

C in blood serum amounted to  $0.34 \pm 0.002$  mg%, vitamin E – of  $1.23 \pm 0.2$  mg/100 ml. Vitamin E mechanism of action refers to the «traps» free radicals, or to the true antioxidants, which destroy free radicals and terminate the growth of chains. The antioxidant action of vitamin C is manifested by restoration of oxidized alpha-tocopherol and a decrease in the formation of free radicals. The content of ascorbic acid in biological fluids is dramatically reduced when States, which are characterized by activation of lipid peroxidation and increase in free iron ions. In the study of blood patients with preeclampsia and IDA were revealed activation of free radical oxidation. Therefore, an indicator of the effectiveness of the therapy was to reduce products of lipid peroxidation, increasing the content of vitamin C and E, which have antiradical activity. The data obtained indicate stabilization of the antioxidant system and antioxidant defense system in pregnant women with preeclampsia in combination with IDA. A normalizing effect of vitamin E, A, C on the antioxidant defense system due to the versatility of the points of application of the action of antioxidants, i. e., cell membranes, and also free-circulating immune competent cells.

**Conclusions.** Preeclampsia and anemia inter burden the course of gestation and significantly worsen the outcome for both the mother and the fetus. In the pathogenesis of preeclampsia and anemia have a lot in common, in particular the activation of processes of lipid peroxidation and reduced antioxidant activity of blood serum.

**Keywords:** pregnant women, gestosis, anemia, lipid peroxidation.

Рецензент – проф. Громова А. М.

Стаття надійшла 16.03.2017 року

УДК 616.831-092:616.89-008.441.3-036.12-085.272.4.014.4]-092.9

Беленичев И. Ф., Стеблюк В. С., Камышный А. М.

### ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ мРНК iNOS И eNOS В МИОКАРДЕ КРЫС С АЛКОГОЛЬНОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ И НА ФОНЕ ПРОВОДИМОЙ ТЕРАПИИ МЕТАБОЛИТОТРОПНЫМИ КАРДИОПРОТЕКТОРАМИ

Запорожский государственный медицинский университет

(г. Запорожье)

viktorsteblyuk@ukr.net

Данная работа выполнена в рамках НИР «Эндогенная нейропротекция: HSP<sub>70</sub>/HIF-1α-опосредованные механизмы и разработка подходов к ее фармакологической регуляции», № государственной регистрации 0113U000797; 2017-2020 гг.

**Вступление.** Широкая распространенность злоупотребления спиртными напитками, высокая смертность и частота алкогольных поражений сердечной мышцы позволяют отнести проблему алкогольной кардиомиопатии к числу наиболее актуальных в современной медицине. В настоящее время работами многочисленных авторов установлена четкая взаимосвязь между злоупотреблением алкоголем и патологическими изменениями сердечной мышцы, детально описаны специфические морфологические изменения миокарда, которые характеризуют алкогольную кардиомиопатию как самостоятельную нозологическую единицу [1,5]. Патогенез алкогольной кардиомиопатии сложен и до конца не изучен. В настоящее время известно, что в механизме патологического действия этанола и его метаболитов на сердце важную роль играют первичная и вторичная митохондриальная дисфункция, энергетический метаболизм, антиоксидантная недостаточность, оксидативный стресс и апоптоз [2,4,9]. В последнее время в качестве еще одного механизма повреждения миокарда при алкоголизме стали рассматривать систему NO [2,4,6,12,20]. Немногочисленными работами установлено, что этанол меняет активность и экспрессию различных изоформ NOS, приводит к гиперпродукции NO и его цитотоксических форм [2,13,14,21]. Все это приво-

дит к инициации нитрозирующего стресса, апоптоза, изменяет иммунокомпетентность [16,18,22]. В настоящее время практически нет работ о характере экспрессии мРНК iNOS и eNOS в миокарде при алкогольной кардиомиопатии и медикаментозной коррекции нарушений нитрооксидергической системы. В этом отношении интерес может представлять разработанный под руководством проф. И.А. Мазура в НПО «Фарматрон» новый оригинальный препарат Ангиолин((S)-2,6-диаминогексановой кислоты 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат), проявляющий кардиопротективные и эндотелиопротективные свойства [2,7]. Получены данные о свойстве Ангиолина повышать биодоступность NO при ишемии миокарда и тормозить реакции нитрозирующего стресса [10].

