

## ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ СЕРЦЯ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-МАСОВИЙ РОЗПОДІЛ ПЕПТИДІВ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ІНФАРКТОМ МІОКАРДА

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків)

n.chizh@ukr.net

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Робота виконана в рамках наукової роботи Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України «Визначення пептидного складу сироватки крові при ішемії і некрозі міокарда та під час ремодуляції серця», державний реєстраційний номер роботи 0117U000851.

**Вступ.** Патологія серцево-судинної системи займає перше місце в структурі захворюваності і смертності населення розвинених країн світу. В середньому на рік в Україні трапляються близько 40 тис. інфарктів [1].

Зміна електрофізіологічних показників, пов'язаних з порушенням метаболізму в серцевій тканині, поряд з больовим синдромом, є також однією з перших ознак розвитку інфаркту міокарда (ІМ). І тому, електрокардіографічне (ЕКГ) дослідження є одним із критеріїв при постановці даного діагнозу. Крім того, дослідження динаміки показників ЕКГ дозволяє оцінити ступінь прояву морфологічних змін серця при розвитку деструктивно-запальної реакції в органі та провести моніторинг відновлення серцевого м'яза в процесі лікування.

У дослідженнях останніх років зріс інтерес до серцево-судинних біомаркерів з метою оцінки ризику при ішемічній хворобі серця. Особливе значення диференційний діагноз ішемії і некрозу міокарда набуває при гострому коронарному синдромі [2]. Наростаюча гіпоксія міокарда цілком може стати першопричиною активації імунної системи і приводити до зростання прозапальних цитокінів. Така послідовність подій побічно підтверджується залежністю рівня прозапальних цитокінів від ішемії [3,4].

Останніми та такими, що ще не в повній мірі розкрили свій потенціал методами клінічного аналізу плазми крові стали методи, засновані на застосуванні протеомних та пептидомних технологій [5]. Такі технології по праву займають місце серед найвисокочутливіших і універсальних методів дослідження в сучасній експериментальній науці. Вони призначені для вивчення повного спектра білків і пептидів плазми крові в нормі та при різних патологічних станах. Молекулярно-масовий розподіл пептидів в сироватці крові може бути як один із нових маркерів ІМ та його перебігу, оскільки відомо, що поява деяких пептидів може вказувати на розвиток несприятливих серцево-судинних подій [6,7].

Одним з найбільш ефективних додаткових методів контролю гомеостазу живих систем є флуоресцентний метод. Чим більше токсинів поступає у кров'яне русло, тим більше їх знаходяться в зв'язаному стані на альбуміні [8]. За допомогою флуоресцентних зондів можна досліджувати молекулярні механізми виникнення і розвитку патологічних процесів, дія на організм біологічно активних речовин і лікарських препаратів. Флуоресцентні зонди

застосовуються також для діагностики і прогнозу розвитку захворювань, виявлення факторів ризику і контролю ефективності лікування [9,10].

**Метою дослідження** було проаналізувати зміни електрофізіологічних показників серця, молекулярно-масового розподілу пептидів в сироватці крові та навантаженість альбуміну лігандами при розвитку некрозу і ремоделюванні серця з експериментальним інфарктом міокарда у щурів.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експерименти проводили за регламентом, затвердженим Комітетом з біоетики ІПКіК НАН України, який було розроблено відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», схвалених III Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2007) і узгоджених з положеннями «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, Франція, 1986).

Експерименти по моделюванню некрозу міокарда проводили на 30 безпородних щурах-самцях масою 180-250 г під інгаляційним наркозом на спонтанному диханні. Некроз міокарда моделювали шляхом перев'язки проленою ниткою № 6.0 низхідної гілки лівої коронарної артерії на межі верхньої та середньої третини судини [11].

Реєстрацію електрокардіограм (ЕКГ) здійснювали на апаратно-програмному комплексі «Полі-Спектр-8/В», компанії «Нейрософт» (Росія) в трьох стандартних (I, II, III) і трьох додаткових (avR, avL, avF) відведеннях. Контурний аналіз усередненого кардіокомплексу проводили за допомогою програми «Полі-Спектр-Аналіз». Запис ЕКГ здійснювали в умовах, максимально наближених до вільної поведінки тварин [12].

Для визначення молекулярно-масового розподілу низькомолекулярних фракцій пептидної природи використовували метод вискоефективної гельпроникної хроматографії. Гель-фільтрацію проводили на колонці діаметром 16 мм та довжиною 400 мм, заповнену полівініловим гелем TSKGel Toyopearl HW-40 Fine (Японія). Елюацію проводили фосфатно-сольовим буфером такого складу:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{NaH}_2\text{PO}_4$  – 30 ммоль/л,  $\text{NaCl}$  – 100 ммоль/л,  $\text{pH}$  – 7,5. Хроматограми реєстрували за допомогою ультрафіолетового детектора LKB -2238 Uvicord S11 при довжині хвилі 254 нм.

