

complex became located slightly below, so topographic-anatomical relationship between these structures were completely lost. Left to the front surface of the adrenal there is the back wall of the stomach, rudiments of spleen, pancreas, dorsal mesogastrum. In the early period of prefetal development anterior boundary of primitive retroperitoneal space was represented by mesothelial layer, while posterior boundary of the space was relatively structureless. At investigated study of the ontogenesis at the back of the abdomen there were rudiments of adrenal glands, gonads and mesonephros, kidneys and ureters.

УДК 616.12 – 008.331.1:616 – 092.41 – 085: 615.225.2:615:036.6

Нагорна О.О., Бєленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Кучеренко Л.І., Мазур І.А., Чекман І.С.

ВПЛИВ АНГІОЛІНУ НА ПОКАЗНИКИ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В МІОКАРДІ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ ХРОНІЧНОЮ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя

В останні роки вчені світу звернули особливу увагу на ендотелій як патогенетичну мішень порушень серцевої діяльності при патологічних станах та точку прикладання дії лікарських засобів в експериментах на щурах з хронічною серцевою недостатністю, яку моделювали внутрішньоочеревинним введенням доксорубіцину (в кумулятивній дозі 15 мг/кг, поділеної на 6 ін'єкцій протягом 14 днів). В міокарді щурів визначали порушення показників енергетичного обміну – вмісту аденілових нуклеотидів, малату, ізоцитрату, пірувату, лактату, аспартату, глутамату, активності НАД-малатдегідрогенази, креатинфосфокінази в цитозолі і мітохондрія. Ангіолін при внутрішньошлунковому введенні в дозі 100 мг/кг у вигляді суспензії з Твіном-80 паралельно з доксорубіцином відновлював вміст та активність вищезазначених біохімічних показників енергетичного обміну. Мілдронат в дозі 250 мг/кг, який вводили за подібною схемою проявляв менш виражений вплив на біохімічні показники енергетичного обміну.

Ключові слова: ангіолін, мілдронат, хронічна серцева недостатність, енергетичний обмін міокарда.

Дана робота є фрагментом НДР «Експериментальне обґрунтування комбінованого застосування кардіотропних препаратів», № держ. реєстрації 0111U009417.

Вступ

В останні роки вчені світу звернули особливу увагу на ендотелій як патогенетичну мішень порушень серцевої і судинної діяльності при патологічних станах та точку прикладання дії лікарських засобів. Ендотелій підвищує судинний гомеостаз, реалізує вазодилатуючу, протизапальну, протифібринолітичну, антитромботичну, антигіпертензивну дію [1]. Дисфункція ендотелію спостерігається у більшості пацієнтів з серцево-судинними хворобами [4, 11].

Пошук ендотеліопротекторів здійснюють серед метаболічних і метаболітотропних сполук, які можуть володіти безпечністю та ефективністю [9,10]. Одним з нещодавно створених вітчизняних ендотеліопротекторів є ангіолін (первинна назва лізиній, синтезований НВО «Фарматрон») [2].

Мета дослідження

Встановлення впливу ангіоліну на показники енергетичного обміну в міокарді щурів при експериментальній серцевій недостатності.

Об'єкт і методи дослідження

Дослідження виконані на 70 білих безпородних щурах-самцях масою 180-220г, які утримувались у віварії НМУ імені О.О. Богомольця. Утримання тварин та експерименти проводили відповідно до положень «Європейської конвенції про захист безхребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних

принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Для відтворення хронічної серцевої недостатності застосовували доксорубіцинову модель [3]. Дана модель веде до розвитку вираженої та прогресуючої серцевої недостатності у більшості тварин. Призначення доксорубіцину (внутрішньоочеревинно в кумулятивній дозі 15 мг/кг поділеної на 6 ін'єкцій протягом 14 днів) веде до пониження скоротливості міокарду лівого шлуночка, його ремоделюванню і формуванню у щурів прогресуючої серцевої недостатності. В дослідженні застосовували доксорубіцин «Ебе-ве» 50 мг/25 мл (ЕБЕВЕ ФармаГесюмюб.Х.Нфг.КГ, Австрія). Доксорубіцин розводили фізіологічним розчином згідно інструкції до 25 мл і вводили в дозі 2,5 мг/кг (0,125 мл/ 100 г маси) внутрішньоочеревинно 1 раз на 2 доби протягом 14 днів.