**Цель работы.** Изучить характер экспрессии мРНК iNOS и eNOS в миокарде крыс при экспериментальной алкогольной кардиомиопатии на фоне курсового применения метаболитотропных кардиопротекторов — ангиолина, милдроната и мексидола.

**Объект и методы исследования.** В опытах использовали 60 белых беспородных крыс самцов с массой тела 180-200 г. и возрастом 4,5 месяцев, которые содержались в виварии при свободном доступе к пище (стандартный гранулированный корм) и воды, при естественной смене дня и ночи; животные получены из питомника ГУ «Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины». Все экспериментальные процедуры осуществляли в соответствии с «Положением об использовании животных в биомедицинских исследованиях», Общи-

ми принципами работы на животных, одобренными 1-м Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, Украина, 2001) и согласованными с положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, Франция, 1985).

Алкогольную кардиомиопатию (АКМП) вызывали ежедневным внутрижелудочным введением 20% раствора этанола в дозе 8 г/кг в течение 90 суток. С 90 суток прекращали алкоголизацию и проводили экспериментальную терапию изучаемыми препаратами, продолжали наблюдение в течение 30 дней. Данная модель воспроизвести структурные, функциональные и обменные нарушения миокарда характерные для АКМП [19]. Все животные были разделены на 6 групп по 10 особей в каждой. Исследуемые препараты вводили внутрижелудочно с помощью металлического зонда — Ангиолин (НПО «Фарматрон», Украина) в дозе 100 мг/кг [3]; Милдронат (Гриндекс, Латвия) — 250 мг/кг [3,17]; Мексидол (ООО «НПК «Фармасофт», Россия) — 200 мг/кг [3,11]. Контрольная и интактная группы получали физиологический раствор. По окончании эксперимента животные выводились из эксперимента через 2-4 мин. после инъекции этиминала натрия (40 мг/кг) (до потери рефлекса выпрямления) с целью минимализации нейрометаболических сдвигов. У животных быстро изымалось сердце, верхушку которого помещали на сутки в фиксатор Буэна и после стандартной гистологической проводки ткань заключали в парафин. На ротационном микротоме изготавливали срезы толщиной 5 микрон. Для оценки состояния экспрессии мРНК iNOS и мРНК eNOS использовали метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР). Молекулярно-генетическое исследование включало несколько этапов. Ткани депарафинировали путем инкубации в двух следующих друг за другом ванн ксилолов в течение 5 минут каждый, а затем в двух последовательных ванны 100% этанола в течение 5 минут каждый. После депарафинирования и центрифугирования, осадок высушивали на воздухе для удаления остатков этанола. Выделение тотальной РНК из ткани крыс проводили с использованием набора «Trizol RNA Prep 100» («ИЗОГЕН», Россия), который содержит следующие реагенты: Trizol reagent та ExtraGene E. РНК выделяют соответственно протокола набора. Для обратной транскрипции (синтез к ДНК) использовали «Набор реагентов для проведения обратной транскрипции (ОТ-1)» («СИНТОЛ», Москва). Подготовку и проведение реакции проводили соответственно протокола набора.

*Полимеразно-цепная реакция в режиме реального времени.* Для определения уровня экспрессии исследуемых генов использовали амплификатор CFX96™Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США) и набор реактивов для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green R-402 («Синтол», Россия). Финальная реакция смеси для амплификации включала краситель SYBR Green, ДНК – полимеразу *SynTaq* с ингибирующими активность фермента антителами, по 0,2 мкл прямого и

обратного специфических праймеров, dNTP- дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, 1 мкл матрицы (кДНК). Реакционную смесь доводили до общего объема 25 мкл добавлением деионизированной H<sub>2</sub>O. Специфические пары праймеров (5'-3') для анализа исследуемых и референс генов были подобраны с помощью программного обеспечения PrimerBlast ([www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast)) и изготовлены фирмой ThermoScientific, США. Амплификация происходила при таких условиях: инициированная денатурация 95°C — 10 мин.; далее 50 циклов: денатурация — 95°C, 15 сек., отжиг праймеров — 58-63°C, 30 сек., элонгация -72°C, 30 сек. Регистрация интенсивности флуоресценции происходила автоматически в конце стадии элонгации каждого цикла по каналу автоматически SybrGreen. В качестве референс-гена для определения относительного значения изменения уровня экспрессии исследуемых генов был использован ген *actin, beta* (*Actb*). Достоверность отличий между экспериментальными группами проводили при помощи непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Достоверными считали отличия с уровнем значимости более 95% (p<0,05). Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA for Windows 6.1» (StatSoft Inc., № AXH R712D833214SAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003».