Сироватку крові щурів для спектральних досліджень розводили натрій-фосфатним буфером в 40 разів. Середній вміст альбуміну в сироватці складав 2,4 ммоль/мл.

У дослідженнях використовували флуоресцентні зонди K-35 і E-176, синтезовані в ДНУ «НТК Інститут монокристалів» НАН України (Харків). Для проведення досліджень зонди готували у вигляді спиртових розчинів. Спектри флуоресценції зразків записува-

ли на спектрофлуориметрі Cary Eclipse (Varian, Australia). Для обробки і візуалізації спектрів використовували програму Microcal Origin 6.0. Експериментальні дослідження проводили на 1, 7, 14 та 30 добу.

Статистичну обробку результатів проводили використовуючи критерій Краскела-Уолліса за допомогою пакета програм STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Аналіз усередненого QRS комплексу щурів у нормі показав, що на ЕКГ у II відведенні зубці q і s були відсутні. Тривалість зубця R становила  $29 \pm 0,88$  мс, а амплітуда зубця R –  $0,27 \pm 0,02$  мВ. Амплітуда зубця T, що відображає фазу відновлення м'язової тканини серцевих шлуночків між скороченнями міокарда в нормі дорівнювала  $10,8 \pm 0,9$  мВ, що становило приблизно 1/3 амплітуди зубця R. Електрична систола шлуночків (інтервал QT), від якої залежить частота серцевих скорочень (ЧСС) в нормі становила  $77,6 \pm 1,5$  мс. При цьому, ЧСС дорівнювала  $408 \pm 15$  скорочень на хвилину (табл. 1).

Відсутність реканалізації судини, що пов'язано з перев'язкою *a. coronariae*, призводило до появи змін комплексу QRS, який набував ряд рис, характерних для розвитку найгострішої і гострої фази ІМ. Перш за все, падіння амплітуди зубця R в II і в I відведеннях до  $0,10$  і  $0,07$  мВ відповідно, що на 62% нижче показників норми.

Наряду зі зниженням амплітуди зменшувалася тривалість зубця R в II відведенні на 25% і на 44% в I відведенні. Результатом цих змін було зменшення тривалості RR інтервалів до 125,4 мс при нормі 148 мс і, як наслідок, збільшення ЧСС на 19% (до 487 ударів/хв) в порівнянні з нормою, що свідчило про посилену функціональну активність серця в стані ішемії органу.

Амплітуда зубця Q або QS в avL відведенні у середньому дорівнювала мінус  $0,10 \pm 0,02$  мВ і тривалістю до  $23,1 \pm 1,3$  мс. Також реєстрували реципрокні (зворотні) зміни в avL відведенні, що вказувало на наявність некрозу в відповідних областях передньої стінки серця і формування у щурів поширеного передне-бокового інфаркту міокарда. Кут  $\alpha$ , ° при цьому істотно не змінювався (табл. 1) [13,14].

Про ішемію навколо некротизованих тканин міокарда на ЕКГ свідчила наявність «коронарного» зубця T в avF відведенні. Ішемічне пошкодження відображалось злиттям зубця T з комплексом QRS і формуванням елевачії сегмента ST в I, II, III та avL відведеннях, що свідчило про порушення кровопостачання (епікардіальне і трансмуральне ішемічне ушкодження) в басейні міжшлуночкової гілки лівої коронарної артерії.

Таким чином, у щурів після перев'язки низхідної гілки лівої коронарної артерії на 1 добу реєстрували електрокардіологічні показники, що характерні для поширеного передне-бокового некрозу міокарда, що підтверджувалося зміною кардіографічних комплексів в II, I, і avL відведеннях.

Таблиця 1.