Ангіолін вводили за схемою, що була запропонована Д.П. Хлопоніним [7]. Для оцінки кардіопротективних властивостей препарату, на даній моделі хронічної серцевої недостатності ангіолін вводили 1 раз на добу внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг у вигляді суспензії з Твіном-80 паралельно з введенням доксорубіцину протягом 14 діб, а потім ще протягом 21 доби. Референтним препаратом був метаболітотропний засіб мілдронат. Мілдронат вводили за такою ж схемою в дозі 250 мг/кг [5]. Тварин виводили з експерименту на 35 добу під тіопенталовим нарко-

зом (40 мг/кг). В роботі застосовували ангіолін у вигляді таблетованої маси НВО «Фарматрон» (Запоріжжя) та мілдронат в капсулах по 250 мг/кг виробництва АТ «Гриндекс» (Латвія). Кардіопротективну властивість оцінювали за змінами біохімічних маркерів, що свідчить про ішемічне пошкодження міокарду.

Тканини серця гомогенізували на холоді в сольовому ізотонічному середовищі (0,15МКСІ) при температурі 4 °С за допомогою скляного гомогенізатора у співвідношенні тканина-сольовий розчин 1:40. Безбілковий екстракт одержували додаванням гомогенату тканин серця до хлорної кислоти (0,6 М) із нейтралізацією (5,0М) калію карбонатом. Мітохондріальну фракцію виділяли методом диференційного центрифугування на рефрижераторній центрифугі Sigma (ФРН) у 10-разовому об'ємі.

Активність креатинфосфокінази в цитоплазмі (КФК -цт) та мітохондріях (КФК -мх) в міокарді визначали після хроматографічного поділення за оптичним тестом Варбурга [Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств. – Киев : Авиценна, 2002. – 568 с.]. Кількість малата визначали за методом Хохорста за

зменшенням НАДН при 340 нм. Вміст пірувата ідентифікували за методом Цоха-Ломпрехта за зменшенням НАДН при 340 нм, вміст лактату – за методом Хохорста за підвищенням НАДН при 340 нм. Активність НАД-залежної малатдегідрогенази визначали спектрофотометрично в мітохондріальній фракції. Аденілові нуклеотиди визначали методом тонкошарової хроматографії.

Вміст глутамату та аспартату розраховували за калібрувальною кривою з перерахуванням на вагу тканин [8].

Вірогідність результатів оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента, застосовуючи стандартний пакет програм статистичного оцінювання результатів версії Microsoft Office Excel 2003.

Результати дослідження та їх обговорення

В експериментах на щурах з ХСН, яку моделювали 14-денним введенням доксорубіцину, було встановлено порушення енергетичного обміну міокарду – показників гліколізу, що супроводжувалося зростанням рівня лактату в 3,3 разу, пониження вмісту малату на 73%, пірувату на 44%, ізоцитрату на 56% (табл.).