### Результаты исследования и их обсуждение.

Анализируя данные, представленные в **таблицах 1 и 2**, характеризующие экспрессию мРНК eNOS и iNOS в миокарде крыс с АКМП, было установлено следующее. Показатели, характеризующие экспрессию мРНК eNOS в отдельных группах, получавших лечение, имеют относительно контроля более высокие цифровые значения, чем соответствующие значения по отношению к интакту. Характер экспрессии мРНК iNOS в группах, получавших лечение, имеет обратную зависимость — более низкое значение по отношению к контролю и более высокое значение в отношении интакта. Таким образом, можно заключить, что моделирование АКМП меняет характер экспрессии мРНК NOS в верхушке миокарда животных после хронической алкогольной интоксикации — происходит угнетение экспрессии мРНК эндотелиальной синтазы оксида азота и значительное повышение экспрессии мРНК индуцибельной NO-синтазы. Полученные данные лежат в русле современной концепции нарушений нитрогидрической системы миокарда при хроническом алкоголизме [13-16,18-22]. Полученные данные не противоречат и результатам, полученным нами ранее, которыми показано, что токсическое повреждение миокарда, в т. ч. и этанол-зависимое приводит к снижению экспрессии eNOS и повышению экспрессии iNOS, незначительному повышению активности общей NOS в цитоплазме кардиомиоцитов и активации нитрозирующего стресса [10,14,22]. В этом исследовании нами впервые получены данные, что при АКМП наблюдается угнетение мРНК eNOS. Это не противоречит данным других исследователей, а также представлениям о роли дефицита NO в формировании дисфункции

эндотелия и нарушениями диастолической функции сердца при алкогольной болезни, а также роли iNOS в продукции цитотоксических форм NO, участвующих в прямом повреждении миокарда [5,6,9,16].

**Таблица 1.**  
**Показатели экспрессии мРНК eNOS в миокарде крыс АКМП и на фоне лечения**

Группа животных	Экспрессия мРНК eNOS, у.е.	
	относительно интакта	относительно контроля
интактная	1,00±0,13	-
Контрольная (АКМП)	-	1,00±0,11
АКМП+ангиолин	5,3±0,76*	49,1±0,015 <sup>1</sup>
АКМП+милдронат	0,0056±0,0012*	0,864±0,0092
АКМП+мексидол	0,084±0,0020*	7,72±0,243 <sup>1</sup>

**Примечание:** \* —  $p \leq 0,05$  по отношению к интакту; <sup>1</sup> —  $p \leq 0,05$  по отношению к контролю.

**Таблица 2.**  
**Показатели экспрессии мРНК iNOS в миокарде крыс с АКМП и на фоне лечения**

Группа животных	Экспрессия мРНК iNOS, у.е.	
	относительно интакта	относительно контроля
интактная	1,00±0,12	-
Контрольная (АКМП)	-	1,00±0,12
АКМП+ангиолин	1,18±0,060*	0,075±0,0011 <sup>1</sup>
АКМП+милдронат	4,46±0,12*	2,81±0,134 <sup>1</sup>
АКМП+мексидол	3,14±0,51*	0,77±0,011 <sup>1</sup>

**Примечание:** \* —  $p \leq 0,05$  по отношению к интакту; <sup>1</sup> —  $p \leq 0,05$  по отношению к контролю.

Курсовое назначение Ангиолина животным с АКМП приводило к достоверному повышению в миокарде экспрессии мРНК eNOS относительно значений контроля в 49 раз и повышению экспрессии мРНК eNOS в 5,3 раза относительно значений интакта. Отмеченное повышение экспрессии мРНК eNOS относительно значений как контроля, так и интакта может быть объяснено следующим. Повышение экспрессии эндотелиальной NOS и снижение экспрессии индуцибельной NOS может расцениваться как проявление эндотелиопротективного и кардиопротективного действия препарата. Так, нами показано, что Ангиолин приводит к улучшению показателей, характеризующих систему продукции и транспорта NO и тиол-дисульфидное равновесие миокарда при его ишемии и токсическом поражении, снижая при этом уровень молекулярных маркеров эндотелиальной дисфункции [10]. Также установлено, что Ангиолин приводит к повышению выживаемости эндотелиоцитов сосудов капиллярной сети коры головного мозга и сосудистой стенки сосудов мозга, повышает количество пролиферирующих эндотелиоцитов, повышает коэффициент связывания VEGF с эндотелием сосудов при алкогольном поражении головного мозга [3]. Экспрессия мРНК iNOS под действием Ангиолина снижалась относительно значений контроля на 92,5%, но превышала аналогичные показатели