**Динаміка електрокардіографічних показників щурів після моделювання інфаркту міокарда у I, II та avL відведеннях**

Показники	Норма	1 доба	7 доба	14 доба	30 доба
II відведення					
P, мВ	0,03±0,01	0,03±0,01	0,02±0,01	0,03±0,01	0,02±0,01
P, мс	25±0,5	25,4±0,8	26,5±0,7	26,3±0,9	27,0±0,6
R, мВ	0,27±0,02	0,10±0,02*	0,17±0,02*	0,23±0,02	0,18±0,03
R, мс	29±0,88	21,6±2,3	23,0±1,4	27,0±1,0	25,8±1,9
T, мВ	0,10±0,02	0,12±0,02	0,04±0,02*	0,06±0,02	0,11±0,02
T, мс	48±1,7	39,6±3,4	42,8±3,1	40,7±2,2	48,6±2,3
R-R ср., мс	148±6,0	125,4±5,6	123,0±2,9	161,0±37,3	123,0±4,4
ЧСС, скр./хв.	408±15,6	487,9±16,4*	491,4±10,8	444,3±44,2	491,2±18,4
Кут $\alpha$ , °	47±5,5	48,9±12,5	23,2±8,9*	33,2±7,3	47,4±18,9
I відведення					
R, мВ	0,17±0,02	0,07±0,02	0,17±0,02	0,21±0,03	0,14±0,06
R, мс	24,9±1,0	13,8±3,0*	24,6±1,9	25,6±1,8	17,4±5,4
avL відведення					
R, мВ	0,05±0,01	0,04±0,01	0,10±0,02	0,14±0,03	0,11±0,04
R, мс	13,2±3,4	11,0±3,1	19,9±2,9	22,5±2,5	16,6±4,7
Q, мВ	-	0,10±0,02*	-0,08±0,03	-0,09±0,03	-0,10±0,03
Q, мс	-	23,1±1,3	21,3±4,0	18,2±1,4	20±4,0

Примітка. \* – показники статистично значимо відрізняються від норми,  $p < 0,05$ .

Відомо, що ендотоксикоз займає одне з провідних місць в патогенезі хвороб [15]. Досить точним критерієм наявності та вираженості синдрому «метаболическої інтоксикації» в організмі є концентрація молекул середньої маси (МСМ) в сироватці крові, тобто речовин з молекулярною масою від 300–500 до 5000, які несприятливо впливають на метаболічні процеси в організмі. Даний показник використовується як маркер інтоксикації різного генезу для визначення ступеня тяжкості патологічного процесу [16]. Було показано, що при ІМ в сироватці крові підвищується вміст МСМ [17]. У клініко-біохімічному аналізі МСМ становлять інтерес у діагностичному й біорегуляторному аспектах.

Як видно з таблиці 2, на хроматограмі пептидів сироватки крові контрольних (здорових) щурів спостерігається 8 піків. Максимальним з них є пік пептидів Р з середньою м.м.  $>10\ 000$  і становить  $61,5 \pm 5,4$  %. Через 1 добу після моделювання ІМ, в гострій фазі, на хроматограмі спостерігається 12 піків. При цьому пік Р значно зменшується (до  $3,3 \pm 1,0$  %), і з'являються піки в області низькомолекулярних пептидів з м.м. від 290 до 527.

При накопиченні токсинів та МСМ в крові зменшується кількість вільних місць зв'язування на молекулі альбуміна. Часто природні флуоресцентні властивості макромолекул не дозволяють отримати з експерименту бажану інформацію. В такому разі обирають флуорофори, які мають кращі спектральні властивості. Використані нами флуоресцентні зонди мають спільні місця зв'язування на молекулі альбуміна з пептидами [18].

Зменшення інтенсивності флуоресценції зондів К-35 та Е-176 через 1 добу після моделювання ІМ свідчить про збільшення конкуренції пептидів сироватки крові за місця зв'язування на молекулі альбуміна та завантаженості альбуміну лігандами (табл. 3).

Через 7 діб після перев'язки лівої коронарної артерії основні кардіографічні показники майже не відрізнялися від показників попереднього термі-

**Таблиця 2.** Молекулярно-масовий розподіл пептидів (%) в сироватці крові щурів в нормі та в різні строки після моделювання ІМ

Номер піка	Пік	Молекулярна маса	Норма	Строк спостереження, доба			
				1	7	14	30
1	P	>10 000	61,5±5,4	3,3±1,1	41,6±0,3	34,2±2,1	63,3±4,3
2	A	8207	-	7,6±2,3	1,0±0,1	4,1±0,2	-
3	A2	5214	0,8±0,1	-	-	9,3±0,6	0,7±0,1
4	A4.2	2 252	0,1±0,1	-	-	-	0,1±0,1
5	B	1820	-	-	-	5,2±0,4	-
6	B1	1 508	2,10±0,1	-	0,6±0,2	19,1±1,7	3,1±0,2
7	B2	1 288	7,9±0,6	11,2±1,8	-	-	8,9±0,1
8	C	1 104	3,8±0,1	-	0,1±0,1	5,1±0,4	3,7±0,1
9	C1	940	-	3,8±0,7	-	15,1±0,1	-
10	D	829	23,3±1,1	0,6±0,1	0,101±0,1	-	19,0±1,0
11	E	580	-	0,5±0,1	-	8,0±0,6	-
12	F	532	1,3±0,1	0,3±0,1	1,5±0,2	-	1,1±0,1
13	G	527	-	2,3±0,2	1,3±0,1	-	-
14	G1	519	-	-	8,6±0,1	-	-
15	H	510	-	25,8±2,8	21,6±0,2	-	-
16	I	490	-	30,1±2,7	8,6±0,1	-	-
17	J	351	-	1,0±0,1	11,4±1,1	-	-
18	K	290	-	13,4±1,1	1,5±0,1	-	-

нювався характер самої хроматограми. Площа піка P збільшилась до 41,6±0,3 % при наявності низькомолекулярних пептидів, з м.м. меншою 527 (табл. 2).

