes in the conditions of this disease contributed to the introduction of Mexidolum and, in particular, studied the original 3,2'- spiro-pyrrhol-2-oxindole. Metabolic effects of Thiотriazolin for its size significantly worse than the the compound R-86 and derived of succinic acid. For preventive and therapeutic administration of a compound R-86 reduces the cardio destructive processes in pituitrin-isadrinum myocardial infarction significantly better then mexidol.*

Key words: *pituitrin-isadrinum myocardial infarction, derivative 3,2'- spiro-pyrrhol-2-oxindole compound r-86, mexidol, thiотriazoline, cardiac troponin I.*

Рецензент: д.мед.н., професор Волощук Н.І.

Стаття надійшла до редакції 2.11.2015 р.

Петрик Ірина Олексіївна - аспірант кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І.Пирогова; +38 067 981-19-59; yarina.petryk@gmail.com