интакта на 18%. Выявленное уменьшение экспрессии мРНК iNOS под действием Ангиолина, можно пояснить его способностью снижать уровень АФК и цитотоксических форм NO, участвующих в регуляции экспрессии этого фермента [3,10]. Также снижение экспрессии РНК iNOS можно объяснить свойством фрагмента молекулы Ангиолина — 1,2,4-триазаолил-5-тиоацета защищать от избытка АФК чувствительные остатки цистеина – Cys 252, Cys 154 и Cys 61 в его ДНК-связывающих доменах, а также участвовать в восстановлении этих групп при обратимой инактивации принимая на себя роль Redox Faktor-1 [3]. Снижая избыточный уровень АФК, 1,2,4-триазаолил-5-тиоацет, опосредованно через регуляцию транскрипционного фактора NF-kB, способен регулировать экспрессию редокс-чувствительных генов в т. ч. и ответственных за синтез iNOS [3]. Курсовое назначение милдроната животным с АКМП не оказывало достоверного влияния на значение мРНК eNOS относительно значений контроля. Показатель мРНК eNOS в миокарде крыс с АКМП при введении милдроната был на 99,4% ниже значений интакта. Также было установлено, что в миокарде крыс, получавших милдронат, показатели мРНК iNOS были на 181% выше относительно контрольной группы и на 346% выше относительно интакта. Таким образом, нами установлено, что введение милдроната в условиях АКМП не влияет на экспрессию мРНК eNOS и приводит к дальнейшему повышению экспрессии мРНК iNOS в миокарде экспериментальных животных. Полученные данные соответствуют представлениям о влиянии милдроната на систему NO миокарда при его ишемии или токсическом повреждении. Экспериментально установлено, что милдронат не оказывает влияния на плотность eNOS-позитивных клеток, но достоверно увеличивает плотность iNOS-позитивных клеток в сердце животных с инфарктом миокарда. При этом уровень стабильных метаболитов NO и нитротирозина остается на уровне контрольной группы [10,17]. Выявленный эффект препарата может быть обусловлен тем, что милдронат, опосредованно через повышение концентрации гамма-бутиробетаина, способен влиять на регуляцию NFkB и экспрессию iNOS [17]. Курсовое назначение мексидола животным с АКМП приводило к достоверному повышению в миокарде экспрессии мРНК eNOS относительно значений контроля в 7,72 раза. При этом показатель мРНК eNOS в этой группе оставался ниже показателя интакта. Также установлено, что назначение мексидола приводило к снижению экспрессии мРНК iNOS в миокарде на 23% относительно значений контроля. При этом значения экспрессии мРНК данной изоформы NOS в миокарде крыс, получавших мексидол, были на 314% выше относительно значений интакта. Известно, что Мексидол повышает экспрессию eNOS, нормализует метаболические процессы в ишемизированном миокарде, уменьшает зону некроза, восстанавливает и/или улучшает электрическую активность и сократимость миокарда, а также увеличивает коронарный кровоток в зоне ишемии, повышает антиангинальную активность нитропрепаратов, улучшает реологические свойства крови, уменьшает последствия

реперфузионного синдрому при гострій коронарній недостаточності. Мексидол являясь сквенджером АФК, может прерывать АФК-зависимые механизмы экспрессии IL-1b и тем самым прерывать механизмы запуска экспрессии iNOS [3,8,11].

### Выводы

1. Моделирование алкогольной кардиомиопатии приводит к достоверному повышению экспрессии мРНК iNOS и подавлению экспрессии мРНК eNOS в миокарде экспериментальных животных.

2. Курсовое введение метаболитотропных кардиопротекторов — Ангиолина, Мексидола и Милдроната животным с экспериментальной кардиомиопатией приводило к изменению экспрессии в миокарде мРНК iNOS и мРНК eNOS в разной направленности и степени выраженности.

3. Введение Мексидола приводило к повышению экспрессии мРНК eNOS относительно значений кон-

троля, а введение Ангиолина, как относительно контроля, так и относительно интакта, на фоне снижения экспрессии мРНК iNOS относительно контроля.

