

УДК 615.015.23:615.21/26:577.175.14

К.Г. Щокіна, С.Ю. Штриголь, Г.В. Белік, Я.О. Бутко

*Національний фармацевтичний університет*

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ РЕКОМБІНАНТНОГО АНТАГОНІСТА РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 (АІЛ-1) ТА ЛІПІНУ НА МОДЕЛІ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ

*Відомо, що розвиток артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, аритмій спричиняє багато чинників, але одним з найважливіших є емоційний стрес. Тому існує значна потреба в безпечних та ефективних препаратах, здатних впливати саме на стрес-індуковані серцево-судинні патології. Проведене експериментальне вивчення впливу рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АІЛ-1) та ліпосомального препарату ліпіну на стан серцево-судинної системи в щурів в умовах іммобілізаційного стресу. Згідно з результатами дослідження на моделі іммобілізаційного стресу АІЛ-1 та ліпін сприяють нормалізації показників ЕКГ та відновленню метаболічних процесів міокарда в умовах стресу.*

**Ключові слова:** серцево-судинні захворювання; АІЛ-1; ліпін; іммобілізаційний стрес; кардіопротекторна активність

### ВСТУП

Серцево-судинна патологія посідає одне з провідних місць у структурі сучасної захворюваності. Щороку в світі реєструють понад 50 мільйонів летальних випадків, які є наслідком захворювань міокарда [4]. В Україні серцево-судинна патологія складає 70% від загальної кількості захворювань [12].

Відомо, що розвитку артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, аритмій сприяє багато чинників, але одним з найважливіших є емоційний стрес [3, 7]. При стресі підвищується активність гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи та зростає синтез кортизолу. З цим пов'язані наступні патологічні реакції: симпатoadреналава активація та вазоконстрикція, підвищення агрегації тромбоцитів та частоти серцевих скорочень; зростання рівня С-реактивного білка та прозапальних цитокінів: інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-6 [13]. Підвищений рівень кортизолу також сприяє пошкодженню артерій, в тому числі вінцевих, розвитку атеросклеротичних процесів [9]. Все це здатне спровокувати активацію процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), виникнення кардіоваскулярної патології.

Сучасні лікарські засоби, які використовуються для лікування серцево-судинних захворю-

вань, спричинених стресом, не завжди ефективні, оскільки впливають не на всі патогенетичні ланки захворювання, та здебільшого мають низку серйозних побічних ефектів [8]. Тому існує значна потреба в безпечних та ефективних препаратах, здатних впливати саме на стрес-індуковані серцево-судинні патології. Їх розробка та дослідження є актуальними.

При стресі зростає рівень інтерлейкіну-1, тому перспективним для профілактики та лікування стрес-індукованих порушень міокарда можна вважати використання специфічного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АІЛ-1) [11, 14]. Методом підвищення ефективності терапії є також вдосконалення вибіркості дії нових препаратів та використання сучасних фармацевтичних технологій для розробки систем регульованого транспорту лікарських речовин, які застосовують у кардіології. Перспективним напрямком підвищення вибіркості дії лікарської речовини є створення носія, що має наступні властивості: утримання препарату в своїй структурі, цілеспрямована доставка до необхідного органу, подальше вивільнення діючої речовини, зниження токсичності та її захист від нейтралізуючої дії фізіологічного середовища [10].

Багатообіцяючою системою доставки лікарських препаратів є ліпосоми — ліпідні везикули з біомолекулярною мембраною. Успіх їх засто-

сування пов'язаний з тим, що ліпосоми ефективно зв'язують та вивільняють лікарську речовину, забезпечують її високу біодоступність та інтактність до взаємодії з клітинами-мішенями, пролонгують дію препарату, запобігають розвитку побічних ефектів. У теперішній час перспективним вважається застосування ліпосомальних препаратів при захворюваннях міокарда, які супроводжуються порушенням фосфоліпідної структури та функцій субклітинних мембран кардіоцитів, посиленням процесів цитолізу, запалення, ПОЛ [2].