На 7 добу спостереження зміни на спектрах флуоресценції, що проявлялися в незначному збільшенні інтенсивності флуоресценції зонда K-35 при зменшенні інтенсивності E-176. Це свідчить, що місця зв'язування цих зондів не повністю співпадають. До 14 доби інтенсивність флуоресценції зондів залишалась практично незмінною.

У щурів на 14 добу спостереження відзначали ознаки адаптації серцево-судинної системи до нового гемодинамічного стану. Відомо, що при аналізі морфологічних характеристик міокарда при моделюванні інфаркту до цього терміну спостереження відбувається заміщення некротизованих ділянок серцевого м'язу на сполучну тканину і початок формування постінфарктного рубця [19].

**Таблиця 3.** Інтенсивність флуоресценції зондів в сироватці крові щурів

Строк після моделювання ІМ	Інтенсивність флуоресценції, у.о.	
	Зонд K-35	Зонд E-176
норма	381±13	79±6
1 доба	175±13	73±4
7 діб	203±14	44±6
14 діб	207±15	48±11
30 діб	350±18	67±17

ну спостереження. В цей термін реєстрували чіткий комплекс QRS. Амплітуда зубця R в II відведенні досягала 0,17 ± 0,02 мВ, тривалістю до 23 мс. Також відзначали зниження амплітуди зубця T і збільшення його тривалості до 42 мс.

В avL відведенні реєстрували глибокий зубець Q до мінус -0,08 ± 0,03 мВ, тривалістю 21,3 ± 4,0 мс. У 2 із 6 щурів, у яких на 1-у добу реєстрували глибокий зубець QS відзначали депресію сегмента ST, що свідчило про триваючу загибель кардіоміоцитів в зоні пошкодження.

Тривалість R-R інтервалів достовірно не відрізнялося від попереднього терміну спостереження – 123 мс, і тому ЧСС залишалася на тому ж рівні – 491,4 ± 10,8 ударів / хв. Слід зазначити, що кут α, – показник електричної осі серця був різко змінений (23,2 ± 8,9°), і значно відрізнявся від показника попереднього терміну і норми (табл. 1). Ця обставина свідчить про початок процесів ремоделювання серця і зміни напрямку провідності сигналу внаслідок органічного ураження серцевої тканини.

Таким чином, у тварин через 7 діб після перев'язки гілки лівої коронарної артерії відзначали перехід найгострішої стадії інфаркту міокарда в гостру і підгостру, що підтверджувалося появою глибокого сегмента ST.

На хроматографах на 7 добу експерименту (гостра фаза ІМ) кількість піків також становило 12, але змі-

на статистично значущих відмінностей від норми досліджуваних показників тварин з ІМ у II відведенні не спостерігалось. Однак показник електричної осі серця склав 33,2 ± 7,3°, що достовірно відрізнявся від показника норми. У II відведенні реєстрували високий «коронарний» зубець T, який свідчить про субендокардіальну ішемію, відповідної стінки органу. У I і avL відведенні реєстрували яскраво виражену депресію сегмента ST і негативний зубець T до – 0,15 мВ, що свідчить про субендокардіальну ішемію пошкодження і субепікардіальну ішемію, що характерно для підгострої стадії інфаркту міокарда і порушення проходження електричного сигналу по серцевому м'язу в передньобічній стінці.

Таким чином, на 14 добу у щурів після перев'язки лівої коронарної артерії по II відведенні відзначали поступове відновлення основних електрокардіографічних показників.

На цей строк спостереження (початок формування сполучно-тканинного рубця та репаративної регенерації) кількість піків на хроматографах зменшувалась до 8. Але молекулярно-масовий розподіл пептидів в сироватці крові ще не повертався до норми. Пік P все ще в два рази менше норми і становив 34,2±2,2 %. В цей строк вже не реєструвалися пептиди з м.м. меншою 580.

