

УДК 616.12.008.331:616-0924]-[85:615.225.2:615.036.6

Нагорна О.О.

ВПЛИВ АНГІОЛІНУ ТА МІЛДРОНАТУ НА ІНТЕГРАТИВНІ ПОКАЗНИКИ СТІЙКОСТІ ОРГАНІЗМУ, ВМІСТ БІЛКУ, МОРФОМЕТРИЧНІ МАРКЕРИ В МІОКАРДІ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНІЙ СЕРЦЕВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ

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

Метою роботи було визначення впливу ангіоліну порівняно з мілдронатом на інтегративні показники стану тварин, вміст білку та морфометричні маркери в міокарді щурів з хронічною серцевою недостатністю. Вплив на інтегративні показники метаболіотропних засобів (ангіоліну та мілдронату) включає в себе їх дію на життєздатність тварин, в тому числі відсоток виживших тварин, кількість рухових актів за 3 хвилини, кількість тварин з високою симптоматикою хронічної серцевої недостатності, а також ідентифікацію маси тіла в першу та 35 добу експерименту, масу серця на 35-у добу, індекс маси серця (відношення маси серця до маси тіла) на 35-у добу експерименту. Експерименти проведені на білих безпородних щурах-самцях з доксорубіциновою хронічною серцевою недостатністю. Ангіолін вводили внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг, мілдронат в дозі 250 мг/кг протягом 14 днів з доксорубіцином, а потім ще до 35 днів. Встановлено, що при експериментальній хронічній серцевій недостатності загинуло 65% тварин, зменшилась кількість рухових актів за 3 хвилини, підвищився індекс маси серця за рахунок збільшення ядер апоптичних та деструктивно змінених кардіоміоцитів. Також спостерігали падіння вмісту білка в цитоплазмі та мітохондріях кардіоміоцитів, а також індекса маси серця. Ангіолін в більшому ступені ніж мілдронат відновлював інтегративні показники стійкості організму при хронічній серцевій недостатності, вміст білку і морфометричні маркери в міокарді щурів.

Ключові слова: ангіолін, мілдронат, хронічна серцева недостатність, інтегральні показники стійкості організму, морфометричні маркери, вміст білку.

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

Вступ

Відомо, що при алкогольної інтоксикації, порушення мозкового кровообігу прямий ендотеліопротектор ангіолін має позитивний вплив на загальний стан тварин, масу внутрішніх органів та загальні біохімічні показники в тканинах життєвоважливих органів [1]. Також відомо, що у виникненні хронічної серцевої недостатності беруть участь різні патофізіологічні процеси, що ведуть до зменшення сили, витривалості, тривалості життя, можливе виникнення міопатії [2]. В зв'язку з тим, що розвиток вищезазначених симптомів супроводжується ендотеліальною дисфункцією, доцільним є порівняння впливу прямого ендотеліопротектора ангіоліна та непрямого ендотеліопротектора мілдроната на можливі симптоми розвитку серцевої недостатності та біохімічні показники в цитозолі і мітохондріях кардіоміоцитів.

Мета дослідження

Визначення впливу ангіоліну порівняно з мілдронатом на інтегративні показники стану щурів, вміст білку та на морфометричні показники кардіоміоцитів міокарду щурів з ХСН.

Об'єкт та методи досліджень

Експерименти проведені на білих безпородних щурах-самцях, масою 180-200 г, які включали 10 інтактних щурів, 20 щурів з ХСН в якості контрольної групи, 20 щурів з ХСН, яким внутрішньошлунково вводили ангіолін, 20 щурів з ХСН, яким внутрішньошлунково вводили мілдронат. Спочатку тварин утримували в умовах віварію протягом 20 днів відповідно правил, які

були прийняті Європейською конвенцією з захисту хребетних тварин, а також Методичних рекомендацій ДЕЦ МОЗ України. Хронічну серцеву недостатність моделювали введенням доксорубіцину внутрішньоочередово, в кумулятивній дозі 15 мг/кг, поділений на 6 ін'єкцій протягом 14 днів, застосовуючи препарат фірми «Ебеве» (Австрія). Ангіолін вводили в дозі 100 мг/кг, а мілдронат – 250 мг/кг внутрішньошлунково разом з доксорубіцином, а потім ще до 35 днів, як і в попередніх дослідах [3]. Тварин виводили з експерименту на 35 добу під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг).

