

DOI: 10.26693/jmbs03.05.031

УДК 616.12-008.331.1:615.225.2

Горчакова Н. О.¹, Нагорна О. О.¹,
Бєленічев І. Ф.², Чекман І. С.³

КАРДІОПРОТЕКТОРНИЙ ВПЛИВ МЕТАБОЛІТОТРОПНИХ ЗАСОБІВ ПРИ ФІЗИЧНОМУ НАВАНТАЖЕННІ ІНТАКТНИХ ЩУРІВ ТА НА ФОНІ КОРОНАРОСПАЗМУ

¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ, Україна²Запорізький державний медичний університет, Україна³Київський медичний університет УАНМ, Україна

gorchakovan@ukr.net

Фізичні навантаження під час тренувань та змагань можуть порушити адаптаційні можливості організму, в тому числі діяльності серцево-судинної системи. Ще більш виражені порушення метаболізму і функції серця спостерігають в умовах фізичного навантаження.

Мета дослідження – визначити вплив метаболітотропних засобів на працездатність інтактних щурів та при пітуїтриновому коронароспазмі, а також на показники ЕКГ і метаболізму міокарду.

Експерименти проведені на білих щурах-самцях в умовах рухової гіпоксії, що відтворювали бігом на тредбані при швидкості руху стрічки 50 см/хв при нахилі 50° до повного виснаження. Рухову гіпоксію також моделювали на фоні пітуїтринового коронароспазму (пітуїтрин вводили внутрішньоочередово за 30 хвилин до гіпоксії в дозі 1 ОД/кг).

Кардіопротекторну активність метаболітотропних засобів (ангіоліну (50мг/кг), мілдронату, яктону, мексидолу (100 мг/кг)), які вводили внутрішньоочередово за 30 хвилин до відтворення рухової гіпоксії, або за 30 хвилин до застосування пітуїтрину, визначали за пониженням сегменту ST на ЕКГ та змін біохімічних показників (вмісту маркерів окислювальної модифікації білків – АФГ, КФГ, а також АТФ за загальноприйнятими методами).

При руховій гіпоксії спостерігалось підвищення сегменту ST над ізолінією, зростання показників окислювальної модифікації білків та пониження вмісту АТФ, що свідчить про розвиток оксидативного стресу та зменшення утворення енергії.

Ангіолін в більшому ступені, а також інші метаболітотропні засоби – мілдронат, яктон, мексидол – сприяють підвищенню часу бігу на тредбані, активізації синтезу АТФ, пониженню сегменту ST, показників окислювальної модифікації білків – АФГ, КФГ. На фоні пітуїтринового коронароспазму зменшується час бігу щурів на тредбані, більш виражено ніж у інтактних щурів, знижується рівень АТФ,

підвищується сегмент ST над ізолінією та рівень показників окислювальної модифікації білків. В цій серії досліджень метаболітотропні засоби підвищують тривалість бігу щурів, вміст АТФ, понижують рівень ST, показників окислювальної модифікації білків.

Таким чином, метаболітотропні засоби, в більшому ступені ангіолін, мали акто- та кардіопротекторну дію при руховій гіпоксії, а також при руховій гіпоксії на фоні пітуїтрину.

Ключові слова: рухова гіпоксія, пітуїтриновий коронароспазм, ангіолін, мілдронат, яктон, мексидол, актопротекція, кардіопротекція.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота є фрагментом НДР «Експериментальне обґрунтування комбінованого застосування кардіотропних препаратів» № державної реєстрації 0111U9417.

Вступ. Фізичні навантаження під час тренувань порушують адаптаційні можливості організму, в тому числі діяльність серцево-судинної системи і метаболічні процеси в цілому [5]. Ще більші порушення метаболізму і функції серця спостерігаються в умовах фізичних навантажень при коронарних синдромах [8]. З метою запобігання негативних впливів та підвищення адаптивних можливостей організму рекомендовано застосування метаболітних препаратів, що поліпшують працездатність та прискорюють процеси відновлення [3]. Актопротекторні властивості були визначені у похідних бурштинової кислоти – мексидолу, яктону та мілдронату [2, 7]. Кардіопротекторну дію при патологічних станах серцево-судинної системи має вітчизняний лікарський засіб ангіолін [4].