На 30 добу спостереження наслідки перев'язки коронарної артерії зберігалися. Перебіг захворювання проходив класичним шляхом запалення, що закінчується формуванням сполучнотканинного рубця. Стадія рубцювання інфаркту міокарда супроводжувалася незначним зниженням амплітуди зубця R в II відведенні до 0,18 мВ. ЧСС залишалася високою (до 491 уд/хв). Показник електричної осі серця склав 47,4±18,9°, що достовірно відрізнявся від показника норми. В I і avL відведенні реєстрували збережену в 100% випадків депресію сегмента ST і наявність негативного зубця T до -0,13 мВ. На кордоні зони некрозу в II, III і avF відведеннях реєстрували високий «коро-

нарний» зубець Т, який підтверджує наявність ішемії міокарда прикордонних областей.

Таким чином, протягом всього терміну спостереження електрокардіографічні показники вказували на зміну фаз розвитку експериментального інфаркту міокарда та процеси ремоделювання серцевої тканини передньо-бічних відділів серця. Слід зазначити, що за даними ЕКГ у тварин до кінця не відбувалося відновлення електрофізіологічних показників. До 30 доби експерименту у всіх тварин в I і aVL відведеннях зберігалися ознаки субендокардіального пошкодження і субепікардіальної ішемії серцевого м'язу.

Відновлення електрофізіологічних показників, що пов'язане з формуванням сполучно-тканинного рубця в серці, відповідало змінам молекулярно-масового розподілу пептидів сироватки крові. Хроматограма пептидів сироватки крові практично не відрізнялась від хроматограми сироватки здорових щурів. Отже, на 30 добу спостерігається нормалізація молекулярно-масового розподілу пептидів в сироватці крові тварин, які перенесли ІМ.

На спектрах флуоресценції наприкінці строку спостереження відмічали істотне збільшення інтенсивності флуоресценції зондів, що свідчить про зменшення місць зв'язування, зайнятих пептидами. Як видно з **таблиці 3**, інтенсивність флуоресценції зондів залежить від строку, який пройшов після моделювання ІМ, і такий підхід може бути використаний для діагностики ішемії та вираженості її наслідків.

Окрім регуляторних пептидів існує великий пул пептидів, які є продуктами протеолітичної деградації білків. Довгий час весь пептидом розглядали виключно з цієї точки зору. Зараз все більше груп починають вивчати деградом як потенційне джерело діагностичної інформації. Продукти деградації білків, можуть відображати біологічні процеси всередині

організму [5]. Істинну роль пептидома ще належить вивчити.

### Висновки

1. Встановлено, що протягом всього терміну спостереження (30 діб) у щурів після перев'язки низхідної гілки лівої коронарної артерії, електрокардіографічні показники вказували на зміну фаз розвитку експериментального інфаркту міокарда та процеси ремоделювання тканини передньо-бічних відділів серця.

2. Встановлено зв'язок електрокардіографічних показників з пептидним профілем сироватки крові, і показана можливість діагностики ранньої серцевої інтоксикації за появою низькомолекулярних пептидів в сироватці крові. В гострій фазі інфаркту міокарда на 1 добу відмічали зміни молекулярно-масового розподілу, що відображалось зниженням піка в області високомолекулярних пептидів з м.м. > 10000 з 61,5% до 3,3%, та появою піків в області низькомолекулярних пептидів (м.м. 290-527).

3. Використання флуоресцентних зондів в клініко-біохімічних аналізах при експериментальному інфаркті міокарда показало, що такий підхід може бути використаний для діагностики ішемії та вираженості її наслідків. Встановлено, що на 1 добу після моделювання інфаркту міокарда відмічається дворазове зменшення інтенсивності флуоресцентного зонда K-35, що свідчить про збільшення конкуренції пептидів за місця зв'язування на молекулі альбуміна.

**Перспективи подальших досліджень.** Для уточнення патофізіологічних процесів і визначення вкладу регуляторних пептидів на різних стадіях перебігу інфаркту міокарда в подальшому планується провести ідентифікацію пептидів сироватки крові методом МАЛДі.