4. Введение Милдроната не оказывало достоверного влияния на показатели экспрессии мРНК eNOS в миокарде экспериментальных животных и приводило к повышению экспрессии мРНК iNOS относительно значений как контроля, так и интакта.

5. Полученные данные являются экспериментальным обоснованием для применения Мексидола и, особенно, Ангиолина в комплексной терапии алкогольной кардиомиопатии.

**Перспективы дальнейших исследований** заключаются в дальнейшем изучении особенностей кардиопротективного действия Ангиолина и его преимуществ по сравнению с известными кардиопротекторами при экспериментальной алкогольной кардиомиопатии.

## Литература

1. Александров А.А. Выявление расстройств, вызванных употреблением алкоголя, в общемедицинской практике / А.А. Александров // Медицина. — 2007. — № 1 (56). — С. 12-15.
2. Беленичев И.Ф. Фармакологическая модуляция системы окиси азота при моделировании хронической алкогольной интоксикации у крыс / И.Ф. Беленичев, Е.П. Соколик // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2011. — № 10. — С. 43-45.
3. Беленичев И.Ф. Нейропротекция и нейропластичность: Монография / И.Ф. Беленичев, В.И. Черний, Е.А. Нагорна, С.В. Павлов, Н.В. Бухтиярова. — Киев: Логос, 2015. — 512 с.
4. Егоров А.Н. Роль нитрозирующего стресса в механизмах нейродеструкции в условиях пренатальной алкогольной интоксикации и пути фармакокоррекции возникающих нарушений / А.Н. Егоров, И.Ф. Беленичев, Е.П. Соколик, Л.И. Кучеренко // Запорожский медицинский журнал. — 2012. — № 5. — С. 25-28.
5. Драпкина О. Проблема алкогольной кардиомиопатии / О. Драпкина, Я. Ашихмин, В. Ивашкин // Врач. — 2005. — № 8. — С. 48-50.
6. Зенков Н.К. NO-синтазы в норме и при патологии различного генеза / Н.К. Зенков, Е.Б. Меньшиков, В.П. Реутов // Вестник АМН Украины. — 2000. — № 3. — С. 30-35.
7. Патент Российской Федерации № 21370492 СО7Д, А61К 31/41 и Патент України № 86668 МПК 200901 А61К 31/4196 № 200705865 Лизиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат, проявляющий нейропротективное, ноотропное, кардиопротективное, эндотелиопротективное, противоишемическое, антиоксидантное, противовоспалительное противогипоксическое действие и обладающий низкой токсичностью / Мазур И.А., Беленичев И.Ф., Колесник Ю.М., Кучеренко Л.И.; заявлено 04.06.2007. — Оpubл. 20.10.2009.
8. Тюренков И.Н. Влияние мексидола и сулодексина на уровень специфических маркеров развития эндотелиальной дисфункции у животных с сахарным диабетом / И.Н. Тюренков, А.В. Воронков, А.А. Слиецанс // Экспер. и клин. фармакол. — 2012. — Т. 75, № 35. — С. 14-15.
9. Aberle N.S. Acetaldehyde-induced cardiac contractile dysfunction may be alleviated by vitamin B1 but not by vitamins B6 or B12 / N.S. Aberle, L. Burd, B.H. Zhao // Alcohol & Alcoholism. — 2014. — Vol. 39, № 5. — P. 450-454.
10. Belenichev I.F. Functional nitric oxide conjugate systems state/restored heart thiols of rats in modeling isadrine-pituitrin's myocardial infarction using metabolitotropic cardioprotector «Angiolin» / I.F. Belenichev, L.I. Kucherenko, E.A. Nagornaya, I.A. Mazur, N.V. Bukhtiyarova // International Journal of Basic & Clinical Pharmacology. — 2015. — Vol. 4, № 1. — P. 15-21.
11. Chekman I.S. Influence of mexidol on early genomic response and morphofunctional parameters of the brain cortex sensorimotor zone neurons after arteria carotis communis occlusion / I.S. Chekman, I.F. Belenichev, I.Yu. Yakovleva, N.A. Gorchakova, N.V. Bukhtiyarova // Oxid Antioxid Med Sci. — 2015. — Vol. 4, № 1. — P. 1-6.
12. David M.L. Synaptic Effects Induced by Alcohol / M.L. David, R. Marisa // Curr Top Behav Neurosci. — 2013. — № 13. — P. 31-86.
13. Deng X.S. Ethanol metabolism and effects: nitric oxide and its interaction / X.S. Deng, R.A. Deitrich // Curr. Clin. Pharmacol. — 2007. — № 2 (2). — P. 145-153.
14. El-Mas M.M. Ethanol Metabolism and Effects: Nitric Oxide and its Interaction / M.M. El-Mas, A.A. Abdel-Rahman // Alcohol. — 2013. — Vol. 47, № 4. — P. 339-346.
15. Fürsternann U. Nitric oxide synthases: regulation and function / U. Fürsternann, W.C. Sessa // Eur. Heart J. — 2012. — Vol. 33, № 7. — P. 829-837.
16. Inoue M. Cross-talk between NO and oxyradicals, a supersystem that regulates energy metabolism and survival of animals / M. Inoue, E.F. Sato, A.M. Park // Free Radic. Res. — 2000. — Vol. 33. — P. 757-770.
17. Kalvinsh I.Ya. Mildronate: mode of action and prospects of its application / I.Ya. Kalvinsh. — Riga, 2012. — 132 p.
18. Kharchenko O. Long-term alcohol consumption provokes oxidative and nitrosative stress in albino rats brain / O. Kharchenko // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2015. — № 3. — С. 49-54.
19. Lieber Charles S. Medical and Nutritional Complications of Alcoholism: Mechanisms and Management / Charles S. Lieber. — Springer, N.Y., 1992. — 677 p.
20. Michel Th. Cellular signaling and NO production / Th. Michel, P.M. Vanhoutte // Pflugers Arch. — 2010. — № 459. — P. 807-816.
21. Syapin P.J. Alcohol and nitric oxide production by cells of the brain / P.J. Syapin // Alcohol. — 1998. — № 16 (2). — P. 159-165.
22. Xin-sheng D. Ethanol Metabolism and Effects: Nitric Oxide and its Interaction / D. Xin-sheng, A.D. Richard // Curr. Clin. Pharmacol. — 2007. — № 2 (2). — P. 145-153.