*Таблиця
Вплив ангіоліну і мілдронату на показники енергетичного обміну і малат-аспартатного шунта при ХСН на 35 добу експерименту*

Досліджувані показники	Інтактні щури	ХСН (контроль)	ХСН+ангіолін 100 мг/кг	ХСН+мілдронат 250 мг/кг
АТФ, мкмоль/г	2,81±0,21	1,63±0,17*	2,39±0,17** (+47%)	1,81±0,18* (+11%)
АДФ, мкмоль/г	0,622±0,04	0,288±0,03*	0,511±0,04** (+77,4%)	0,310±0,07* (+7,6%)
АМФ, мкмоль/г	0,11±0,01	0,28±0,01*	0,15±0,01** (-46,4%)	0,31±0,02* (+7,1%)
Лактат, мкмоль/г	2,47±0,22	8,11±0,52*	4,31±0,38** (-47%)	10,7±1,17* (+32%)
Піруват, мкмоль/г	0,18±0,02	0,10±0,01*	0,16±0,02** (+60%)	0,10±0,04* (0%)
Ізоцитрат, мкмоль/г	0,711±0,04	0,312±0,02*	0,421±0,04** (+35%)	0,317±0,03* (0%)
Малат, мкмоль/г	0,77±0,05	0,21±0,01*	0,60±0,05** (+185,7%)	0,22±0,03* (0%)
НАД-МДГ, мкмоль/г/хв	6,21±0,45	2,31±0,17*	6,83±0,45** (+195%)	2,47±0,22* (+7%)
Глутамат, мкмоль/г	24,1±1,8	17,7±1,0*	22,1±1,10** (+24,8%)	16,1±1,3* (-9%)
Аспартат, мкмоль/г	17,0±0,11	10,2±0,92*	14,0±1,0 (+37%)	9,51±0,71 (-6,7%)
КФК-цт, мкмоль/мг/хв	1,156±0,11	0,774±0,032*	1,121±0,11** (+44,8%)	0,822±0,054* (+9,6%)
КФК-мх, мкмоль/мг/хв	0,832±0,05	0,434±0,02*	0,789±0,04** (+81,8%)	0,451±0,07* (+4%)

*Примітка: *P<0,05 відносно контролю; **P<0,05 відносно ХСН.*

Спостерігається дефіцит макроергічних фосфатів: так рівень АТФ знижується на 42%, АДФ на 54% при підвищенні рівня АМФ на 61%. Зміни рівня малату та ізоцитрату свідчать також про зміни при ХСН реакцій циклу Кребса. Падіння активності залежної від НАД малатдегідрогенази на 63%, пониження вмісту глутамату на 27%, аспартату на 40%, малату на 73% пов'язано з гальмуванням малат-аспартатного шунту.

Крім того, порушується не тільки утворення енергії, а також її транспорт, про що стверджує падіння активності креатинфосфокінази, як в мітохондріях (КФК-мх) на 52%, так і в цитозолі (КФК-цт) на 33%.

Тобто при доксорубіциновій серцевій недостатності порушуються всі шляхи утворення енергії. Призначення ангіоліну тваринам з ХСН призводило до підвищення продукції АТФ в міокарді на 47% за рахунок інтенсифікації аеробних процесів. Важливим моментом в енерготропно-

му механізмі дії ангіоліну було те, що підвищення рівня АТФ на 47% відбувалося на фоні зростання вмісту АДФ на 77 4% та на фоні зменшення вмісту АМФ на 46,4%.

Курсове призначення ангіоліну вело до обмеження активності маловиробничого анаеробного гліколізу, про що свідчить пониження рівня лактату в міокарді на 47%. При цьому ангіолін проявляв нормалізуючу дію по відношенню до компонентів реакцій циклу Кребса на дикарбоновій ділянці (підвищення рівня малата на 185%). Ангіолін також мав позитивний вплив на окислювальні процеси на трикарбоновій ділянці циклу Кребса (підвищення рівня ізоцитрату на 35%).