### Література

1. Kovalenko VM, Kornatskiy VM, Manoylenko TS. Dinamika stanu zdorov'ya narodu Ukrayini ta regionalni osoblivosti. Analitichno-statistichniy posibnik. Kiyiv; 2012. 211 s. [in Ukrainian].
2. Velkov VV. Novyye mezhdunarodnyye kriterii infarkta miokarda i vyisokochuvstvitelnyye troponiny: novyye vozmozhnosti i novyye problemy. Laboratorna diagnostika. 2013;64(2):59-71. [in Russian].
3. Soldatova OV, Kubyishkin AV, Ushakov AV. Dinamika urovnya provospalitelnykh tsitokinov pri razlichnykh variantah techeniya ostrogo infarkta miokarda. Biulleten Sibirskoi mieditsyny. 2017;16(1):92-100. [in Russian].
4. Lecour S, James RW. When are pro-inflammatory cytokines SAFE in heart failure? Eur Heart J. 2011;32 (6):680-5.
5. Govorun VM, Ivanov VT. Proteomika i peptidomika v fundamental'nyh i prikladnykh medicinskih issledovaniyah. Bioorg himiya. 2011;37(2):199-215. [in Russian].
6. Pavlov SV, Burlaka KA. Suchasni molekulyarno-genetichni markeri v diagnostitsi ta skringingu effektivnosti provedenoyi terapiyi zahvoryuvan sertsevo-sudinnoyi sistemi. Visnik problem biologii ta medicini. 2018;2(144):49-55. [in Ukrainian].
7. Savic-Radojevic A, Pljesa-Ercegovac M, Matic M. Novel Biomarkers of Heart Failure. Advances in Clinical Chemistry. 2017;79:93-152.
8. Povstyaniy MYu, Sheyman BS, Osadcha OI. Dinamika toksometrichnih pokaznikov u hvorih z tyazhkimi ta vkray tyazhkimi opikami. Shpital'na hirurgiya. 2001;4:53-6. [in Ukrainian].
9. Terehov SS, Smirnov IV, Shamborant OG. Sozdanie vysokoeffektivnogo fluorescentnogo zonda dlya izucheniya biodegradacii farmakologicheskikh belkovykh preparatov in vivo. Acta naturae. 2014;6(4):58-63. [in Russian].
10. Dobrecov GE. Razvitie tehniceskogo arsenalu metoda fluorescentnykh zondov. Biofizika. 2013;58(5):741-7. [in Russian].
11. Chizh NA, Babaeva AG, Sleta IV. Osobennosti razvitiya nekroza miokarda i remodelirovaniya serdca posle perevyazki koronaroy arterii i lokal'noy kriodestrukcii levogo zheludochka. Problemy kriobiologii. 2011;21(3):321-9. [in Russian].
12. Chizh NA. Sposoby registracii elektrokardiogramm u krysa dlya analiza variabel'nosti serdechnogo ritma. Eksperiment i klin medicina. 2015;68(3):44-7. [in Russian].
13. Cibul'kin NA. Sindrom udlinennogo intervala QT – osnovnye kliniko-patofiziologicheskie priznaki. Prakticheskaya medicina. 2012;60(5):98-103. [in Russian].
14. Murashko VV, Strutynskiy AV. Elektrokardiografiya. Moskva: MEDpressinform; 2004. 320 s. [in Russian].
15. Radchenko OM, Kondratyuk MO. Sindrom endogennoi intoksikacii v klinici vnutrishnih hvorob (oglyad literaturi ta vlasni sposterezhennya). Medichna gidrologiya ta rehabilitaciya. 2009;7(3):25-32. [in Ukrainian].
16. Medvedev BI, Kazachkova EA, Astahova TV, Popova AS. Diagnosticheskie i prognosticheskie vozmozhnosti ispol'zovaniya pokazateley molekul sredney massy i srednemolekulyarnykh peptidov syvorotki krovi pri vospalitel'nykh zabolevaniyah organov malogo taza zhenschin. Akusherstvo i ginekologiya. 1992;3(7):38-40. [in Russian].
17. Korochkin IM. Opredelenie soderzhaniya srednemolekulyarnykh peptidov v krovi bol'nykh ostrym infarktym miokarda. Lab delo. 1988;(9):15-21. [in Russian].

18. Rogoza LA, Bogatir'ova OO, Dyubko TS. Fluorescentni zondi dlya doslidzhennya peptidiv. Biotechnologia Acta. 2013;6(5):108-14. [in Ukrainian].
19. Trofimova AV, Chizh NA, Belochkina IV, Volina VV, Sandomirskiy BP. Morfologicheskie harakteristiki serdca posle indukcii terapevticheskoy gipotermii i vvedeniya mezenhimal'nyh stromal'nyh kletok v terapii eksperimental'nogo infarkta miokarda. Morfologiya. 2016;10(3):288-92. [in Russian].

### ЕЛЕКТРОФІЗИОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ СЕРЦЯ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-МАСОВИЙ РОЗПОДІЛ ПЕПТИДІВ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ІНФАРКТОМ МІОКАРДА

Чиж М. О., Гальченко С. Є.