Мета дослідження. Визначення впливу метаболітотропних засобів на працездатність інтактних щурів та при пітуїтриновому коронароспазмі, а також показники ЕКГ і метаболізму міокарду.

Матеріали і методи дослідження. Експерименти проведені на білих безпородних щурах-самцях масою 180–220 г, що утримувалися у віварії НМУ ім. О. О. Богомольця відповідно до 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).

Проводили оцінку кардіопротективного впливу метаболітотропних засобів в умовах рухової гіпоксії, у щурів при фізичному навантаженні на тредбані в анаеробному режимі «до повного виснаження». Тварин примушували бігти на тредбані при швидкості руху стрічки 50 см/хв при нахилі кута 20°. Тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) в момент відмови від фізичного навантаження. Крім того, рухову гіпоксію моделювали на фоні попереднього (за 30 хвилин) введення коронаростапастичного агенту пітуїтрину в дозі 1 од/кг внутрішньоочеревинно. Кардіопротективну активність препаратів оцінювали за пониження сегменту ST на ЕКГ ($\Sigma\Delta ST$) та біохімічним маркерам ішемічного пошкодження міокарду. Аналіз ЕКГ проводили на комп'ютерному аналізаторі Cardio-com-2000 plus (ХАІ-медика, Україна). У якості електрокардіографічного критерію ефективності протиішемічної дії метаболітотропних засобів використовували метод ЕКГ-картування з розрахунком показників сумарного ступеню зміщення сегменту ST відносно ізолінії ($\Sigma\Delta ST$). Тканини серця гомогенізували на холоді в сольовому ізотонічному середовищі (0,15 М КСІ) при температурі 4°C за допомогою скляного гомогенізатора у співвідношення тканина-сольовий розчин 1:40. Безбілковий екстракт одержували додаванням гомогенату тканин серця у хлорну кислоту (0,6 М). В міокарді щурів визначали маркери окиснювального пошкодження білка – альдегідфенілгідрозони (АФГ) та карбоксифенілгідрозони (КФГ) за методом В. Halliwell за взаємодією окиснених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідрозоном і утворенням АФГ,

що мають спектр поглинання при 247 нм та 363 нм. Вміст АТФ визначали методом тонкошарової хроматографії та наступної спектрофотометрії при 260 нм. [6] В роботі застосовували ангіолін у вигляді розчину (НВО «Фарматрон», Запоріжжя), мілдронат (Гріндекс, Латвія), яктон (дослідне виробництво Інституту органічної хімії НАН України), мексидол («Фармакодис», Російська Федерація). Ангіолін вводили внутрішньоочеревинно за 30 хвилин до відтворення рухової гіпоксії в дозі 50 мг/кг, мілдронат, яктон, мексидол за тією ж схемою в дозі 100 мг/кг. Отримані результати оброблені з застосуванням статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA for Windows 6.0», а також «Microsoft Excel 2003». Достовірні відмінності між експериментальними групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента та U-критерію Уїтні-Манна. Для всіх видів аналізу статистично значимими вважали відмінності при $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

Моделювання гострої рухової гіпоксії призводило до ішемічного пошкодження міокарду – дефіциту енергії АТФ на 27,5%, збільшенню $\Sigma\Delta ST$ на ЕКГ в 48 разів, підвищенню маркерів окисної модифікації білка – АФГ на 65,8%, КФГ на 93,7%. Отримані результати узгоджуються з літературними даними про те, що у погіршенні функції і метаболізму серцево-судинної системи значну роль відіграє нестача макроергічних фосфатів, а саме вміст АТФ, який вважають головним джерелом акумуляції енергії. Крім того, при фізичному навантаженні спостерігається оксидативний стрес, маркерами якого вважають показники окислювальної модифікації білків (АФГ, КФГ) [1, 9].