Важливим моментом в механізмі енерготропної дії ангіоліну при порушенні енергетичного метаболізму на моделі ХСН був його активізуючий вплив на малат-аспартатний шунт, який здійснює перенос відновлених еквівалентів, що

утворюються в цитоплазмі під час гліколізу, та мітохондріях в умовах ішемії. НАДН⁺, який ідентифікується в цитоплазмі в умовах пониженого вмісту кисню, застосовується для перетворення щавлевооцтової кислоти в малат. Цей малат проникає в мітохондрії та бере участь в експорті альфа-кетоглутарату. Малат в мітохондріях перетворюється в щавлевооцтову кислоту з утворенням НАДН, який доступний для електротранспортного ланцюга (з 2 протонів утворюються 3 молекули АТФ). Щавлевооцтова кислота, що утворюється з малату, перетворюється в альфа-кетоглутарат і аспартат. Альфа-кетоглутарат переміщується з мітохондрій в обмін на малат, а аспартат обмінюється на глутамат. Перенос відбувається за рахунок градієнту глутамату та високого внутрішньомітохондріального співвідношення глутамат/аспартат. Співвідношення НАДН/НАД⁺ та малат/щавлевооцтова кислота регулюється малатдегідрогеназою (МДГ). Моделювання ХСН 14-добовим введенням доксорубіцину веде на 35 добу спостереження до гальмування малат-аспартатного шунта, що виражалося в пониженні активності НАД-МДГ на 63%, зменшенню рівня малату на 73%, аспартату на 40% та глутамату на 27%. Курсове призначення ангіоліну щурам з ХСН вело до інтенсифікації активності малат-аспартатного шунта в міокарді, про що свідчило підвищення активності НАД-МДГ на 195%, збільшення рівня малату на 185%, аспартату на 37%, глутамату на 24,8%. Ангіолін підвищує не лише продукцію енергії, але також і її транспорт, що підтверджено зростанням активності мітохондріальної креатинфосфокінази (КФК-мх) на 81,8%, цитозольної креатинфосфокінази (КФК-цт) на 44%. Введення мілдронату тваринам з ХСН призводило до підвищення синтезу АТФ за рахунок активації анаеробного гліколізу та до підвищення транспорту енергії, про що свідчить зростання активності мітохондріальної та цитозольної КФК. При цьому призначення мілдронату на відміну від застосування ангіоліну не мало позитивного впливу на окислювальну продукцію енергії в циклі Кребса і активацію малат-аспартатного компенсаторного шунта. Сумарний внесок мілдроната в енергозабезпеченні серця при експериментальній ХСН був нижче порівняно з аналогічною енерготропною дією ангіоліну.

Висновки

1. У міокарді щурів при хронічній доксорубіци-

Реферат

ДЕЙСТВИЕ АНГИОЛИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В МИОКАРДЕ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Нагорная Е.А., Беленичев И.Ф., Горчакова Н.А., Кучеренко Л.И., Мазур И.А., Чекман И.С.

Ключевые слова: ангиолин, милдронат, хроническая сердечная недостаточность, энергетический обмен миокарда.

В последние годы ученые мира обратили особое внимание на эндотелий как патогенетическую мишень нарушений сердечной деятельности при патологических состояниях и точку приложения действия лекарственных средств. В экспериментах на крысах с хронической сердечной недостаточностью, которую моделировали внутрибрюшинным введением доксорубицина (в кумулятивной дозе 15 мг/кг, разделённой на 6 инъекций в течении 14 дней) в миокарде крыс определяли нарушения показа-

новой сердечной недостаточности нарушаются показатели энергетического обмена: понижается вміст АТФ, АДФ, малату, ізоцитрату, пірувату, аспартату, глутамату, активність НАД-малатдегідрогенази, креатинфосфокінази в цитозолі і мітохондріях, зростає вміст АМФ і лактату.

2. Ангіолін в дозі 100 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні щурам відновлює вміст показників, що характеризують синтез, транспорт енергії, активність компонентів циклу Кребса та малат-аспартатного шунта. Мілдронат в дозі 250 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні щурам в меншому ступені відновлює показники енергетичного обміну в міокарді щурів з доксорубциновою хронічною серцевою недостатністю.

Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується визначення впливу ангіоліну на морфофункціональні показники кардіоміоцитів у експериментальних тварин з хронічною серцевою недостатністю.