**Резюме.** Експерименти проводили на 30 безпородних щурах-самцях. Некроз міокарда моделювали шляхом перев'язки низхідної гілки лівої коронарної артерії. *Результати.* Протягом всього терміну спостереження електрокардіографічні показники вказували на зміну фаз розвитку експериментального інфаркту міокарда та процеси ремоделювання серцевої тканини передньо-бічних відділів серця. За результатами аналізу хроматограм пептидів сироватки крові щурів встановлено, що в гострій фазі інфаркту міокарда на 1 добу відмічали зміни молекулярно-масового розподілу, що відображалось зниженням піка в області високомолекулярних пептидів з м.м. > 10000 з 61,5% до 3,3%, та появою піків в області низькомолекулярних пептидів діапазоні м.м. 290-527. Зменшення інтенсивності флуоресценції зондів через 1 добу після моделювання інфаркту міокарда свідчить про збільшення навантаженості альбуміна лігандами. *Висновки.* Встановлено, що молекулярно-масовий розподіл пептидів в сироватці крові та завантаженість альбуміна лігандами характерні для кожного етапу розвитку некрозу міокарда та його ремоделювання при експериментальному інфаркті міокарда. Такий підхід може бути використаний для діагностики інфаркту міокарда та вираженості його наслідків.

**Ключові слова:** інфаркт міокарда, електрокардіографія, сироватка крові, пептиди, флуоресцентні зонди.

### ЕЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЦА И МОЛЕКУЛЯРНО-МАССОВОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕПТИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

Чиж Н. А., Гальченко С. Е.

**Резюме.** Эксперименты проводили на 30 беспородных крысах-самцах. Некроз миокарда моделировали путем перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии. *Результаты.* В течение всего срока наблюдения электрокардиографические показатели указывали на смену фаз развития экспериментального инфаркта миокарда и процессы ремоделирования сердечной ткани передне-боковых отделов сердца. По результатам анализа хроматограмм пептидов сыворотки крови крыс установлено, что в острой фазе инфаркта миокарда на 1 сутки отмечали изменения молекулярно-массового распределения, отражалось снижением пика в области высокомолекулярных пептидов с м.м. > 10000 с 61,5% до 3,3%, и появлением пиков в области низкомолекулярных пептидов диапазоне м.м. 290-527. Снижение интенсивности флуоресценции зондов через 1 сутки после моделирования инфаркта миокарда свидетельствует об увеличении нагруженности альбумина лигандами. *Выводы.* Установлено, что молекулярно-массовое распределение пептидов в сыворотке крови и нагруженности альбумина лигандами характерны для каждого этапа развития некроза миокарда и его ремоделирование при экспериментальном инфаркте миокарда. Такой подход может быть использован для диагностики инфаркта миокарда и выраженности его последствий.

**Ключевые слова:** инфаркт миокарда, электрокардиография, сыворотка крови, пептиды, флуоресцентные зонды.

### CARDIAC ELECTROPHYSIOLOGICAL INDICES AND PEPTIDE MOLECULAR-MASS DISTRIBUTION IN BLOOD SERUM OF RATS WITH EXPERIMENTAL MYOCARDIAL INFARCTION

Chizh M. O., Galchenko S. Ye.

**Abstract.** Recent studies demonstrate an increasing interest to cardio-vascular biomarkers with assessing the risk in heart ischemic disease. Along with cardiac electrophysiological indices the molecular-mass distribution of peptides appears as one of novel markers of the risk of cardiovascular complications, since they indicate the effect on developing unfavorable cardiovascular events. Fluorescent probes are also applied for diagnosis and forecasting the developing diseases, revealing the risk factors and control of the treatment efficiency.

*Research aim* was to analyze the changes in electrophysiological indices of heart, molecular-mass distribution of peptides in blood serum and albumin loading with ligands during developing necrosis and remodeling of heart with experimental infarction in rats.

*Research object and methods.* Experiments were performed in 30 outbred male rats of 180-250 g weight under inhalation anesthetic spontaneous breath under the regulations approved by the Bioethics Committee of the IPC&C of the National Academy of Sciences of Ukraine. Myocardial necrosis was simulated by *left anterior descending coronary artery ligation*. Electrocardiograms (ECG) were recorded with digital ECG Poly-Spectrum 8/B system (Neorsoft, Russia).

To determine the molecular weight distribution of low molecular weight fractions of peptide nature, the method of highly effective gel permeation chromatography was used. Fluorescence probes K-35 and E-176, synthesized at State Scientific Institution "Institute for Single Crystals" of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kharkiv) was used the studies. The fluorescence spectra were recorded with a Cary Eclipse spectrometry (Varian, Australia). Microcal Origin 6.0 was used to process and visualize the spectra. Experimental studies were performed at days 1, 7, 14 and 30. The results were statistically processed with Kruskal-Wallis criterion using the STATISTICA 6.0 software (StatSoft, USA).

*Results.* During the entire observation period, the electrocardiographic indices noted a change in the phases of the development of an experimental myocardial infarction and the processes of remodeling of the cardiac tissue of anterior-lateral parts of the heart.