УДК 616.831-092:616.89-008.441.3-036.12-085.272.4.014.4]-092.9

### ХАРАКТЕР ЕКСПРЕСІЇ мРНК iNOS ТА eNOS В МІОКАРДІ ЩУРІВ З АЛКОГОЛЬНОЮ КАРДІОМІОПАТІЄЮ НА ТЛІ ТЕРАПІЇ, ЩО ПРОВІДИТЬСЯ МЕТАБОЛІТОТРОПНИМИ КАРДІОПРОТЕКТОРАМИ

Беленічев І. Ф., Стеблюк В. С., Камишний О. М.

**Резюме.** В останній час у якості ще одного механізму ушкодження міокарду при алкоголізмі стали розглядати систему NO. У наш час майже відсутні роботи про характер експресії мРНК iNOS та eNOS в міокарді при алкогольній кардіоміопатії та медикаментозної корекції порушень нітросидергічної системи. Метою роботи було вивчення характеру експресії мРНК iNOS та eNOS в міокарді щурів при експериментальній алкогольній кардіоміопатії на фоні курсового застосування метаболітотропних кардіопротекторів – мілдронату та мексидолу, а також нового оригінального засобу – ангіоліна. Встановлено, що моделювання алкогольної кардіоміопатії призведе до достовірного підвищення експресії мРНК iNOS та пригнічення експресії мРНК eNOS у міокарді експериментальних тварин. Курсове внутрішньошлункове введення Ангіоліну (100 мг/кг), Мексидолу (200 мг/кг) та Мілдронату (250 мг/кг) тваринам з експериментальною кардіоміопатією призводило до змін експресії в міокарді мРНК iNOS і мРНК eNOS у різній спрямованості та ступені вираженості. Введення Мексидолу призводило до підвищення експресії мРНК eNOS стосовно показників контролю, а введення Ангіоліну і відносно інтакту, на тлі зниження експресії мРНК iNOS. Введення Мілдронату не виявляло достовірного впливу на показники експресії мРНК eNOS у міокарді експериментальних тварин та призводило до підвищення експресії мРНК iNOS відносно значень, як контролю, так і інтакту. Отримані дані є експериментальним підґрунтям для застосування Мексидолу та, особливо, Ангіоліну у комплексній терапії алкогольної кардіоміопатії.