Література

1. Бабушкина И. В. Структурные и функциональные особенности сосудистого эндотелия / И. В. Бабушкина, А. С. Сергеева, Ю. И. Пивоваров [и др.] // Кардиология. – 2015. – Т. 55, № 2. – С. 82-86.
2. Беленичев И.Ф. Деякі механізми ендотеліопротективної дії нового оригінального препарату лізину в умовах експериментального ішемічного пошкодження головного мозку / І.Ф. Беленичев, С.В. Павлов, І.А. Мазур, А.В. Абрамов // Одес. Мед. Журнал. – 2011. – № 2. – С. 21-24.
3. Метаболические кардиопротекторы / В.А. Визир, Н.А. Волошин, И.А. Мазур, И.Ф. Беленичев. – Запорожье, 2006. – 34 с.
4. Колесник Ю. М. Механізми розвитку ендотеліальної дисфункції та пошук ендотеліопротекторів / Ю. М. Колесник, І. С. Чекман, І. А. Мазур [та ін.] // Журнал Національної Академії медичних наук України. – 2014. – Т. 20, № 3. – С. 289-299.
5. Мазур И.А. Метаболитотропные препараты / И.А. Мазур, И.С. Чекман, И.Ф. Беленичев. – Запорожье, 2007. – 309 с.
6. Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств / А.В. Стефанов. – Киев : Вицвенна, 2002. – 568 с.
7. Хлопонин Д.П. Анализ кардиопротективного влияния небиволулу на ультраструктуру миокарда при регенеративно-пластической сердечной недостаточности у крыс / Д.П. Хлопонин // Биомедицина. – 2012. – Т. 1, № 1. – С. 86-91.
8. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних лікарських засобів первинної та вторинної нейропротекції. Методичні рекомендації / [І.С. Чекман, І.Ф. Беленичев, О.О. Нагорна та ін.]. – Київ, 2016. – 92 с.
9. Gabryel B. Superoxidedismutase 1 and glutathione peroxidase 1 are involved in the protective effect of sulodexide on vascular endothelial cells exposed to oxygen-glucose deprivation / B. Gabryel, K. Jarzabek, G. Machnik [et al.] // Microvasc. Res. – 2016. – Vol. 103. – P. 26-35.
10. Sukhanov D. S. Hepato- and endothelioprotective action of runihol and ademethionine in experimental liver injury induced by TB drugs in combination with alcohol / D. S. Sukhanov, E. B. Artyushkova, V. T. Dudka // Patol. Fisiol. Exsp. Ter. – 2013. – № 2. – P.45-49.
11. Toggweiler S. The prevalence of endothelial dysfunction in patients with and without coronary artery disease / S. Toggweiler, A. Schoenenberger, N. Urlunek, P. Erne // Clinical Cardiology. – 2010. – Vol. 33. – P. 746-752.

телей энергетического обмена – содержания адениловых нуклеотидов, малата, изоцитрата, пирувата, лактата, аспартата, глутамата, активности НАД-малатдегидрогеназы, креатинфосфокиназы в цитозоле и митохондриях. Ангиолин при внутривенном введении в дозе 100 мг/кг в виде суспензии с Твином-80 параллельно с доxorубицином восстанавливает содержание вышеупомянутых показателей энергетического обмена. Милдронат в дозе 250 мг/кг, который вводили согласно подобной схеме, оказывал менее выраженное влияние на биохимические показатели энергетического обмена.

Summary

ANGIOLIN INFLUENCE ON MARKERS OF ENERGETIC METABOLISM IN MYOCARDIUM OF RATS WITH MODELLED HEART INSUFFICIENCY

Nagornaya E.A., Belenichev I.F., Gorchakova N.A., Kucherenko L.I., Mazur I.A., Chekman I.S

Key words: angiolin, mildronat, chronic cardiac insufficiency, energetic metabolism of myocardium.