Згідно з отриманими даними (табл. 1), ангіолін збільшує тривалість бігу щурів на 53,3%, понижує рівень ST ($\Sigma\Delta ST$) на 77%, вміст АФГ на 38,3%, КФГ на 44,2%. Рівень АТФ під впливом ангіоліну зростає на 28%. При введенні мілдронату, яктону, мексидол порівняно з ангіоліном вищезазначені показники змінюються в меншому ступені. Так, мілдронат збільшує тривалість бігу на 42,3%, яктон – на 31,3%, мексидол – на 32,2%. При цьому досліджувані

Таблиця 1 – Вплив метаболітотропних засобів на фізичну працездатність, маркери окислювальної модифікації білка, вміст АТФ, показники ЕКГ у тварин при фізичному навантаженні (гостра рухова гіпоксія) ($M \pm m$, $n = 10$)

Досліджувані показники	Інтактні	Контроль (біг)	Біг + ангіолін (50 мг/кг)	Біг + мілдронат (100 мг/кг)	Біг + яктон (100 мг/кг)	Біг + мексидол (100 мг/кг)
Тривалість бігу (хв)	–	11,8 ± 2,7	18,1 ± 2,1**	16,8 ± 4,3**	15,5 ± 3,1**	15,6 ± 2,8**
$\Sigma\Delta ST$, мВ	0	48 ± 7,0*	11 ± 3,0**	23 ± 4,0**	26 ± 2,0**	25 ± 3,0**
АФГ, у.о./г білка	8,51 ± 0,77	14,11 ± 0,68*	8,72 ± 0,44**	10,74 ± 0,33**	12,22 ± 0,38**	11,88 ± 0,29**
КФГ, у.о./г білка	11,26 ± 0,71	21,82 ± 1,77*	12,17 ± 1,33**	14,82 ± 1,22**	16,1 ± 1,44**	16,5 ± 1**
АТФ, мкМ/г тканини	2,91 ± 0,12	2,11 ± 0,1*	2,92 ± 0,09**	2,63 ± 0,1**	2,59 ± 0,09**	2,58 ± 0,07**

Примітки: * $p < 0,05$ щодо інтактної групи; ** $p < 0,05$ щодо контрольної групи.

метаболітотропні засоби зменшують $\Sigma\Delta ST$ на ЕКГ: мілдронат на 52%, яктон на 46,6%, мексидол на 48,6%. Відповідно метаболітотропні засоби понижують вміст АФГ, КФГ, підвищують рівень АТФ. Тобто метаболітотропні препарати при фізичному навантаженні проявляють антіоксидантну дію. На підставі змін вмісту АТФ можна констатувати, що досліджувані засоби мають протиішемічну дію, сприяючи більш економному витраченню енергетичних ресурсів міокарду. Профілактичне введення мілдронату, яктону, мексидолу мало менш виражений ефект щодо досліджуваних показників метаболізму.

Моделювання гострої рухової гіпоксії на фоні введення коронароспастичного агента – пітуїтрина – призводило до більш вираженого, ніж в першому випадку, ішемічного пошкодження міокарда.

Як зазначено в **таблиці 2**, попереднє введення пітуїтрину в більшому ступені знижує тривалість бігу щурів до повного виснаження (на 71%), рівень АТФ в 3,4 раза, збільшуючи $\Sigma\Delta ST$ на 112%, рівень АФГ в 2,28 раза, КФГ в 2,68 раза. Попереднє введення ангіоліну підвищує толерантність до фізичного навантаження (тривалість бігу) на 70%, маючи при цьому значну кардіопротективну дію, що виражається в пониженні $\Sigma\Delta ST$ на ЕКГ на 63%.