**Ключові слова:** експериментальна алкогольна кардіоміопатія, ангіолін, мексидол, мілдронат, мРНК iNOS, мРНК eNOS.

УДК 616.831-092:616.89-008.441.3-036.12-085.272.4.014.4]-092.9

### ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ мРНК iNOS И eNOS В МИОКАРДЕ КРЫС С АЛКОГОЛЬНОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ И НА ФОНЕ ПРОВДИМОЙ ТЕРАПИИ МЕТАБОЛИТОТРОПНЫМИ КАРДИОПРОТЕКТОРАМИ

Беленічев І. Ф., Стеблюк В. С., Камишний О. М.

**Резюме.** В последнее время в качестве еще одного механизма повреждения миокарда при алкоголизме стали рассматривать систему NO. В настоящее время практически нет работ о характере экспрессии мРНК iNOS и eNOS в миокарде при алкогольной кардиомиопатии и медикаментозной коррекции нарушений нитросидергической системы. Целью работы было изучение характера экспрессии мРНК iNOS и eNOS в миокарде крыс при экспериментальной алкогольной кардиомиопатии на фоне курсового применения метаболитотропных кардиопротекторов — милдроната и мексидола, а также нового оригинального препарата — ангиолина. Установлено, что моделирование алкогольной кардиомиопатии приводит к достоверному повышению экспрессии мРНК iNOS и подавлению экспрессии мРНК eNOS в миокарде экспериментальных животных. Курсовое внутривенное введение Ангиолина (100 мг/кг), Мексидола (200 мг/кг) и Милдроната (250 мг/кг) животным с экспериментальной кардиомиопатией приводило к изменению экспрессии в миокарде мРНК iNOS и мРНК eNOS в разной направленности и степени выраженности. Введение Мексидола приводило к повышению экспрессии мРНК eNOS относительно значений контроля, а введение Ангиолина и относительно интакта, на фоне снижения экспрессии мРНК iNOS. Введение Милдроната не оказывало достоверного влияния на показатели экспрессии мРНК eNOS в миокарде экспериментальных животных и приводило к повышению экспрессии мРНК iNOS относительно значений контроля, так и интакта. Полученные данные являются экспериментальным обоснованием для применения Мексидола и, особенно, Ангиолина в комплексной терапии алкогольной кардиомиопатии.

**Ключевые слова:** экспериментальная алкогольная кардиомиопатия, ангиолин, мексидол, милдронат, мРНК iNOS, мРНК eNOS.

UDC 616.831-092:616.89-008.441.3-036.12-085.272.4.014.4]-092.9

### THE mRNA EXPRESSION CHARACTER OF iNOS AND eNOS IN THE RATS MYOCARDIUM WITH ALCOHOLIC CARDIOMYOPATHY DURING METABOLITOTROPIC CARDIOPROTECTORS THERAPY

Bielenichev I. F., Stebliuk V. S., Kamyshnyi O. M.

**Abstract.** The prevalence of alcohol abuse, high mortality and alcoholic injury of heart muscle allow identifying alcoholic cardiomyopathy as the most relevant problem in modern medicine. Recently, as another mechanism of myocardial damage during alcoholism, the NO system has been considered. At present, there is practically no work about the mRNA expression of iNOS and eNOS in the myocardium in alcoholic cardiomyopathy and drug-induced correction of nitroxidergic system disorders.

*The aim* is to study the character mRNA expression of the iNOS and eNOS in rat's myocardium with experimental alcoholic cardiomyopathy against the use of metabolitotropic cardioprotectors mildronate and mexidol, and against a new original drug angiolin. It is found that the alcoholic cardiomyopathy simulation resulted in a significant increased mRNA expression of iNOS and inhibition mRNA expression of eNOS in the experimental animals' myocardium. Sixty white mongrel rats of males with a body weight of 180-200 g and age of 4.5 months, who were kept in the vivarium with free access to food, were used in the experiments. Alcoholic cardiomyopathy was caused by daily intragastric injection of a 20% solution of ethanol at a dose of 8 g/kg for 90 days. From 90 days, alcoholization was stopped and experimental therapy was performed with the studied drugs, and the observation continued for 30 days. Test drugs were administered intragastrically using a metal probe – Angiolin ((S)-2,6-diaminohexanoic acid 3-methyl-1,2,4-triazolyl-