Last years the scientists throughout the world paid particular attention to the endothelium as pathogenetic target of the cardiac disturbances as well as the site of drugs action. There are many drugs designed to perform endothelioprotective functions such as vasodilators, ACE inhibitors, angiotensine receptor blockers, calcium channels blockers and different metabolic compounds. Angiolin is a new endothelioprotector with cardioprotective, antihypoxic, antioxidant, neuroprotective properties. The experiments were conducted on the 70 white rats weighed 180-220g, 10 of which had normotensive cardiac insufficiency, 20 rats had doxorubicin cardiac insufficiency treated by angiolin, and 20 rats had doxorubicin-induced cardiac insufficiency treated by mildronat that also provided endothelioprotective properties. Angiolin was injected intragastrically together with doxorubicin in the dose 100 mg/kg. Mildronat was injected intragastrically in the dose 250 mg/kg by the same scheme. The animals were decapitated under thiopental injection. It was found out that in the myocardium of rats affected with cardiac insufficiency the content of adenyl nucleotides (ATP, ADP), malate, pyruvate, isocitrate, aspartate, glutamate, activity of creatine-phosphokinase in cytosole and mitochondria and the activity of NAD-malate dehydrogenase was observed to be decreased. The content of lactate, AMP was increased. Angiolin normalized all markers of energetic metabolism. Mildronat was also observed to provide normalizing action.

УДК: 616.71-001-007-092.9-085.849.112:615.835.1:534.222.2:621.374-078-097:611-018.54:612.017.1

Се-Фей, Остапчук Р.Н.

ИММУННЫЕ КЛЕТКИ КРОВИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ УДАРНО-ВОЛНОВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ТРАВМЕ КОСТИ.

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, Киев

Ряд научных работ свидетельствуют об активизации экстракорпоральной ударно-волновой терапии костеобразовательных процессов. Одним из предполагаемых механизмов действия при этом рассматривается индукция иммунокомпетентных клеток. Цель исследования. Изучение влияния ударных волн на активность иммунных клеток сыворотки крови кролей в динамике до и после экспериментальной травмы большеберцовой кости. Материал и методы. Иммунологическими исследованиями на 40 кроликах изучено влияние ударных волн на активность иммунных клеток сыворотки крови животных в динамике до и после травмы кости. В сыворотке крови исследовали уровень цитотоксической активности лимфоцитов / макрофагов, цитотоксическую активность сыворотки крови, уровень среднемолекулярных циркулирующих иммунных комплексов. Результаты и выводы. Динамика выполненных исследований показала, что у животных на 2й день после травмы большеберцовой кости отмечается «частичный паралич» функциональной активности иммунных клеток сыворотки крови (фаза истощения). У животных опытной группы под влиянием ЭУВТ восстановление активности иммунных клеток сыворотки крови происходило более интенсивно, к концу наблюдения (45 день) их активность не только нормализовалась, но и достоверно превышала норматив.

Ключевые слова: иммунные клетки, ударно-волновая терапия.

Введение

Ряд данных литературы свидетельствует об эффективности фокусированной и радиальной экстракорпоральной ударно-волновой терапии ЭУВТ при лечении свежих переломов и псевдоартрозов. При свежих переломах эффект радиальной ЭУВТ связывают с индукцией стволовых мезенхимальных клеток костного мозга [2, 9], при псевдоартрозах – эффект фокусированной ЭУВТ обуславливают микроповреждениями ме-

жотломковых тканей с последующей пролиферацией остеидных клеток [3, 6]. Одним из факторов воздействия ЭУВТ на репаративный остеогенез является индукция функциональной активности иммунокомпетентных клеток [4, 5]. В ряде работ было показано, что в условиях экспериментальной травмы кости под влиянием радиальной ЭУВТ у животных наблюдается формирование костной мозоли с большим количеством иммунных агниогенных и остеогенных маркеров роста, с большим числом костных пе-