Таблиця 2 – Вплив метаболітотропних засобів на фізичну працездатність, маркери окислювальної модифікації білка, вміст АТФ, показники ЕКГ у тварин при фізичному навантаженні (гостра рухова гіпоксія) на фоні пітуїтрину ($M \pm m$, $n = 10$)

Досліджувані показники	Інтактні	Контроль (біг на фоні пітуїтрину)	Біг + ангіолін (50 мг/кг)	Біг + мілдронат (100 мг/кг)	Біг + яктон (100 мг/кг)	Біг + мексидол (100 мг/кг)
Тривалість бігу (хв)	11,8 ± 2,7	2,7 ± 0,7*	4,6 ± 0,7**	3,7 ± 0,3**	3,5 ± 0,2**	3,6 ± 0,1**
$\Sigma\Delta ST$, мВ	0	112 ± 8*	41 ± 5,0**	78,7 ± 7**	80,1 ± 8,0**	81,3 ± 0,6**
АФГ, у.о./г білка	8,51 ± 0,77	18,35 ± 1,88*	12,79 ± 0,33**	16,74 ± 1,45**	15,5 ± 1,3**	15,6 ± 1,4**
КФГ, у.о./г білка	11,26 ± 0,71	30,12 ± 1,77*	18,35 ± 1,12**	27,22 ± 2,31**	27,12 ± 1,88*	27,14 ± 1,9**
АТФ, мкМ/г тканини	291 ± 0,12	1,92 ± 0,11*	2,63 ± 0,07**	2,27 ± 0,08**	2,32 ± 0,04**	23 ± 0,03**

Примітки: * $p < 0,05$ щодо інтактної групи; ** $p < 0,05$ щодо контрольної групи.

Введення ангіоліну має протиішемічну дію та сприяє більш економному витрачанню енергії тобто ангіолін підвищує толерантність до фізичного навантаження, нормалізує енергетичний метаболізм міокарду, збільшуючи вміст АТФ на 37%, а також знижує утворення маркерів окисної модифікації білку в міокарді (АФГ на 30%, КФГ на 39%). Тобто, введення ангіоліну зменшує ступінь ішемічного пошкодження серця в умовах гострої рухової гіпоксії. Ангіолін за силою актопротекторної дії як при руховій гіпоксії, так і при моделюванні рухової гіпоксії на фоні пітуїтрину за силою протиішемічної дії перевищує активність препаратів порівняння – мілдронату, яктону, мексидолу.

Висновки

1. Ангіолін в дозі 50 мг/кг при руховій гіпоксії в більшій мірі ніж метаболітотропні препарати порів-

няння (мілдронат, яктон, мексидол) збільшує тривалість бігу, підвищує вміст АТФ, знижуючи рівень маркерів окислювальної модифікації білків – АФГ, КФГ та рівень $\Sigma\Delta ST$ на ЕКГ.

2. Ангіолін в дозі 50 мг/кг в більшій мірі ніж метаболітотропні мілдронат, яктон, мексидол (100 мг/кг) при руховій гіпоксії на фоні пітуїтрину нормалізує рівень $\Sigma\Delta ST$ на ЕКГ, тривалість бігу щурів, вміст маркерів окислювальної модифікації білків та АТФ.

Перспективи подальших досліджень. Планується провести експериментальні дослідження впливу ангіоліну з іншими метаболітотропними засобами на показники тиол-дисульфідної системи при руховій гіпоксії, а також руховій гіпоксії на фоні пітуїтрину.

References

1. Voronina TA. Rol' oksidativnogo stressa i antioksidantov pri dezadaptacii razlichnogo geneza. *Farmacija i farmakologija*. 2015; 3 (5): 8-17. [Russian].
2. Voronina TA, Kapica IG, Ivanova EA. Sravnitel'noe issledovanie vlijaniya meksidola i mildronata na fizicheskuyu rabotosposobnost' v jeksperimente. *Zhurnal nevrologii i psihiatrii im CC Korsakova*. 2017; 117 (4): 71-4. [Russian].
3. Gunina LM, Vinnichuk JuD, Dmitriev AV, i dr. Tivortin aspartat: novyj bezopasnyj i jeffektivnyj farmakologicheskij preparat dlja stimuljacii rabotosposobnosti sportsmenov. *Ukraïns'kij zhurnal medicini, biologii ta sportu*. 2017; 3 (5): 229-44. [Russian] <https://doi.org/10.26693/jmbs02.03.229>.
4. Nagorna OO, Bjelenichev IF, Gorchakova NO, ta in. Vplyv angiolinu na pokaznyky systemy oksydu azotu v miokardi shhuriv z eksperymental'noju hronichnoju sercevoju nedostatnistju. *Visnyk problem biologii i medycyny*. 2016; 4: 96-9. [Ukrainian].