5-thioacetate) (NPA «Farmatron», Ukraine) — 100 mg/kg; Mildronate (Grindeks, Latvia) — 250 mg/kg; Mexidol (NPK Pharmasoft Ltd., Russia) — 200 mg/kg. The control and the intact groups received saline. At the end the animals were removed from the experiment in 2-4 minutes after injection of sodium ethaminal (40 mg/kg). To evaluate the mRNA expression state of iNOS and eNOS, real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in myocardial sections (5 microns) was used. The results of the study were processed using a statistical package of the licensed programs «STATISTICA for Windows 6.1» (StatSoft Inc.), «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». It has been established that the alcoholic cardiomyopathy modeling leads to a significant increase mRNA expression of iNOS and inhibition mRNA expression of eNOS in the experimental animals' myocardium. The course injection of metabotropotropic cardioprotectors Angiolin, Mexidol and Mildronate to animals with experimental cardiomyopathy resulted to a change in the mRNA expression of iNOS and eNOS in the myocardium in different directions and severity. Thus, the Mexidol injection led to an increase in the mRNA expression of eNOS relative to control values, Angiolin injection – to control and intact, against a background decreased mRNA expression of iNOS relative to control. Mildronate injection did not significantly affect the mRNA expression of eNOS and led to an increase mRNA expression of iNOS in the myocardium of experimental animals relative to both control and intact. Increasing the expression of endothelial NOS and reducing the expression of inducible NOS can be regarded as a manifestation of the endothelioprotective and cardioprotective effects of angiolin. The obtained data are experimental justification for the use of Mexidol and, especially, Angiolin in the complex therapy of alcoholic cardiomyopathy.

**Keywords:** experimental alcoholic cardiomyopathy, angiolin, mexidol, mildronate, mRNA iNOS, mRNA eNOS.

*Рецензент – проф. Дев'яткіна Т. О.  
Стаття надійшла 08.03.2017 року*

УДК 616.127-089.844

**Бицадзе А. Г.**

### РАННИЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА ПРИ ЭКСТРЕННОМ КОРОНАРНОМ ШУНТИРОВАНИИ

Институт Сердца МОЗ Украины (г. Киев)

[lexo2081@rambler.ru](mailto:lexo2081@rambler.ru)

Статья является фрагментом НИР «Екстрена хірургічна коронарна ревазуляризація у пацієнтів з гострим інфарктом міокарда», № государственной регистрации 0115U004849.

**Вступление.** В большинстве многоцентровых исследований чрескожные коронарные вмешательства представлены как метод выбора при лечении у пациентов с острым инфарктом миокарда (ИМ) [3,4]. Как следствие, стентирование коронарных артерий выполняется даже в тех случаях, где оно не является приоритетным [6,8]. В то же время, экстренное аорто-коронарное шунтирование при трехсосудистом поражении выполняется лишь в 5,0% случаев среди всех пациентов с острым инфарктом [1].

Неутешительная статистика получена также при осложнении острого инфаркта миокарда кардиогенным шоком — только 3,5% больных проводится хирургическая ревазуляризация [5], при этом АКШ рассматривается лишь как методика отчаяния [7].

Поэтому изучение результатов экстренной хирургической ревазуляризации у пациентов с острым инфарктом миокарда как первичного метода является актуальной проблемой современной кардиологии и кардиохирургии.

По данным исследований, развитие почечной дисфункции после выполнения коронарного шунтирования впервые рассмотрено Mangano С.М. и соавт. в большом многоцентровом исследовании с включением 2222 пациентов [9].

Кроме того, среди важных причин послеоперационной заболеваемости у кардиохирургических

больных следует отметить сравнительно высокую частоту респираторных осложнений, которые способствуют удлинению срока пребывания пациента в стационаре. В частности, особое место занимают такие клинические состояния, как пролонгированная механическая вентиляция, диафрагмальная дисфункция, ателектаз легких и пневмония [1,10].

Наличие значительного количества респираторных осложнений объясняется тесной сердечно-легочной взаимосвязью, а также распространенностью вторичной к острому инфаркту миокарда дисфункцией легких на фоне застойной сердечной недостаточности.

Пролонгированная послеоперационная интубация и механическая вентиляция в результате респираторной или острой сердечной недостаточности могут приводить к вентилятор-ассоциированной пневмонии. В частности, в проспективном исследовании Weissman С. риск пневмонии повышался на 1,0 каждым днем механической вентиляции [10].

Таким образом, ранние послеоперационные осложнения являются актуальной проблемой кардиохирургии у больных с острым инфарктом миокарда после экстренной хирургической ревазуляризации.

В связи этим, **целью исследования** было провести проспективный анализ непосредственных клинических результатов раннего послеоперационного периода при экстренном коронарном шунтировании.