According to the analysis of the chromatogram of rat serum peptides, it was found that in an acute phase of myocardial infarction, the changes in molecular weight distribution in an acute phase of myocardial infarction were observed, which was reflected by a decrease of peak in the region of macromolecular peptides with m.w. > 10,000 from 61.5% to 3.3%, and the appearance of peaks in the region of low molecular weight peptides within the range of m.w. 290-527. Reducing the fluorescence intensity of probes in one day after the simulation of myocardial infarction indicates an increase in the loading of albumin by ligands.

*Conclusions.* Characteristic peptide molecular-mass distribution in blood serum and albumin loading with ligands for each stage of myocardium necrosis development and its remodeling in experimental myocardium infarction has been shown.

**Key words:** myocardial infarction, electrocardiography, blood serum, peptides, fluorescent probes.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Стаття надійшла 20.02.2019 року

DOI 10.29254/2077-4214-2019-1-2-149-197-200

UDC: [616.12-008.331.1+616.379-008.64]-056.25-005-07:616.13/.14

Shelest B. O.

### VASCULAR REMODELING IN HYPERTENSIVE PATIENTS WITH DIABETES AND OBESITY

Kharkov national medical university (Kharkov)

shelestb@ua.fm

**Publication relation to planned scientific research projects.** The work was performed within the framework of the planned scientific topics of the Kharkiv National Medical University, the Department of Internal and Professional Diseases «Improvement of cardiovascular risk assessment in presence of chronic obstructive pulmonary disease» (state registration number 0116U004989).

**Introduction.** The morbidity of diabetes over the past decade has increased several times and continues to grow steadily, becoming the most spread and economic-spending chronic diseases worldwide [1]. In Europe, at approximately 10,3% of males and 9,6% of females (aged over 25 years) suffer from diabetes, involving more than 66 million according to the [2]. The fasting glucose is linked with the mortality level, regardless of sex and age. Increased glucose level (100-125 mg/dL) is associated with increased mortality [3]. Diabetes mellitus is often accompanied by cardiovascular diseases that can affect its course and prognosis.

In recent years there have been lots of jobs indicating that diabetes mellitus may be a risk factor for the development of diseases, presumably influencing the reduction of patients' life expectancy [4]. The combination of AH with diabetes enhances the risk for cardiovascular diseases (CVD), retinopathy and nephropathy [5]. Diabetic patients have faster atherosclerosis development with premature vascular affection, manifested by increased contractibility of smooth muscle, higher rigidity and resistance. Consequently, these changes lead to the hypertension development [6]. According to the US data, the prevalence of arterial hypertension (AH) in patients with diabetes mellitus increases up to 74% [7].

One of the points of application of carbohydrate imbalance may be the vascular endothelium. The state of glucose metabolism is largely correlated with lipid abnormalities and blood pressure levels (BP). High glucose levels stimulate the proliferation of smooth muscular cells, vasoconstriction, impaired vascular endothelium integrity, the development of endothelial dysfunction (ED), increased stiffness of the arteries and, through these mechanisms, leads to progression of hypertension

[8]. Violation of the endothelial vascular control activity is the initial stage of atherosclerotic vascular lesion. This leads to an increase in rigidity of the arterial wall, which determines its rigidity, and an increase in the velocity of propagation of the pulse wave velocity (PWV). The thickening of the arterial walls due to hypertrophy and hyperplasia of smooth muscular cells of the media, the excitation of the connective tissue matrix of the poor elastin significantly aggravates the rigidity of the arteries leading to the decrease in their ability to change the diameter in response to fluctuations in blood pressure [9]. It has been established that the rigidity of the aortic wall correlates with PWV. The measurement of this indicator is considered the "gold standard" for assessing vascular rigidity, and its increase is an independent predictor of cardiovascular death in hypertensive patients [10]. In recent years, it has been proposed to evaluate the elastic properties of arteries in patients with a high risk of developing cardiovascular events (CVE) and AH with the help of the cardio-ankle vascular index (CAVI) [11]. The interrelation of CAVI and atherosclerosis of the carotid arteries in patients with essential hypertension and left ventricular diastolic dysfunction was revealed. CAVI is considered to be a reliable and independent marker of the vascular function, in particular, its rigidity (rigidity) [11,12].

With increasing blood pressure, age-related involution changes in the vascular wall itself and the formation of atherosclerotic plaques accelerate. In addition to the age, the influence on the sex, body mass index, and smoking remains relevant. The study of AH in patients with diabetes mellitus is relevant to general medical practice. This combination is a common cause of disability and reduced life expectancy of patients.

**The aim of the work** was to study the peculiarities of endothelial vascular control activity and arterial wall stiffness in hypertensive patients in combination with diabetes mellitus.

**Object and methods.** 69 patients were examined, 39 of them were diagnosed with AH of the stage II in combination with diabetes, which made up the main (1<sup>st</sup>) group (19 men (48.7%), average age 56.7 ± 6.4 years.