5. Tverskaja MS, Gankovskaja LV, Suhoparova VV, Virganskij AO. Vlijanie estestvennogo kompleksa citokinov na strukturu i metabolism provodjashhej sistemy serdca v norme i pri uvelichenii gemodinamicheskoj nagruzki. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2017; 1641 (2): 681-5. [Russian].
6. Chekman IS, Bjelenichev IF, Nagorna OO, ta in. *Doklinichne vyvchennja specyfichnoi aktyvnosti potencijnyh likars'kyh zasobiv pervynnoi' ta vtorynnoi' nejroprotekcii': metodychni rekomendacii'*. Kyi'v, 2016. 93 p. [Ukrainian].
7. Jakovljeva IJu. Mehanizmy aktoprotekornoj dii pohidnyh jantarnoї kysloty. *Likars'ka sprava*. 2013; 3: 78-85. [Ukrainian].
8. Oliver TD, Ferguson M, Laughtin M. Molecular Mechanisms for Exercise Training-Induced Changes in Vascular Structure and Function: Skeletal Muscle, Cardiac Muscle, and the Brain. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015; 135: 227-57. PMID: 26477917. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2015.07.017.
9. Torrealba N, Aranguiz P, Alonso C, et al. Mitochondria in structural and functional cardiac remodeling. *Mitochondrial Dynamics in Cardiovascular Medicine*. Springer, Cham. 2017; 982: 277-306.

УДК 616.12-008.331.1:615.225.2

КАРДИОПРОТЕКТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОТРОПНЫХ СРЕДСТВ ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ ИНТАКТНЫХ КРЫС И НА ФОНЕ КОРОНАРОСПАЗМА

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

Резюме. Физические нагрузки во время тренировок и соревнований могут нарушить адаптационные возможности организма, в том числе деятельности сердечнососудистой системы. Еще более выраженные нарушения метаболизма и функции сердца наблюдаются условиях физической нагрузки.

Цель исследования – определение влияния метаболитотропных средств на работоспособность интактных крыс и при питуитриновом коронарораспазме, а также на показатели ЭКГ и метаболизма миокарда.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проведены на белых крысах-самцах в условиях двигательной гипоксии, которую воспроизводили бегом на тредбане при скорости движения ленты 50 см / мин при наклоне 50 ° до полного истощения. Двигательную гипоксию также моделировали на фоне питуитринового коронарораспазма (питуитрин вводили внутривентриально за 30 минут до гипоксии в дозе 1 Ед / кг). Кардиопротекторную активность метаболитотропных средств (ангиолина (50 мг / кг), милдроната, яктона, мексидола (100 мг / кг)), которые вводили внутривентриально за 30 минут до воспроизведения двигательной гипоксии, определяли по понижению сегмента ST на ЭКГ и изменениям биохимических показателей (содержания маркеров окислительной модификации белков – АФГ, КФГ, а также АТФ) общепринятыми методами.

Результаты и обсуждение. При двигательной гипоксии наблюдалось повышение сегмента ST над изолинией, рост показателей окислительной модификации белков и понижение содержания АТФ, что свидетельствует о развитии оксидативного стресса и понижении образования энергии.

Ангиолин в большей степени, а также другие метаболитотропные средства – милдронат, яктон, мексидол – способствуют повышению времени бега на тредбане, активизации синтеза АТФ, снижению сегмента ST, показателей окислительной модификации белков – АФГ, КФГ. На фоне питуитринового коронарораспазма уменьшается время бега крыс на тредбане, более выражено, чем у интактных крыс, снижается уровень АТФ, повышается сегмент ST над изолинией и уровень окислительной модификации белков. В этой серии исследований метаболитотропные средства повышают продолжительность бега крыс, содержание АТФ, снижают уровень ST, показатели окислительной модификации белков.