Метою дослідження стало експериментальне вивчення впливу рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 та ліпосомального препарату ліпіну на стан серцево-судинної системи експериментальних тварин в умовах стресу. В якості об'єктів дослідження використано рекомбінантний антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1), отриманий у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, та ліпін виробництва «Біолік» (м. Харків).

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Кардіопротекторну активність АРІЛ-1 досліджували на 20 білих безпородних щурах-самцях масою 200-230 г на моделі іммобілізаційного стресу [5]. В якості препарату порівняння обрано ліпосомальний препарат «Ліпін».

Модель нервово-м'язового напруження за Сельє відтворювали шляхом іммобілізації тварин на операційному столику на спині, атравматично фіксуючи їх за кінцівки. Тривалість іммобілізації складала 3 години. Дослідження проводили через 2 години після завершення дії стресогенного чинника [4].

Лабораторних тварин розподілили на 4 групи по 5 щурів у кожній: 1 — інтактний контроль; 2 — група контрольної патології; 3 — тварини, що отримували АРІЛ-1; 4 — тварини, що отримували ліпін. Досліджувані препарати вводили в профілактичному режимі: АРІЛ-1 — підшкірно у вигляді ін'єкційного розчину в дозі 3 мг/кг, ліпін — внутрішньовенно в дозі 50 мг/кг [4, 5].

Стан серцево-судинної системи щурів та кардіопротекторну дію препаратів оцінювали за активністю лактатдегідрогенази (ЛДГ), вмістом глікогену в сироватці крові, рівнем ТБК-активних продуктів та відновленого глутатіону (ВГ) в гомогенаті міокарда тварин [4]. Функціональний стан серцевого м'язу оцінювали за показниками ЕКГ (ЧСС, амплітуда зубців R, P, T, інтервали PQ, QRS, QT, систолічний показник). ЕКГ реєстрували у II стандартному відведенні на електрокардіографі ЕКГ-ОЗ М2 через 2 год після завершення дії стресорного чинника. Далі щурів виводили з експерименту в умовах евтаназії, вилучали серце, брали кров та проводили біохімічні дослідження.

Статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Стьюдента.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Кількісні дані наведено в табл. 1 і 2. Аналіз результатів свідчить, що в групі контрольної патології відбувались суттєві порушення. Спостерігались значні зміни показників ЕКГ (табл.1): тахікардія (достовірне підвищення ЧСС в 1,2 рази порівняно з аналогічним показником у групі інтактних тварин), збільшення інтервалів PQ та QRS в 1,8 та 2 рази відповідно, що відбиває порушення провідності, зниження амплітуди зубців

Таблиця 1

#### ВПЛИВ АРІЛ-1 ТА ЛІПІНУ НА ЕЛЕКТРОКАРДІОГРАФІЧНІ ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ МІОКАРДА НА МОДЕЛІ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ (N=5)

Показники	Інтактний контроль	Контрольна патологія	АРІЛ-1, 3 мг/кг	Ліпін, 50 мг/кг
RR, с	0,13±0,005	0,12±0,003	0,13±0,008	0,12±0,004
PQ, с	0,034±0,002	0,040±0,004	0,014±0,002*/**	0,014±0,003*/**
QRS, с	0,014±0,001	0,025±0,002*	0,014±0,001**/@	0,021±0,001*
QT, с	0,032±0,004	0,064±0,009*	0,030±0,003**	0,030±0,006**
R, мВ	0,54±0,02	0,38±0,04*	0,45±0,03*	0,40±0,05*
P, мВ	0,13±0,003	0,04±0,005*	0,08±0,004*/**	0,06±0,001*
T, мВ	0,15±0,03	0,07±0,04	0,15±0,02	0,16±0,03
ЧСС, уд/хв	461,5±21,7	537,4±19,0*	463,0±11,8**/@	498,5±9,5
СП	0,24±0,03	0,53±0,05*	0,23±0,02**	0,25±0,04**

Примітки: \* — відхилення показника достовірне відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ; \*\* — відхилення достовірне відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ ; @ — відхилення достовірне відносно показника групи ліпіну,  $p < 0,05$ . ЧСС — частота серцевих скорочень, СП — систолічний показник.

**ВПЛИВ АРІЛ-1 ТА ЛІПІНУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ,  
ЯКІ ХАРАКТЕРИЗУЮТЬ СТАН МІОКАРДА ТА СИСТЕМИ ПОЛ/АОС  
ПРИ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ У ЩУРІВ (N=5)**

Показники	Інтактний контроль	Контрольна патологія	АРІЛ-1, 3 мг/кг	Ліпін, 50 мг/кг
<b>Гомогенат міокарда</b>				
ТБК-активні продукти, мкмоль/г	27,2±3,90	85,4±5,65*	65,1±4,10*/**/@	50,6±4,33*/**
ВГ, мкмоль/г	6,12±0,53	2,48±0,44*	4,05±0,27	4,68±0,32
<b>Сироватка крові</b>				
ЛДГ, ммкат/л	4,40±0,54	9,23±0,60*	6,59±0,51**	7,25±0,42**
Глікоген, г/л	3,82±0,04	3,12±0,02*	3,60±0,03**	3,55±0,03**

Примітки: \* — відхилення достовірне відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ; \*\* — відхилення достовірне відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ ; @ — відхилення достовірне відносно групи ліпіну,  $p < 0,05$ .

Р та R в 1,4 та 3,3 рази. Систоличний показник у щурів групи контрольної патології збільшився в 2,1 рази порівняно з інтактним контролем, що свідчить про погіршення скоротливої функції міокарда. Всі ці зміни характерні для гострого стресу [1].

Гострий стрес також супроводжувався порушенням окиснювального метаболізму: рівень ТБК-реактивних у гомогенаті міокарда збільшився в середньому у 3 рази (табл. 2). На тлі підвищення рівня ТБК-реактивних вміст ВГ знизився в 2,5 рази, що свідчить про виснаження глутатіонзберігаючої активності міокарда та розвиток дисбалансу ендогенної АОС у тварин групи контрольної патології. Рівень глікогену в сироватці крові цих щурів знизився в 1,2 рази, що можна пояснити різким збільшенням вивільнення адреналіну при стресі. Адреналін посилює розщеплення глікогену та призводить до виснаження енергетичних запасів міокарда.

Достовірне підвищення активності ЛДГ в 2 рази свідчить про підвищення потреби міокарда в енергії в умовах відносної недостатності процесу окиснювального фосфорилування та мобілізації резервних джерел енергії — шляхів утворення АТФ [16].

Введення АРІЛ-1 або ліпіну сприяло нормалізації основних електрокардіографічних показників у піддослідних тварин (табл.1). Так, під впливом АРІЛ-1 ЧСС достовірно знизилась в 1,2 рази та не відрізнялась від ЧСС в групі інтактних щурів. Під дією ліпіну теж спостерігалась тенденція до зниження ЧСС, але ці зміни були недостовірними. У групі тварин, лікованих АРІЛ-1, достовірно зменшились патологічно подовжені ін-

тервали PQ, QRS та QT в 2,9, 1,9 та 2,1 рази, збільшилась амплітуда зубців Р та R в середньому в 2 рази. Під впливом ліпіну інтервали PQ та QT зменшилися в 2,9 та 2,1 рази відповідно. Обидва препарати протидіяли погіршенню скоротливої функції міокарда, про що говорить нормалізація систоличного показника.

Кардіопротекторну дію препаратів підтверджують біохімічні показники гомогенату міокарда та сироватки крові піддослідних тварин. Введення АРІЛ-1 та ліпіну привело до поліпшення стану ендогенної АОС: рівень ВГ збільшився в 1,6 рази під дією АРІЛ-1 та в 1,9 рази — під дією ліпіну. Вміст ТБК-активних продуктів під дією ліпіну знизився в 1,7 рази, що свідчить про пригнічення надмірної активації ПОЛ при стресі. Введення АРІЛ-1 також сприяло тенденції до зниження рівня ТБК-активних продуктів, але ці зміни були недостовірними.

Під впливом АРІЛ-1 та ліпіну спостерігалось підвищення рівня глікогену в середньому на 15% та зменшення підвищеної активності ЛДГ в середньому на 20% порівняно з показниками в групі щурів контрольної патології. Ці зміни свідчать про збереження енерговмісного субстрату та меншу вираженість енергетично не вигідного анаеробного шляху енергетичного обміну.

#### ВИСНОВКИ

1. На моделі іммобілізаційного стресу в щурів АРІЛ-1 та ліпін сприяють нормалізації показників ЕКГ, тобто виявляють кардіопротекторну дію.
2. За вираженістю позитивного впливу на функціональний стан серця АРІЛ-1 переважає

ліпін, що можна пояснити стреспротекторними властивостями препарату, визначеними в попередніх дослідженнях.

3. За антиоксидантною дією АРІЛ-1 дещо поступається ліпіну, який є потужним антиоксидантом.
4. Обидва препарати однаковою мірою сприяють відновленню метаболічних процесів міокарда в умовах іммобілізаційного стресу.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Антропова О.Н., Осипова И.А., Лобанова Н.А., Шахматова К.И. Особенности поражения органов-мишеней при стресс-индуцированной артериальной гипертензии / [О.Н. Антропова, И.В. Осипова, Н.А. Лобанова, К.И. Шахматова] // Кардіоваскулярна терапія і профілактика. — 2009. — №3. — С. 77-80.
2. Бажутин Н.Б., Золин В.В., Кококольников А.А., Таргонский С.Н. Перспективы применения липосомальных препаратов в медицинской практике / Н.Б. Бажутин, В.В. Золин, А.А. Кококольников, С.Н. Таргонский // Здоров'я України. — 2007. — №3. — С. 71.
3. Вознесенская Т.Г. Эмоциональный стресс и профилактика его последствий / Т.Г. Вознесенская // Практик. неврол. — 2007. — №2 (12). — С. 43-49.
4. Дмитренко С. А. Роль психоэмоционального стресса в развитии артериальной гипертензии / С.А. Дмитренко // Укр. мед. часопис. — 1999. — №5 (13) IX-X. — С. 37-39.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
6. Коваленко Є.М. Фармакологічне вивчення протизапальної активності антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1): автореф. дис... канд. фарм. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Є.М. Коваленко. — Х., 2009. — 19 с.
7. Краснов В.Н. Депрессии и сердечно-сосудистые заболевания / В.Н. Краснов // Практик. врач. — 2002. — №2. — С. 87-91.
8. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — 15-е изд., перераб., испр. и доп. / М.Д. Машковский — М.: РИА «Новая волна»: Издатель Умеренков, 2008. — 1206 с.
9. Подколзин А.А., Большаков Г.В., Шаныгина Д.В., Гуревич К.Г. Выделение кортизола со слюной у больных артериальной гипертензией при стоматологическом стрессе / А.А. Подколзин, Г.В. Большаков, Д.В. Шаныгина, К.Г. Гуревич // Биомед. журн. — 2001. — Т. 2, №.41. — С.209-211.
10. Селищева А.А. Принципы создания новых форм лекарственных препаратов и биологически активных соединений солюбилизацией липосом: автореф. дис... докт. хим. наук: спец. 03.00.23 «Биотехнология» / А.А. Селищева. — М., 2007. — 30 с.
11. Супрун Е.В. Церебро- та кардіопротекторна дія антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на моделі церебральної ішемії у щурів / Е.В. Супрун, С.Ю. Штриголь, О.М. Іщенко // Клінічна фармація. — 2009. — Т. 13, №1. — С. 59-63.
12. Шабалин А.В. Ассоциация терапии бетаксололом с клинико-функциональными показателями у больных эссенциальной артериальной гипертензией / А.В. Шабалин, Е.Н. Гуляева, А.С. Криковцов // Consilium medicum. — 2005. — Т. 2, №4. — С. 61-64.
13. Donath M. Y., Storling J., Berchtold L. A. et al. Cytokines and {beta}-Cell Biology: from Concept to Clinical Translation / [M. Y. Donath, J. Storling, L.A. Berchtold, N. Billestrup, et al.] // Endocr. Rev. — 2008. — №29. — P. 334-350.
14. Hallegua D.S. Potential therapeutic uses of interleukin 1 receptor antagonists in human diseases / D.S. Hallegua, M.H. Weisman // Ann. Rheum. Dis. — 2002. — № 61 (11). — P. 960-967.
15. Perrier S. IL-1 receptor antagonist in metabolic diseases: Dr Jekyll or Mr Hyde? / S. Perrier, F. Darakhshan, E. Hajduch // FEBS Lett. — 2006. — №580. — P. 6289-6294.
16. Integrated effects of the vasodilating beta-blocker nebivolol on exercise performance, energy metabolism, cardiovascular and neurohormonal parameters in physically active patients with arterial hypertension / [H.G. Predel, W. Mainke, W. Schillings et al.] // J. Hum. Hypertens. — 2001. — Vol. 1, №15 (10). — P. 715-721.

УДК 615.015.23:615.21/26:577.175.14

Е.Г. Щекіна, С.Ю. Штрыголь, Г.В. Белик, Я.А. Бутко

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ КАРДИОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТАГОНИСТА РЕЦЕПТОРОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 (АРИЛ-1) И ЛИПИНА НА МОДЕЛИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА У КРЫС**

Известно, что развитию артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, аритмий способствует множество факторов, но одним из важнейших является эмоциональный стресс. Поэтому существует значительная потребность в безопасных и эффективных препаратах, способных оказывать влияние именно на стресс-индуцированные сердечно-сосудистые патологии. Их разработка и изучение являются актуальными. Было проведено экспериментальное изучение влияния рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 (АРИЛ-1) и липосомального препарата липина на состояние сердечно-сосудистой системы у крыс в условиях иммобилизационного стресса. Согласно результатам исследования на модели иммобилизационного стресса АРИЛ-1 и липин способствуют нормализации показателей ЭКГ, то есть проявляют кардиопротекторное действие. По выраженности позитивного влияния на функциональное состояние сердца АРИЛ-1 превосходит липин, по антиоксидантной активности АРИЛ-1 несколько уступает липину. Оба препарата в одинаковой степени способствуют восстановлению метаболических процессов миокарда в условиях стресса.

**Ключевые слова:** *сердечно-сосудистые заболевания; АРИЛ-1; липин; иммобилизационный стресс; кардиопротекторная активность*

UDC 615.015.23:615.21/26:577.175.14

К.Г. Шчюкіна, С.Ю. Штрыгол, Г.В. Белик, Я.А. Бутко

**EXPERIMENTAL EXAMINATION OF CARDIOTREAD ACTIVITY OF RECOMBINANT ANTAGONIST OF RECEPTORS OF INTERLEUKIN-1 (ARYL-1) AND ЛИПИН ON THE MODEL OF IMMOBILIZATION STRESS AT RATS**

It is evident that development of arterial hypertension, ischemic disease of heart, arrhythmia depends of many factors. But one of the most important is the emotional stress. That is why there is a considerable necessity in safe and effective medicines, which can influence exactly at stress- induced cardiovascular pathologies. We have passed the experimental examination of influence of recombinant antagonist of receptors of interleukin-1 (ARYL-1) and of liposomal medicine lipin at the state of cardiovascular system of rats in environment of immobilization stress.

According to results of the examination on the model of immobilization stress ARYL-1 and lipin facilitate the normalization of indicators of ECG and the restoration of metabolic processes in environment of stress.

**Key words:** *cardiovascular diseases; ARYL-1; immobilization stress; cardioread activity*

*Адреса для листування:*

61001, м. Харків,

пл. Повстання, 17.

Кафедра технології ліків

та клінічної фармакології

з фармацевтичною опікою УПКСФ.

тел. (057)733-92-06;

e-mail shtrygol@mail.ru

Надійшла до редакції:

11.02.10