Вплив на інтегративні показники метаболіотропних засобів (ангіоліну та мілдронату) включає в себе їх дію на життєздатність тварин, в тому числі відсоток виживших тварин, кількість рухових актів за 3 хвилини, кількість тварин з високою симптоматикою ХСН, а також ідентифікацію маси тіла в першу та 35 добу експерименту, масу серця на 35-у добу, індекс маси серця (відношення маси серця до маси тіла) на 35-у добу експерименту, які визначали згідно Методичним рекомендаціям ДЕЦ МОЗ України [5]. Вміст білку в міокарді оцінювали за методом Бретфорда фотометрично при довжині хвилі 595 нм [4].

Механізм розвитку ХСН і її вплив на інтегративні показники пояснювався зміною морфометричних показників, таких як щільність ядер деструктивно змінених кардіоцитів на 1мм² площі міокарду, порушення регенеративних процесів міофібрил – середньою площею кардіоміоцитів. Морфометричний аналіз забарвлених кардіоміоцитів після депарафінування і забарвлення галоціанін-хромовими галунами проводили на мік-

роскопі Axioskop (Zeiss, Німеччина) за допомогою відеокамери СОНУ-4922 (США), вводили в систему цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Electronic, Німеччина). Результати дослідження оброблені з застосуванням статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA» for Windows 6.0, а також «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003».

Результати досліджень та їх обговорення

Введення доксорубіцину протягом 14 днів призводило до формування на 35 добу спостереження серцевої недостатності, що була клінічно підтверджена (у 100% щурів визначали гідроторакс, асцит, гепатомегалію, асцит мошонки). В групі контролю з 5 по 35 добу спостереження загинуло 65% тварин (табл. 1).

Таблиця 1
Вплив ангіоліну і мілдронату на виживання тварин при ХСН на 35 добу експерименту

Умови експерименту	Виживання	% виживших	Кількість рухових актів за 3 хвилини	Кількість тварин з високою симптоматикою ХСН
Інтактні тварини	10/10	100	32,7±7,8	0
ХСН (контроль)	20/7	35	15,5±8,4	7/7 (100%)
ХСН+ангіолін (100мг/кг)	20/14	70*	27,5±5,2**	14/6 (42,8%)
ХСН+мілдронат (250мг/кг)	20/8	40	18,7±6,4*	8/7 (87,5%)

Примітки: * $p < 0,05$ щодо контролю; ** $p < 0,05$ щодо мілдронату.

Таблиця 2
Вплив ангіоліну і мілдронату на масу тіла і індекс маси серця тварин при ХСН на 35 добу експерименту

Група тварин	Маса тіла на першу добу, г	Маса тіла на 35 добу, г	Маса серця на 35 добу, г	Індекс маси серця на 35 добу
Інтактні тварини	180,2±8,1	212,2±7,7	0,91±0,05	0,43±0,022
ХСН (контроль)	174,7±6,8	176,0±3,2	1,19±0,06	0,68±0,015*
ХСН+ангіолін (100мг/кг)	177,1±6,7	180,5±7,2	0,94±0,64**	0,52±0,01**
ХСН+мілдронат (250мг/кг)	175,1±5,7	176,2±5,2	1,12±0,05	0,62±0,023*

Примітки: * $p < 0,05$ щодо контролю; ** $p < 0,05$ щодо мілдронату.

Тварини в контрольній групі мало рухались, кількість рухових актів зменшилась з 32,7 до 15,5. Призначення тваринам з ХСН ангіоліну в дозі 100 мг/кг вело до достовірного пониження летальності. Так, виживання тварин в групі, що отримували ангіолін на фоні доксорубіцинової ХСН, складало 70% проти 35% в групі нелікованих тварин та 40% в групі тварин, що отримували мілдронат. Призначення ангіоліну сприяло зменшенню кількості тварин з високою симптоматикою (гідроторакс, асцит, набряк мошонки) до 42,8% проти 100% в групі контролю та 87,5% в групі тварин, яким вводили мілдронат.

Вивчення індексу маси серця (табл. 2) показало, що у щурів при моделюванні ХСН шляхом введення доксорубіцину протягом 14 днів розвивається гіпертрофія міокарду, що реєструється

на 35 добу експерименту. Показник гіпертрофії – індекс маси серця (відсоткове відношення маси серця до маси тіла тварин) у експериментальних тварин підвищився з 0,43±0,022 до 0,68±0,015 на 35 добу ($p < 0,05$). Курсове призначення ангіоліну уповільнило розвиток гіпертрофії на 35 добу, спостереження викликало незначне падіння індексу маси серця 23%. Курсове введення мілдронату незначно уповільнило розвиток гіпертрофії на 35 добу спостереження зменшив індекс маси тіла на 8,8%.

Встановлено, що на 35 добу експерименту в цитоплазмі та мітохондріях зменшується вміст білку відповідно на 27% та 46%. Ангіолін відновлює вміст білку в цитоплазмі на 30% та в мітохондріях на 57%, мілдронат на 23% в цитоплазмі та на 32% в мітохондріях (табл. 3).

Таблиця 3
Вплив ангіоліну і мілдронату на вміст білку в цитоплазмі і мітохондріях міокарду тварин при ХСН на 35 добу експерименту

Група тварин	Вміст білку в цитоплазмі	Вміст білку в мітохондріях
Інтактні тварини	112,2±3,5	15,6±1,5
ХСН (контроль)	81,3±1,6*	8,4±1,2*
ХСН+ангіолін (100мг/кг)	106,4±2,2**	13,2±1,8**
ХСН+мілдронат (250мг/кг)	100,1±1,2**	11,1±1,5**

Примітки: * $p < 0,05$ щодо інтактних тварин; ** $p < 0,05$ щодо контролю.

Таблиця 4
Вплив ангіоліну і мілдронату на морфометричні показники кардіоміоцитів тварин при ХСН на 35 добу експерименту

Група тварин	Площа кардіоміоцитів, мкм ²	Щільність ядер апоптичних і деструктивних змінених кардіоміоцитів на 1 мм ² площі
Інтактні тварини	14,7±0,33	77±5
ХСН (контроль)	10,3±0,34*	477±21
ХСН+ангіолін (100мг/кг)	15,4±0,21**	178±32*
ХСН+мілдронат (250мг/кг)	11,8±0,11	410±43

Примітки: * $p < 0,05$ щодо інтактних тварин; ** $p < 0,05$ щодо контролю.

Це узгоджується з морфометричними дослідженнями, які свідчать про морфологічну перебудову серцевого м'язу, порушення внутрішньоклітинної регенерації при доxorубіциновій кардіоміопатії та відновлення ультраструктур кардіоміоцитів. Тому, підвищення вмісту білку в цитоплазмі і мітохондріях після введення ангіоліну свідчить про інтенсифікацію пластичного оновлення кардіоміоцитів. З іншого боку, підвищення індексу маси серця може бути пов'язано з ростом площі апоптичних і деструктивно змінених структур. В даному випадку встановлено, що ангіолін достовірно зменшує цю площу, тобто значно попереджає загибель кардіоміоцитів (табл. 4).

Висновки

1. Ангіолін в дозі 100 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні щурам з ХСН подовжує виживання тварин, збільшує кількість рухових актів за 3 хвилини, зменшує кількість тварин з важкою симптоматикою.

2. Ангіолін при ХСН відновлює регенеративні

процеси, збільшуючи площу кардіоміоцитів і синтез білку.

3. Ангіолін при ХСН понижує індекс маси серця внаслідок зменшення площі апоптичних та деструктивно змінених кардіоміоцитів.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні впливу ангіоліну порівняно з милдронатом на вміст білків теплового шоку.

Література

1. Нейропротекция и нейропластичность / [И.Ф. Беленичев, В.И. Черный, Е.А. Нагорная и др.]. – К. : Логос, 2015. – 512 с.
2. Воронков Л.Г. Прогрессирование хронической сердечной недостаточности: определяющая роль системных патофизиологических механизмов / Л.Г. Воронков // Серцева недостатність. – 2016. – Додаток 2. – С. 6-11
3. Нагорна О. О. Вплив ангіоліну на показники системи оксиду азоту в міокарді щурів з експериментальною хронічною серцевою недостатністю / О. О. Нагорна, І. Ф. Беленічев, Н. О. Горчакова [та ін.] // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Вип. 4, Т. 2. – С. 96-99.
4. Прохорова М. И. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Прохорова М. И. – Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 272 с.
5. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств / А.В. Стефанов. – Киев : Авиценна, 2002. – 568 с.

Реферат

ВЛИЯНИЕ АНГИОЛИНА И МИЛДРОНАТА НА ИНТЕГРАТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СТОЙКОСТИ ОРГАНИЗМА, СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВ, MORFOMETRICHESKIE MARKERY V MIOKARDE KRYC PRI ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ
Нагорная Е. А.

Ключевые слова: ангиолин, милдронат, хроническая сердечная недостаточность, интегративные показатели стойкости организма, морфометрические маркеры, содержание белка.

Целью работы было определение влияния Ангиолина в сравнении с милдронатом на интегративные показатели состояния животных, содержание белка и морфометрические маркеры в миокарде крыс с хронической сердечной недостаточностью. Влияние на интегративные показатели метаболитотропных средств (ангиолина и милдроната) включает в себя их влияние на жизнеспособность животных, в том числе процент выживших животных, количество двигательных актов за 3 минуты, количество животных с высокой симптоматикой хронической сердечной недостаточности, а также идентификацию массы тела в первые и 35 сутки эксперимента, массу сердца на 35-е сутки эксперимента. Эксперименты проведены на белых беспородных крысах-самцах с доxorубіциновой хронической сердечной недостаточностью. Ангиолин вводили внутривенно в дозе 100 мг / кг, милдронат в дозе 250 мг / кг в течение 14 дней с доxorубіцином, а потом еще до 35 дней. Установлено, что при экспериментальной хронической сердечной недостаточности погибло 65% животных, уменьшилось количество двигательных актов за 3 минуты, повысился индекс массы сердца за счет увеличения ядер апоптических и деструктивно измененных кардиомиоцитов. Также наблюдалось падение содержания белка в цитоплазме и митохондриях кардиомиоцитов. Ангиолин в большей степени чем милдронат восстанавливал интегративные показатели стойкости организма при хронической сердечной недостаточности, содержание белка и морфометрические маркеры в миокарде крыс.

Summary

ANGIOLIN AND MILDRONATE INFLUENCE ON INTEGRATIVE PARAMETERS OF BODY STABILITY, PROTEINS LEVEL, MORPHOMETRIC MARKERS IN MYOCARDIUM OF RATS IN CHRONIC CARDIAC INSUFFICIENCY
Nagorna O. O.

Key words: angiolin, mildronat, chronic cardiac insufficiency, integrative parameters of organism stability, morphometric markers, proteins content.

The aim of this study was to determine the effect of angiolin on integrative indicators of body status, protein content and morphometric markers in the myocardium of rats with chronic heart failure in comparison with the effect produced by mildronate. The integrative parameters produced by metabotropic agents (angiolin and mildronate) include their effect on the viability of animals, including the percentage of surviving animals, the number of motor acts within 3 minutes, the number of animals with high symptoms of chronic heart failure, and also the identification of body weight in the first day and on the 35th day of the experiment, heart mass on the 35th day, heart mass index (the ratio of heart weight to body weight) on the 35th day of the experiment. The experiments were performed on white mongrel male rats with doxorubicin chronic heart failure. Angiolin was administered intragastrically in a dose of 100 mg / kg, mildronate was induced in a dose of 250 mg / kg for 14 days in combination with doxorubicin, and then for up to 35 days. It was found out that 65% of animals died of the experimental chronic heart failure; the number of motor acts within 3 minutes de-

creased, the heart mass index increased due to the increase in the nuclei of apoptotic and destructively altered cardiomyocytes. There was also a drop in protein content in the cytoplasm and mitochondria of cardiomyocytes. Angiolin has shown more marked potential compared with mildronate in restoring integrative indicators of the body resistance to chronic heart failure, protein content and morphometric markers in the myocardium of rats.

УДК 617.3:577.121-57.084.1

Павлов О.Д.

БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ СИРОВАТКИ КРОВІ КРОЛИКІВ ПІСЛЯ ІМПЛАНТАЦІЇ НА ДІАФІЗ СТЕГНОВОЇ КІСТКИ ПЛАСТИН НА ОСНОВІ ПОЛІЛАКТИДУ, ГІДРОКСИПАТИТУ ТА ТРИКАЛЬЦІЙФОСФАТУ

Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків

Стаття присвячена визначенню біохімічних маркерів крові кроликів після імплантації на діяфіз стегнової кістки пластин на основі полілактиду, гідроксиапатиту та трикальційфосфату, виготовлених за допомогою 3-D друку для оцінки впливу імплантату на організм тварин. На 30 добу після імплантації вміст глікопротеїнів у крові кроликів був збільшений на 87,5 %, хондроїтинсульфатів – у 2,5 рази, лужна фосфатаза – на 31,7 % порівняно з контрольною групою. Через 90 діб вміст хондроїтинсульфатів і лужної фосфатази на 22,5 % і 9,2 % відповідно нижче за показники на 30 добу. У другій групі кроликів в сироватці крові на 30 добу був збільшений вміст глікопротеїнів – на 30,4 %, хондроїтинсульфатів – на 72,1 %, активність лужної фосфатази – на 15,9 % порівняно з контрольною групою. На 90 добу після імплантації вміст глікопротеїнів був на рівні контрольної групи. Вміст хондроїтинсульфатів був збільшений на 26,2 %, а активність лужної фосфатази не змінювалась. Вміст глікопротеїнів у I групі тварин на 30 добу спостереження був на 43,8 %, хондроїтинсульфатів – на 47,6 %, активність лужної фосфатази – на 13,7 % вище за аналогічні показники у II групі. На 90 добу вміст глікопротеїнів не відрізнявся у I та II групах, проте вміст хондроїтинсульфатів був вище у I групі – на 55,8 %, активність лужної фосфатази – на 15,9 % порівняно з II групою кроликів. Біохімічні маркери стану печінки та нирок в обох групах не були змінені. Динаміка біохімічних маркерів вказує на більш швидке відновлення пошкодженої кісткової тканини за місцем імплантації пластини з L-полімолочної кислоти, гідроксиапатиту та трикальційфосфату.

Ключові слова: кролики, імпланти, полілактид, трикальційфосфат, гідроксиапатит, глікопротеїни, хондроїтинсульфати, лужна фосфатаза, токсичність.

Дослідження проводилося у рамках теми науково-дослідної роботи Харківської медичної академії післядипломної освіти «Клітинно-молекулярні механізми запалення, асоційованого із хронічними захворюваннями», № державної реєстрації 015U001186.

Вивчення реакцій організму на різні штучні матеріали має велике значення в зв'язку зі створенням імплантів в травматології та ортопедії, відновлювальній медицині і стоматології. Дослідження останніх років показали, що тканини біологічних систем, в тому числі і тканини людського організму, мають властивості реагувати на введення в організм металевих імплантатів [1]. Відомо, що імпланти на основі полілактиду при застосуванні тваринам в експерименті забезпечують вирівнювання кісткових сегментів на ділянці переломів і покращення відновлення пошкоджених тканин [2;3;4]. Крім того, 3D кісткові імпланти мають декілька переваг, а саме, відносна малоінвазивність (зокрема за рахунок відсутності необхідності повторного оперативного втручання для видалення імплантів), специфічність конструкцій для конкретного пацієнта, механічна стабільність та висока біосумісність [5]. Таким чином, можна вважати актуальним напрям досліджень щодо розробки та застосування біодеградуємих матеріалів на основі полілактиду в травматології та ортопедії.

Мета дослідження

Визначити біохімічні маркери сироватки крові кроликів після імплантації на діяфіз стегнової кістки надрукованих на 3-D принтері пластин на основі полілактиду, гідроксиапатиту та трикальційфосфату для оцінки впливу імплантату на функціональний стан печінки і нирок у тварин.

Матеріали і методи досліджень

Дослідження проводились з 2014 по 2017 рр. на базі кафедри травматології, анестезіології та військової хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти та відділу лабораторної діагностики та імунології ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України» (свідоцтво про атестацію № 100–287/2015 від 20.11.2015 р). Експерименти на кроликах були виконані у віварії Харківської медичної академії післядипломної освіти з дотриманням правил гуманного відношення до експериментальних тварин та асептики згідно «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження». У першій