Выводы. Таким образом, метаболитотропные средства, в большей степени ангиолин, обладают акто- и кардиопротекторным действием при двигательной гипоксии, а также при двигательной гипоксии на фоне питуитрина.

Ключевые слова: двигательная гипоксия, питуитриновый коронарораспasm, ангиолин, милдронат, яктон, мексидол, актопротекция, кардиопротекция.

UDC 616.12-008.331.1: 615.225.2

Cardioprotectoral Influence of Metabolitotropic Measures in Physical Loading of Intact Rats and on the Coronary Vasospasm

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

Abstract. Physical loading during training exercises and competitions may influence the organism' adaption ability, including the cardiovascular system activity. More prominent, cardiac metabolism and function may be changed in the coronary spasm condition with the physical loading.

The purpose of the study was to establish the metabolitotropic compounds on the capacity of intact rats and in the conditions of pituitrine coronary vasospasm, ECG and metabolism of myocardial markers.

Material and methods. Experiments were conducted on white male rats without line. The physical loading was modulated by running on treadband with the velocity of ribbon 50 sm / min till exhaustion. There was an experimental series when before the physical loading pituitrine had been administered in dose 1 Unit/kg intraperitoneally for coronary vasospasm modulating.

The biochemical experiments were created according to the Methodical recommendation of state Expert Center of the Ministry of Health of Ukraine. The changes of ST segment at ECG and level of ATP, markers of oxidative proteins damage in the rats' hearts were investigated. The heart tissue was homogenized in cold acidic isotonic environment (0,15 M KCl) in temperature 4°C by glass homogenator. Then the homogenated tissue put into HCl (0,6 M) to obtain extract without proteins. The drugs have been introduced intraperitoneally in 30 minutes before moving hypoxia modulating in intact rats or before pituitrine administration. Angiotensin was introduced in dose 50 mg/kg. mildronate, yakton, mexidol in the dose 100 mg/kg.

The rats were decapitated under thiopentalum-natrium injection. Statistic investigations were made with the programs «STATISTICA for Windows 6.0» and «Microsoft Excell 2003».

Results and discussion. After the modeling moving hypoxia it was stated in the rats' hearts decrease of ATP on 27,5%, increase $\Sigma\Delta ST$ on ECG in 48 times, the level of the markers of oxidative damage of proteins – APhG on 65.%, KPhG on 93.7%. The development of oxidative processes and deficiency of energy was shown. Angiotensin increased the duration of running by 53.5%, level ATP on 28%, decrease the content of APhG by 38.3%, KPhG by 44.2%. All other metabolotropic drugs – mildronat, yakton, mexidol influenced on the biochemical data changes in the same development but in less degree.

Conclusions. The more disturbances in heart activity and biochemical markers were stated in the conditions of pituitrine coronary vasospasm. The following results were obtained: the decrease of running duration by 71%, ATP level in 3,4 times, elevation of $\Sigma\Delta ST$ on 112%, content of APhG in 2,28 times, KPhG in 2,68 times. Angiotensin introduction raised the tolerance to physical loading – running duration by 70%, $\Sigma\Delta ST$ on ECG by 63%. Angiotensin increased ATP level at 37% in the heart, and decreased the content of oxidative damage of proteins markers – APhG by 30%, KPhG by 39%. Angiotensin introduction has cardioprotective and adaptogenic action in physical loading and it cooperates with pituitrine coronary vasospasm. Other metabolotropic drugs changed $\Sigma\Delta ST$ and biochemical markers in physical loading and its cooperation with pituitrine coronary vasospasm in the same direction.

Keywords: moving hypoxia, pituitrine coronary vasospasm, angiotensin, mildronat, yakton, mexidol, actoprotection, cardioprotection.

Стаття надійшла 10.04.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування