

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ГОНЧАРОВ ОЛЕКСІЙ ВАЛЕНТИНОВИЧ

УДК: УДК 616.12-008.46:615.22

ДИСЕРТАЦІЯ

**АНАЛІЗ МЕТАБОЛІТОТРОПНОЇ ДІЇ β -АДРЕНОБЛОКАТОРІВ РІЗНИХ
ПОКОЛІНЬ ПРИ ХРОНІЧНІЙ СЕРЦЕВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

226 Фармація, промислова фармація

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ О.В. Гончаров

Науковий керівник – **Бєленічев Ігор Федорович**, доктор біологічних наук,
професор

Запоріжжя – 2026

АНОТАЦІЯ

Гончаров О.В. Аналіз метаболітотропної дії β -адреноблокаторів різних поколінь при хронічній серцевій недостатності (експериментальне дослідження) - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація (22 «Охорона здоров'я») – Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2026

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2026

Відомо, що в останні роки основною причиною смертності та інвалідизації населення промислово розвинених країн є серцево-судинні захворювання. Серед усіх серцево-судинних патологій саме хронічна серцева недостатність (ХСН) становить складну та значну проблему для системи охорони здоров'я багатьох країн. Незважаючи на досягнуті за останні 20 років успіхи в лікуванні ХСН, проблема залишається актуальною.

β -Адреноблокатори трьох поколінь нарівні з інгібіторами АПФ належать до препаратів першої лінії терапії ХСН. Дослідження останніх десятиліть встановили, що у патогенезі ХСН істотну роль відіграють зсуви у нітросидергічній системі міокарда, енергетичний дефіцит, пов'язаний із пошкодженням мітохондрій.

Однак побічні ефекти, відсутність чіткого уявлення про вплив β -адреноблокаторів на систему оксиду азоту, нітрозативний стрес, дисфункцію мітохондрій, порушення енергетичного метаболізму міокарда при ХСН, а також побічні реакції обмежують їх застосування в клінічній практиці та зумовлюють необхідність розроблення і створення нових β -адреноблокаторів із додатковими метаболітотропними властивостями.

У цьому аспекті інтерес становлять похідні 1,2,4-триазолу та нова сполука цієї групи — бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію, що виявляє антигіпертензивну, антиоксидантну та протиішемічну дію.

Робота виконана на базі Навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм та кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Дисертаційна робота присвячена з'ясуванню метаболітотропних механізмів кардіопротекторної дії Гіпертрилу (броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію), демонстрації його переваг перед β -адреноблокаторами різних поколінь та експериментальному обґрунтуванню доцільності його застосування у лікарській формі у вигляді таблеток при хронічній серцевій недостатності.

Фундаментальною основою дисертаційної роботи стали результати фармакологічних, біохімічних, імуноферментних, імуногістохімічних, електрофізіологічних, токсикологічних, фармацевтичних та статистичних досліджень, якими показано високу NO-міметичну, міто-протекторну, протиішемічну та антиоксидантну активність порівняно з β -адреноблокаторами різних поколінь, а також безпечність нового потенційного препарату Гіпертрил у таблетованій формі.

На базі Навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм та кафедри фармакології і медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету із використанням 416 білих безпородних щурів масою 190–220 г обох статей проведено порівняльну оцінку впливу β -адреноблокаторів різних поколінь (небівололу, метопрололу, бісопрололу, карведилолу) та Гіпертрилу на показники енергетичного метаболізму, мітохондріальної дисфункції, нітросидергічної системи, вегетативної регуляції серця та ЕКГ на моделі доксорубіцинової хронічної серцевої недостатності (ХСН).

Також було досліджено гостру токсичність, кумулятивну активність, місцево-подразнювальну та шкірно-подразнювальну дію розроблених таблеток

Гіпертрилу. У результаті експерименту було обґрунтовано доцільність застосування таблетованого Гіпертрилу в терапії ХСН як ефективного та безпечного лікарського засобу.

Курсове внутрішньошлункове введення метопрололу сукцинату (15 мг/кг), небівололу (10 мг/кг), карведилолу (50 мг/кг), бісопрололу (10 мг/кг) і, особливо, Гіпертрилу (3,5 мг/кг) протягом 30 діб експериментальним тваринам після моделювання ХСН різного ступеня вираженості знижувало показники систолічної (PST<0,001) та діастолічної (PST<0,001) дисфункції міокарда, сприяло відновленню вегетативних механізмів регуляції серцевого ритму (PST<0,001) та збалансованості активності симпатичного (PST<0,001) і парасимпатичного (PST<0,001) відділів вегетативної нервової системи в контролі роботи серця при ХСН.

Курсове внутрішньошлункове введення метопрололу сукцинату, небівололу, карведилолу, бісопрололу та особливо Гіпертрилу протягом 30 діб експериментальним тваринам після моделювання ХСН різного ступеня вираженості призводить до нормалізації активності NOS ($p<0,05$) у цитозолі та мітохондріях міокарда за рахунок підвищення eNOS (збільшення щільності eNOS-позитивних клітин ($p<0,05$) і зростання експресії eNOS ($p<0,05$)), що, у свою чергу, сприяє підвищенню утворення NO (збільшення вмісту нітритів у цитозолі ($p<0,05$) і мітохондріях ($p<0,05$) міокарда).

Також спостерігається нормалізація експресії iNOS у міокарді (зменшення щільності iNOS-позитивних клітин ($p<0,05$) і зниження експресії iNOS ($p<0,05$)), зниження рівня нітротирозину ($p<0,05$) та підвищення біодоступності NO порівняно з контрольною групою (неліковані тварини).

Традиційні β -адреноблокатори другого покоління (метопролол і бісопролол) не впливали на досліджувані показники енергетичного метаболізму, тоді як β -адреноблокатори третього покоління з додатковими властивостями – карведилол і, особливо, небіволол та Гіпертрил – покращували енергетичний метаболізм міокарда.

Застосування цих препаратів і, особливо, Гіпертрилу при ХСН призводило до підвищення вмісту АТФ і АДФ на тлі зниження АМФ і лактату за одночасного підвищення активності СДГ, НАД-МДГ і концентрації малату в різних фракціях гомогенату міокарда щурів з ХСН. β -адреноблокатори з додатковими властивостями і, особливо, Гіпертрил зменшували відкриття мітохондріальної пори (МП) та збільшували заряд внутрішньої мембрани мітохондрій міокарда.

Виявлені факти свідчать про зниження проявів мітохондріальної дисфункції та активацію компенсаторних цитозольно-мітохондріальних шунтів синтезу АТФ, а також про зменшення енергетичного дефіциту в міокарді щурів із ХСН за умови призначення β -адреноблокаторів з додатковими властивостями і, особливо, Гіпертрилу.

Препарати можна ранжувати таким чином: Гіпертрил > небіволол > карведилол > бісопролол > метопролол.

Теоретично та експериментально обгрунтовано доцільність створення таблеток броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію (Гіпертрил) з вмістом активного фармацевтичного інгредієнта 20 мг. Для попередньо отриманих таблеток розроблено сучасну методику їх стандартизації методом високоефективної рідинної хроматографії.

Проведеними токсикологічними дослідженнями показано, що таблетки Гіпертрилу належать до IV класу токсичності (малотоксичні речовини), не виявляють властивостей матеріальної кумуляції, не чинять місцево-подразнювальної та шкірно-подразнювальної дії і не спричиняють алергічних реакцій.

Отримані результати стали експериментальним обгрунтуванням для застосування Гіпертрилу в формі таблеток у лікуванні ХСН та для практичного вибору цих препаратів у складі комплексної терапії.

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше на основі комплексних експериментальних досліджень і аналізу даних про порушення електричної активності серця та вегетативної регуляції серцевого ритму, активації оксидативного стресу, пригнічення енергетичного

метаболізму і продукції АТФ, порушень нітродергічної системи отримані нові дані щодо ролі порушень експресії мРНК іNOS, мРНК eNOS та білків іNOS і eNOS у патогенезі розвитку ХСН. Новими є експериментальні дані про те, що вираженість порушень електричної активності серця і вегетативної регуляції серцевого ритму, оксидативний стрес і енергетичний дефіцит пов'язані з дисфункцією NO-системи міокарда.

Вперше визначені нові ланки-мішені для терапії ХСН — система NO, та показано перспективність її позитивної фармакологічної модуляції.

Вперше експериментально обґрунтовано та клінічно підтверджено застосування нового оригінального β-блокатора з NO-міметичним ефектом — броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію (Гіпертрилу) у лікуванні ХСН.

Вперше визначено механізм захисної дії Гіпертрилу при експериментальній ХСН, зокрема в активації та нормалізації експресії eNOS/iNOS, підвищенні продукції NO, що призводить до покращення ЕКГ, зменшення оксидативного стресу та поліпшення енергетичного метаболізму.

Вперше показано, що курсове введення щурам із експериментальною ХСН внутрішньошлунково Гіпертрилу (3,5 мг/кг) спричиняє негативний хронотропний ефект, що зумовлює зниження ЧСС ($p < 0,001$), інверсію сегмента ST нижче ізолінії до рівня контрольної групи ($p > 0,05$). Введення Гіпертрилу нормалізує тривалість фази деполяризації передсердь (зубець P) та шлуночків (комплекс QRS) до контролю ($p > 0,05$), підвищує спектральну потужність серцевого ритму TPW ($p < 0,001$) та знижує стрес-індекс SI ($p < 0,001$) порівняно з нелікованими тваринами.

Вперше показано, що Гіпертрил зменшує прояви вторинної мітохондріальної дисфункції при ХСН — зменшує відкриття мітохондріальної пори ($p < 0,05$), підвищує заряд внутрішньої мембрани мітохондрій міокарда ($p < 0,05$), збільшує продукцію АТФ і АДФ ($p < 0,05$) на фоні нормалізації реакцій циклу трикарбонових кислот, активації компенсаторного малат-аспартатного челночного механізму та обмеження анаеробного гліколізу в умовах експериментальної ХСН.

Вперше визначені NO-міметичні властивості Гіпертрилу в умовах експериментальної ХСН — підвищення експресії мРНК eNOS ($p < 0,05$) та білка

eNOS ($p < 0,05$), нормалізація експресії мРНК iNOS ($p < 0,05$) і білка iNOS ($p < 0,05$), підвищення продукції NO ($p < 0,05$) та його біодоступності.

Вперше продемонстровано переваги Гіпертрилу над базовими β -блокаторами різних поколінь (метопрололом, карведилолом, бісопрололом, небівололом) при експериментальній ХСН.

Вперше розроблено сучасний метод стандартизації лікарської форми Гіпертрилу для лікування ХСН – таблеток, а також вперше вивчено її безпечність (гостра токсичність, кумуляція, подразнювальна та алергічна дія).

Практичне значення одержаних результатів.

Результати проведених досліджень дозволили розширити та поглибити наявні дані про патогенез ХСН, а також про метаболіотропну дію базових β -блокаторів різних поколінь.

Встановлено виражені NO-міметичні, антиоксидантні, мітопротективні, протиішемичні та метаболіотропні ефекти у порівняльному аспекті з β -адреноблокаторами різних поколінь, що свідчить про перспективність і доцільність його подальшого застосування у лікуванні ХСН.

Удосконалено і апробовано методичний підхід до оцінки кардіопротекторної активності потенційних лікарських засобів.

Експериментально обґрунтовано доцільність розробки та створення лікарської форми Гіпертрилу у вигляді таблеток для лікування.

Результати дослідження інтегровані в науковий процес на наступних кафедрах:

Медичної хімії Інституту фармакології і токсикології НАМН України

Також результати дослідження інтегровані в навчальний процес на наступних кафедрах:

Фармакології, загальної та клінічної фармації Дніпровського Державного Медичного Університету;

Фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пірогова;

Фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету;

Клінічної лабораторної діагностики та біологічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Особистий внесок здобувача.

Під керівництвом наукового керівника були сформульовані цілі та завдання дослідження, а також проведене планування роботи. Дисертант особисто здійснив патентно-інформаційний пошук за досліджуваною проблемою фармакології та кардіології, складено план і визначено коло наукових джерел для огляду літератури. Власноруч проведено всі експериментальні та клінічні розділи дослідження. За безпосередньої участі автора виконувались фармакологічні, електрофізіологічні, біохімічні та імуноферментні дослідження. Дисертант особисто здійснив статистичну обробку цифрових даних, підготував таблиці та рисунки, написав відповідні розділи роботи. Спільно з науковим керівником проведено аналіз та узагальнення результатів експериментальних та клінічних досліджень, зроблено висновки та практичні рекомендації. Автор не запозичував ідей або результатів роботи інших співавторів у спільних публікаціях. Для перевірки граматики, пунктуації, стилю, виправлення складних орфографічних помилок, а також оформлення тексту за ДСТУ використано комп'ютерну програму Perplexity (<https://www.perplexity.ai/hub/getting-started#copilot>).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових праць: 3 статті, в наукових фахових журналах, котрі входять до міжнародної наукометричної бази Scopus 1-2 Q, 5 тез у матеріалах Всеукраїнських з'їздів і науково-практичних конференцій.

Ключові слова: серцево-судинні захворювання, ХСН, тваринні моделі, щури, ішемія, енергетичний обмін, нітросидергічна система, бета-адrenoблокатори, похідні 1,2,4-триазолу, бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію, протиішемична, антиоксидатна, кардіопротективна дія, гостра токсичність, біохімічні параметри, лікарські форми, таблетована лікарська форма.

SUMMARY

Goncharov O.V. Analysis of the metabolitotropic effects of β -adrenoblockers of different generations in chronic heart failure (experimental study). Qualifying scientific work on the rights of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 Pharmacy, Industrial Pharmacy (22 “Healthcare”) – Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2026.

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2026.

In recent years, cardiovascular diseases have been the leading cause of mortality and disability among the population of industrially developed countries. Among all cardiovascular pathologies, chronic heart failure (CHF) represents a complex and significant problem for the healthcare systems of many nations. Despite remarkable progress achieved over the past 20 years in the treatment of CHF, the problem remains highly relevant.

β -adrenoblockers of three generations, along with ACE inhibitors, belong to the first-line therapeutic agents for CHF. Studies of the past decades have demonstrated that disturbances in the myocardial nitric oxide system, as well as energy deficiency associated with mitochondrial damage, play an essential role in the pathogenesis of CHF.

However, adverse effects, insufficient understanding of the influence of β -adrenoblockers on the nitric oxide system, nitrosative stress, mitochondrial dysfunction, and impaired myocardial energy metabolism in CHF, as well as the presence of side reactions, limit their clinical use and justify the need for the development and creation of new β -adrenoblockers with additional metabolitotropic properties.

In this context, particular interest is directed toward derivatives of 1,2,4-triazole and a new compound of this group — 1-(β -phenylethyl)-4-amino-1,2,4-triazolium bromide, which exhibits antihypertensive, antioxidant, and anti-ischemic activity.

The study was conducted at the Educational and Scientific Medical Laboratory Center with Vivarium and the Department of Pharmacology and Medical Prescription

with a course in Normal Physiology of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

The dissertation research is devoted to elucidating the metabolitotropic mechanisms of the cardioprotective action of Hypertril (1-(β -phenylethyl)-4-amino-1,2,4-triazolium bromide), demonstrating its advantages over β -adrenoblockers of different generations, and providing experimental substantiation for its use in tablet form in the treatment of chronic heart failure (CHF).

The fundamental basis of the dissertation was formed by the results of pharmacological, biochemical, enzyme-linked immunoassay, immunohistochemical, electrophysiological, toxicological, pharmaceutical, and statistical studies. These studies demonstrated the high NO-mimetic, mito-protective, anti-ischemic, and antioxidant activity of Hypertril, as compared with β -adrenoblockers of different generations, as well as the safety of this new potential drug in tablet form.

On the basis of the Educational and Scientific Medical Laboratory Center with Vivarium and the Department of Pharmacology and Medical Prescription with a course in Normal Physiology of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, a comparative evaluation was carried out using 416 outbred white rats (190–220 g, both sexes) to assess the effects of β -adrenoblockers of different generations (nebivolol, metoprolol, bisoprolol, carvedilol) and Hypertril on indicators of energy metabolism, mitochondrial dysfunction, nitric oxide system, autonomic regulation of the heart, and ECG parameters in a model of doxorubicin-induced chronic heart failure.

The acute toxicity, cumulative activity, local-irritant, and dermal-irritant effects of the developed Hypertril tablets were also studied. The results experimentally justified the feasibility of using tablet Hypertril in the therapy of CHF as an effective and safe medicinal product.

A 30-day course of intragastric administration of metoprolol succinate (15 mg/kg), nebivolol (10 mg/kg), carvedilol (50 mg/kg), bisoprolol (10 mg/kg), and especially Hypertril (3.5 mg/kg) to experimental animals after CHF induction of various severity significantly decreased the indices of systolic ($p < 0.001$) and diastolic ($p < 0.001$) myocardial dysfunction, promoted restoration of autonomic regulation of cardiac rhythm

($p < 0.001$), and balanced the activity of the sympathetic ($p < 0.001$) and parasympathetic ($p < 0.001$) divisions of the autonomic nervous system in cardiac control under CHF conditions.

A 30-day course of intragastric administration of metoprolol succinate, nebivolol, carvedilol, bisoprolol, and particularly Hypertril in experimental animals after induction of CHF of varying severity led to normalization of NOS activity ($p < 0.05$) in the cytosol and mitochondria of the myocardium through increased eNOS activity (higher density of eNOS-positive cells ($p < 0.05$) and elevated eNOS expression ($p < 0.05$)), which in turn enhanced NO formation (increased nitrite content in the cytosol ($p < 0.05$) and mitochondria ($p < 0.05$) of the myocardium).

There was also normalization of iNOS expression in the myocardium (decreased density of iNOS-positive cells ($p < 0.05$) and downregulation of iNOS expression ($p < 0.05$)), reduced nitrotyrosine levels ($p < 0.05$), and increased bioavailability of NO compared with the control group (untreated animals).

Traditional second-generation β -adrenoblockers (metoprolol and bisoprolol) did not affect the studied parameters of energy metabolism, whereas third-generation β -adrenoblockers with additional properties — carvedilol, and especially nebivolol and Hypertril — improved myocardial energy metabolism.

The use of these agents, particularly Hypertril, in CHF resulted in an increase in ATP and ADP levels with a concomitant decrease in AMP and lactate, along with an elevation of SDH and NAD-MDH activities and higher malate concentration in different fractions of myocardial homogenate in CHF rats. β -adrenoblockers with additional properties, and especially Hypertril, reduced the opening of the mitochondrial permeability transition pore (MPTP) and increased the inner mitochondrial membrane potential.

These findings indicate a reduction in mitochondrial dysfunction manifestations and activation of compensatory cytosolic-mitochondrial shunts of ATP synthesis, as well as attenuation of the myocardial energy deficit in CHF rats treated with β -adrenoblockers possessing additional properties, particularly Hypertril.

The compounds can be ranked as follows:
Hypertril > nebivolol > carvedilol > bisoprolol > metoprolol.

The feasibility of developing tablets of 1-(β -phenylethyl)-4-amino-1,2,4-triazolium bromide (Hypertril) containing 20 mg of the active pharmaceutical ingredient has been theoretically and experimentally substantiated. For the preliminarily obtained tablets, a modern standardization method has been developed using high-performance liquid chromatography.

Toxicological studies demonstrated that Hypertril tablets belong to toxicity class IV (slightly toxic substances), show no material accumulation, do not exhibit local-irritant or skin-irritant effects, and do not cause allergic reactions.

The obtained results provide experimental justification for the use of tablet Hypertril in the treatment of CHF and support its practical inclusion in combination therapy regimens.

Scientific novelty of the obtained results

For the first time, based on comprehensive experimental studies and analysis of data concerning disturbances in cardiac electrical activity and autonomic regulation of cardiac rhythm, activation of oxidative stress, suppression of energy metabolism and ATP production, and impairments of the nitric oxide system, new data have been obtained regarding the role of altered expression of iNOS and eNOS mRNA and the corresponding proteins (iNOS and eNOS) in the pathogenesis of chronic heart failure (CHF). Novel experimental findings demonstrate that the severity of disturbances in cardiac electrical activity and autonomic regulation, oxidative stress, and energy deficit are associated with dysfunction of the myocardial NO system.

For the first time, new therapeutic targets for CHF have been identified — the nitric oxide system — and the prospects of its positive pharmacological modulation have been demonstrated.

For the first time, the use of a new original β -blocker with NO-mimetic effect — 1-(β -phenylethyl)-4-amino-1,2,4-triazolium bromide (Hypertril) — has been experimentally substantiated and clinically confirmed for the treatment of CHF.

For the first time, the mechanism of the protective effect of Hypertril in experimental CHF has been elucidated, specifically through activation and normalization

of eNOS/iNOS expression and increased NO production, leading to ECG improvement, reduction of oxidative stress, and enhancement of energy metabolism.

It has been shown for the first time that intragastric administration of Hypertril (3.5 mg/kg) to rats with experimental CHF exerts a negative chronotropic effect, resulting in decreased heart rate ($p < 0.001$), ST-segment inversion below the isoelectric line to the level of the control group ($p > 0.05$). Administration of Hypertril normalizes the duration of the atrial (P wave) and ventricular (QRS complex) depolarization phases to control values ($p > 0.05$), increases the spectral power of heart rate (TPW, $p < 0.001$), and decreases the stress index (SI, $p < 0.001$) compared with untreated animals.

For the first time, it has been demonstrated that Hypertril reduces manifestations of secondary mitochondrial dysfunction in CHF — decreases mitochondrial permeability transition pore (MPTP) opening ($p < 0.05$), increases the inner mitochondrial membrane potential ($p < 0.05$), and enhances ATP and ADP production ($p < 0.05$), accompanied by normalization of tricarboxylic acid cycle reactions, activation of the compensatory malate–aspartate shuttle mechanism, and restriction of anaerobic glycolysis under experimental CHF conditions.

The NO-mimetic properties of Hypertril in experimental CHF have been identified for the first time — through increased expression of eNOS mRNA ($p < 0.05$) and eNOS protein ($p < 0.05$), normalization of iNOS mRNA ($p < 0.05$) and iNOS protein expression ($p < 0.05$), enhancement of NO production ($p < 0.05$), and improvement of its bioavailability.

For the first time, the advantages of Hypertril over conventional β -blockers of different generations (metoprolol, carvedilol, bisoprolol, and nebivolol) have been demonstrated in experimental CHF.

For the first time, a contemporary method for the standardization of the Hypertril dosage form (tablets) intended for CHF therapy has been developed, and its safety profile — including acute toxicity, cumulation, irritant, and allergenic properties — has been comprehensively studied.

Practical significance of the obtained results

The results of the conducted studies made it possible to expand and deepen the existing knowledge about the pathogenesis of chronic heart failure (CHF), as well as about the metabolitotropic effects of baseline β -blockers of different generations.

Pronounced NO-mimetic, antioxidant, mitoprotective, anti-ischemic, and metabolitotropic effects have been established in a comparative aspect with β -adrenoblockers of various generations, indicating the promising potential and feasibility of its further application in CHF treatment.

A methodological approach to the assessment of the cardioprotective activity of potential medicinal agents has been improved and tested.

The feasibility of developing and creating a pharmaceutical dosage form of Hypertril in tablet form for therapeutic use has been experimentally substantiated.

The results of the study have been integrated into the scientific research process at the following departments:

- Department of Medicinal Chemistry, Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.

The research results have also been integrated into the educational process at the following departments:

- Department of Pharmacology, General and Clinical Pharmacy, Dnipro State Medical University;

- Department of Pharmacology, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya;

- Department of Pharmaceutical, Organic, and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University;

- Department of Clinical Laboratory Diagnostics and Biological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

Author's personal contribution

Under the supervision of the scientific advisors, the objectives and tasks of the research were formulated, and the overall study design was developed. The author personally carried out a patent and information search on the research problem in

pharmacology and cardiology, prepared the study plan, and identified the range of scientific sources for the literature review.

All experimental and clinical parts of the study were performed personally by the author. Pharmacological, electrophysiological, biochemical, and enzyme-linked immunoassay studies were conducted with the direct participation of the researcher. The dissertation author personally performed the statistical processing of quantitative data, prepared the tables and figures, and wrote the corresponding sections of the work.

Together with the scientific supervisor, the author analyzed and summarized the results of the experimental and clinical studies, drew conclusions, and formulated practical recommendations. The author did not borrow ideas or results obtained by co-authors from joint publications.

To check grammar, punctuation, style, correct complex spelling errors, as well as format the text according to SSU, a computer program was used Perplexity (<https://www.perplexity.ai/hub/getting-started#copilot>).

Publications

Based on the materials of the dissertation, 8 scientific papers have been published, including 3 articles in professional scientific journals indexed in the international Scopus scientometric database (Q1–Q2), and 5 abstracts in the materials of All-Ukrainian congresses and scientific-practical conferences.

Keywords: cardiovascular diseases, CHF (chronic heart failure), animal models, rats, ischemia, energy metabolism, nitric oxide system, beta-blockers, 1,2,4-triazole derivatives, 1-(β -phenylethyl)-4-amino-1,2,4-triazolium bromide anti-ischemic, antioxidant, cardioprotective action, acute toxicity, biochemical parameters, dosage forms, tablet dosage form.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Belenichev I, Goncharov O, Bukhtiyarova N, Kuchkovskyi O, Ryzhenko V, Maquyeyeva L, Oksenyich V, Kamyshnyi O. Beta-Blockers of Different Generations: Features of Influence on the Disturbances of Myocardial Energy Metabolism in Doxorubicin-Induced Chronic Heart Failure in Rats. *Biomedicines*. 2024 Aug 28;12(9):1957. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12091957> (Беленічев І.Ф. - концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Гончаров О.В. - концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, проведення дослідження, збір та компонування даних; Бухтіярова Н.В. - проведення дослідження, критичний перегляд статті; Кучковський О.М. - проведення дослідження, збір та компонування даних, критичний перегляд статті; Риженко В.П. - збір та компонування даних, критичний перегляд статті; Макєєва Л.В. - критичний перегляд статті; Оксеніч В. - критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Камішній О.М. - критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті).

2. Goncharov O, Belenichev I, Abramov A, Popazova O, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Pavliuk I (2023) Influence of experimental heart failure therapy with different generations of β -adrenergic blockers on Cardiac Electrical Activity (ECG) and Autonomic Regulation of Heart Rhythm (ARHR). *Pharmacia* 70(4): 1157-1165. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e110924> (Гончаров О.В. - брав участь у проведенні літературного пошуку, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті; Беленічев І.Ф. - концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Абрамов А.В. - критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Попазова О.О. - збір та компонування даних; Кучеренко Л.І. - критичний перегляд статті; Бухтіярова Н.В. - критичний перегляд статті; Павлюк І.В. - критичний перегляд статті).

3. I. Belenichev, O. Goncharov, A. Abramov, L. Kucherenko, N. Bukhtiyarova, L. Maquyeyeva, V. Ryzhenko, D. Semenov. The state of the myocardial nitrooxidergic

system during modelling of doxorubicin-induced chronic heart failure and the administration of β -blockers of various generations // *Farmacia*. - 2024. - Vol. 72, N 5. - P. 1048-1058. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.5.7> (Беленічев І.Ф. - концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Гончаров О.В. - проведення експериментальних досліджень, обробка одержаних результатів, написання та оформлення статті; Абрамов А.В. - критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Кучеренко Л.І. - критичний перегляд статті; Бухтіярова Н.В. - критичний перегляд статті; Макєєва Л.В. - збір та компонування даних; Риженко В.П. - збір та компонування даних; Семенов Д. - критичний перегляд статті).

4. Беленічев І.Ф., Кучеренко Л.І., Гончаров О.В., Горчакова Н.О., Борисова В.Д. Вплив нового β -адреноблокатора з NO-модулюючим ефектом «Гіпертринл» на формування дисфункції мітохондрій у міокарді SHR // Науково-практична конференція «ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ТА КЛІНІЧНІ АСПЕКТИ ФАРМАКОЛОГІЇ», 22 листопада 2022.- м. Запоріжжя. С. 49. (Беленічев І.Ф. - концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Кучеренко Л.І. - критичний перегляд статті; Гончаров О.В. - проведення експериментальних досліджень, обробка одержаних результатів, написання та оформлення статті; Горчакова Н.О. - збір та компонування даних, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Борисова В.Д. - критичний перегляд статті).

5. Гончаров О.В., Попазова О.О., Скорина Д.Ю. Порівняльна оцінка кардіопротективної дії нового потенційного препарату «Гіпертринл» та β -адреноблокаторів різних поколінь в умовах моделювання доксорубіцинової моделі хронічної серцевої недостатності (ХСН)// 83 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СУЧАСНОЇ МЕДИЦИНИ ТА ФАРМАЦІЇ – 2023», 25-26 травня 2023 р., м. Запоріжжя, С. 82. (Особистий внесок - набір матеріалу, участь у проведенні фармакологічних, біохімічних, імуноферментних досліджень та статистичної обробки результатів, написання та підготовка тез до друку).

6. Гончаров О.В. Зміни в нітродоксидергічній системі міокарду щурів з доксорубіциновою хронічною серцевою недостатністю на фоні введення β -блокаторів// Науково-практична конференція «Актуальні питання сучасної медицини та фармації - 2024», 23-24 травня 2024 року. м. Запоріжжя, С. 133. (Особистий внесок - набір матеріалу, участь у проведенні фармакологічних, біохімічних, імуноферментних досліджень та статистичної обробки результатів, написання та підготовка тез до друку).

7. Гончаров О.В. , Варванський П.А., Шапаренко Л.В. Порушення енергетичного обміну міокарда при експериментальній хронічній серцевій недостатності: можлива фармакокорекція бета-блокаторами// 85 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СУЧАСНОЇ МЕДИЦИНИ ТА ФАРМАЦІЇ – 2025», 15-16 травня 2025 р., м. Запоріжжя, С. 221. (Особистий внесок - набір матеріалу, участь у проведенні фармакологічних, біохімічних, імуноферментних досліджень та статистичної обробки результатів, написання та підготовка тез до друку).

8. Aliyeva O.G., Belenichev I.F., Popazova O.O., Goncharov O.V. THE RELATIONSHIP BETWEEN CEREBRAL AND CARDIAC VASCULAR ENDOTHELIAL DISORDERS IN CARDIAC PATHOLOGY OF ISCHEMIC GENESIS// Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 95-річчю професора Андрія Костянтиновича Коломійцева «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці – 2025», 29-30 травня 2025 року. м. Київ, С. 248. (Особистий внесок - набір матеріалу, участь у проведенні фармакологічних, біохімічних досліджень та статистичної обробки результатів, написання та підготовка тез до друку).

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ.....	16
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ ТА СКОРОЧЕНЬ.....	22
ВСТУП.....	25
РОЗДІЛ 1 ПАТОХІМІЧНІ ЗМІНИ В МІОКАРДІ, ПОВ'ЯЗАНІ З NO ПРИ ХРОНІЧНІЙ СЕРЦЕВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ (ХСН), ТА МОЖЛИВОСТІ ЇХ ФАРМАКОКОРЕКЦІЇ ЗАСОБАМИ БАЗОВОЇ ТЕРАПІЇ Й НОВИМИ ЛІКАРСЬКИМИ ПРЕПАРАТАМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	33
1.1.1 Молекулярно-біохімічні механізми формування міокардіодистрофії при ХСН — фокус на NO.....	33
1.1.2 Мітохондріальна дисфункція та порушення енергетичного метаболізму при ХСН.....	34
1.1.3 Порушення доставки субстратів окиснення в міокарді при ХСН.....	40
1.1.4 Порушення нітроксидергічної системи при ХСН.....	42
1.1.5 АФК та енергетичний обмін у міокарді.....	44
1.1.6 АФК та серцева недостатність.....	44
1.1.7 Шляхи утворення АФК при серцевій недостатності.....	46
1.1.8 Антиоксидантна система міокарда при ХСН.....	51
1.1.9 Оксидативний стрес і ХСН.....	54
1.1.10 NO та апоптоз при ХСН.....	56
1.2 Сучасний погляд на медикаментозну терапію ХСН. Фокус на β - адреноблокатори	58
1.2.1 Інгібітори натрій-глюкозного котранспортера 2 (SGLT2).....	59
1.2.2 Діуретики.....	61
1.2.3 Інгібітори АПФ.....	64
1.2.4 β -адреноблокатори.....	68

1.3 Похідні 1,2,4-триазолу — перспективні засоби кардіопротекції при ХСН.....	75
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	81
2.1 Експериментальні тварини.....	81
2.2 Експериментальна модель хронічної серцевої недостатності (ХСН)....	83
2.3 Лікарські засоби й фармакологічні агенти.....	83
2.4 Анестезія.....	84
2.5 Електрофізіологічні методи.....	84
2.6 Підготовка біологічного матеріалу.....	87
2.7 Імуногістохімія.....	87
2.8 Імуноферментний аналіз (ELISA).....	89
2.9 Біохімічні методи.....	89
2.10 Токсикологічні методи дослідження.....	96
2.11 Ідентифікація та кількісне визначення.....	99
2.12 Статистичний аналіз.....	100
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	102
3.1 Вплив експериментальної терапії хронічної серцевої недостатності β -адреноблокаторами різних поколінь на електричну активність серця (ЕКГ) та автономну регуляцію серцевого ритму (АРРС).....	102
3.2 Стан нітродоксидергічної системи міокарда під час моделювання доксорубіцин-індукованої хронічної серцевої недостатності та введення β -адреноблокаторів різних поколінь	117
3.3 Показники енергетичного метаболізму міокарда та мітохондріальної дисфункції при моделюванні ХСН (доксорубіцинова модель у щурів) та курсовому введенні β -блокаторів різних поколінь	123
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3.....	127
РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА СУЧАСНОГО МЕТОДУ СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТАБЛЕТОК ГІПЕРТРИЛУ МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ТА ОЦІНКА ЇХНЬОЇ НЕШКІДЛИВОСТІ....	130

4.1 Розробка методу стандартизації таблеток гіпертрилу методом високоефективної рідинної хроматографії.....	134
4.2 Визначення гострої токсичності таблеткової маси Гіпертрилу при внутрішньошлунковому введенні щурам.....	141
4.3 Аналіз кумулятивних властивостей таблеткової маси Гіпертрил.....	143
4.4 Оцінка шкірно-подразнюючої дії.....	144
4.5 Вивчення алергенних властивостей 1% суспензії таблеткової маси Гіпертрил.....	144
4.6 Кон'юнктивальна проба.....	145
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4.....	146
РОЗДІЛ 5 АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ....	147
ВИСНОВКИ.....	165
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	167
ДОДАТОК А.....	227
ДОДАТОК Б.....	232
ДОДАТОК В.....	235

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ ТА СКОРОЧЕНЬ

АГ	– артеріальна гіпертензія
АТФ	– аденозинтрифосфорна кислота
АДФ	– аденозиндифосфорна кислота
АМФ	– аденозинмонофосфорна кислота
АФГ	– альдегідфенілгідрозони
АФК	– активна форма кисню
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія
ГПР	– глутатіонпероксидаза
ГР	– глутатіонредуктаза
ІМ	– інфаркт міокарда
КФГ	– карбоксилфенілгідрозони
ЛШ	– лівий шлуночок
МДГ	– малатдегідрогеназа
МП	– мітохондріальна пора
МВ-КФК	– міокардіальний ізоензим креатинфосфокінази
СДГ	– сукцинатдегідрогеназа
СОД	– супероксиддисмутаза
ОМБ	– окисна модифікація білків
ЕД	– ендотеліальна дисфункція
ЕКГ	– електрокардіографія

ЧСС	– частота серцевих скорочень
ФВ	– фракція викиду
XCH	– хронічна серцева недостатність
NOS	– синтаза оксиду азоту
β -АБ	– β -адреноблокатори
eNOS	– ендотеліальна синтаза оксиду азоту
iNOS	– індукцйбельна синтаза оксиду азоту
NO	– оксид азоту
ONOO ⁻	– пероксинітрит
P	– амплітуда зубця P, що характеризує систолу передсердь
R	– амплітуда зубця R, що характеризує систолу шлуночків
T	– амплітуда зубця T, що характеризує реполяризацію шлуночків
ST _j	– амплітуда елевації сегмента ST відносно ізолінії, що характеризує ступінь ішемічного ураження міокарда
PQ	– тривалість атріовентрикулярного проведення
QRS	– тривалість електричної систоли шлуночків
T	– тривалість реполяризації шлуночків
TP	– тривалість електричної діастоли
RR	– тривалість серцевого циклу
SI	– індекс напруження (індекс Баєвського, стрес-індекс)
PAPR	– показник адекватності процесів регуляції
TPW	– сумарний рівень активності регуляторних систем

- ULF – потужність ультранизькочастотного діапазону спектра
- VLF – потужність дуже низькочастотного діапазону спектра
- LF – потужність низькочастотного діапазону спектра
- HF – потужність високочастотного спектра
- LF/HF – індекс вагосимпатичної взаємодії (потужність спектра)
- IC – індекс централізації

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Відомо, що в останні роки основною причиною смертності та інвалідизації населення розвинених у індустріальному відношенні країн виступають серцево-судинні захворювання [1-2].

Світова статистика демонструє невтішні дані: на сьогодні поширеність клінічно вираженої хронічної серцевої недостатності в загальній популяції становить не менше 1,8–2,0%; серед осіб віком понад 65 років, частота ураження ХСН зростає до 6–10%, а декомпенсація стає найпоширенішою причиною госпіталізації пацієнтів похилого віку. За останні 15 років кількість госпіталізацій з діагнозом ХСН зросла утричі, а за 40 років – у 6 разів. Прогноз при хронічній серцевій недостатності залишається вкрай серйозним незалежно від її етіології: протягом 5 років після встановлення діагнозу помирають 75% чоловіків і 62% жінок. Серед усіх серцево-судинних захворювань саме хронічна серцева недостатність є складною та масштабною проблемою для системи охорони здоров'я багатьох країн. Попри досягнення останніх 20 років у лікуванні ХСН, проблема залишається актуальною [3-6].

ХСН стає однією з провідних проблем сучасної медицини і характеризується вкрай несприятливим прогнозом. Так, щорічна смертність серед пацієнтів із ХСН III–IV функціонального класу досягає 60%, і лише половина менш тяжких хворих виживає протягом 5 років з моменту встановлення діагнозу [7-12].

На теперішній час розроблені рекомендації щодо терапії ХСН, які передбачають призначення інгібіторів АПФ, діуретиків, серцевих глікозидів та бета-блокаторів [13-14].

Саме бета-блокатори на рівні з інгібіторами АПФ відносяться до препаратів першої лінії в терапії ХСН, оскільки вони здатні покращувати показники виживаності та зменшувати число госпіталізацій хворих, ефективно підвищувати фракцію викиду (ФВ), знижувати масу та сферичність лівого шлуночка (ЛШ), і відповідно до сучасних рекомендацій показані як для лікування пацієнтів з ХСН, так і з високим серцево-судинним ризиком [15-17].

Сучасні β -АБ представлені лікарськими засобами трьох поколінь:

- 1) неселективні (β_1 і β_2 -АБ),
- 2) кардіоселективні (β_1 -АБ) — так звані традиційні β -АБ,
- 3) β -АБ з додатковими властивостями, такими як блокада α -рецепторів або NO-міметична дія.

Найбільше розповсюдження у лікуванні ХСН отримали традиційні β -АБ другого покоління — кардіоселективні β_1 -АБ (метопролол, бісопролол і атенолол) [18-20].

Терапія ХСН традиційними β -АБ другого покоління не завжди є ефективною і подекуди супроводжується несприятливими клінічними наслідками. Виявлені у традиційних β_1 -АБ побічні ефекти, такі як негативний вплив на вуглеводний і ліпідний метаболізм, а також на центральну нервову систему (ЦНС), також обмежують їх застосування в клінічній практиці [21].

Перспективними з точки зору ефективності та безпеки є β_1 -АБ з додатковими вазолітичними властивостями. Відомими представниками цієї групи є небіволол і карведилол. У цьому контексті науковий інтерес викликає розробка нових оригінальних лікарських засобів для лікування ХСН, які поєднують у собі β_1 -АБ із антиоксидантними, NO-міметичними, вазодилаторними, антиапоптичними та метаболітотропними властивостями [22-23].

У цьому контексті перспективним є потенційний препарат Гіпертрил (1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію бромід), розроблений на кафедрах фармацевтичної хімії та фармакології ЗДМФУ, який проявляє β_1 -адреноблокуючу, антигіпертензивну та NO-міметичну дії. Також було виявлено позитивний вплив Гіпертрилу на метаболізм міокарда при артеріальній гіпертензії та гострому інфаркті на експериментальних тваринах [24].

Перспективність подальшого дослідження ЛЗ із подібними властивостями, як у Гіпертрилу, зумовлена також тим, що ХСН супроводжується дисфункцією мітохондрій та стійкими порушеннями енергетичного метаболізму міокарда, що призводить до дефіциту макроергів, продукції АФК, оксидативного стресу та апоптозу [25-26].

Відомо також, що порушення продукції NO при ХСН спричиняють посилення порушень нагнітальної функції серця, базального тону судин, зниження перфузії та обміну у міокарді, а також ініціюють апоптоз і прогресування захворювання [27-28].

Оскільки терапевтична дія Гіпертрилу при моделюванні ХСН до цього часу не оцінена, а також не вивчені механізми його кардіопротекторної дії, пов'язані з NO-міметичними властивостями, антиоксидантними, мітопротекторними та метаболітотропними ефектами у порівняльному аспекті з β -АБ різних поколінь, вищезазначене визначає надзвичайний інтерес та актуальність даного дослідження.

Зв'язок із науковими програмами, планами, темами, грантами.

Дисертаційна робота є фрагментом планових наукових тем кафедри фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медико-фармацевтичного університету «Роль тіол-дисульфідної системи в реалізації механізмів нейродеструкції/нейропротекції та розробка шляхів фармакологічної модуляції після пренатальної гіпоксії» (2023–2025 рр., № держреєстрації: 0123U101110). Дисертант є співвиконавцем зазначеної теми.

Мета:

З'ясувати метаболітотропні механізми кардіопротективної дії нового похідного 4-аміно-1,2,4-триазолу (Гіпертрил), показати його переваги перед небівололом, карведилолом, бісопрололом, метопрололом сукцинатом та експериментально обґрунтувати його застосування при терапії хронічної серцевої недостатності.

Завдання:

1. Вивчити вплив 4-аміно-1,2,4-триазолу на показники електричної активності серця та вегетативної регуляції серцевого ритму на моделі хронічної серцевої недостатності у порівнянні з β -адреноблокаторами різних поколінь (небіволол, карведилол, бісопролол, метопролол).

2. Оцінити вплив похідного 4-аміно-1,2,4-триазолу та базових β -адреноблокаторів на показники експресії мРНК, iNOS та eNOS та на експресію iNOS та eNOS у міокарді тварин з доксорубіциновою ХСН.

3. Оцінити вплив похідного 4-аміно-1,2,4-триазолу та базових β -адреноблокаторів на активність iNOS та eNOS, вміст стабільних метаболітів NO, і нітротирозину в міокарді щурів з ХСН

4. Оцінити вплив похідного 4-аміно-1,2,4-триазолу та базових β -адреноблокаторів на показники енергетичного обміну міокарду (АТФ, АДФ, АМФ, лактат, малат, піруват, СДГ, МДГ) та функціональної активності мітохондрій (заряд мембрани, швидкість відкриття пори) в умовах модульованої доксорубіцином ХСН.

5. Оцінити вплив похідного 4-аміно-1,2,4-триазолу та базових β -адреноблокаторів на щільність NOS-позитивних клітин у міокарді експериментальних тварин із ХСН.

6. Розробити сучасні методи стандартизації лікарської форми похідного 4-аміно-1,2,4-триазолу – таблеток та оцінити їхню безпечність (гостра токсичність, кумуляція, місцево-подразнювальна дія та алергічні реакції).

Об'єкт дослідження:

Метаболічні порушення у міокарді щурів із ХСН та їх фармакологічна корекція.

Предмет дослідження:

Кардіопротективна, NO-міметична та метаболітотропна дія похідного 4-аміно-1,2,4-триазолу та β -адреноблокаторів різних поколінь за умов експериментальної ХСН.

Методи дослідження:

Фармакологічні: порівняльна оцінка кардіопротективної, NO-міметичної та метаболітотропної дії похідного 4-аміно-1,2,4-триазолу у порівнянні з β -адреноблокаторами різних поколінь за умов експериментальної ХСН з урахуванням ступеня покращення електрокардіографічних показників, нітроксидергічної системи та енергетичного метаболізму міокарда.

Біохімічні: визначення в цитозольній та мітохондріальній фракціях міокарда щурів із ХСН показників енергетичного обміну — АТФ, АДФ, АМФ, малату, пірувату, лактату, активності СДГ, МДГ, швидкості відкриття мітохондріальної пори, заряду мембрани мітохондрій та інтермедіатів нітроксидергічної системи —

стабільних метаболітів NO, активності NOS, антиоксидантної системи — відновлених тіолів.

Імуноферментні: визначення в цитозольній і мітохондріальній фракціях міокарда показників системи монооксиду азоту — eNOS, iNOS, оксидативного стресу — нітротирозину.

Гістоімуногістохімічні: визначення щільності NOS-позитивних клітин.

Токсикологічні: визначення гострої токсичності, кумулятивної дії, місцево-подразнювальної та шкірно-подразнювальної дії.

Фізико-хімічні методи дослідження: високоефективна рідинна хроматографія.

Статистичні: за допомогою статистичних пакетів програм встановлення статистично значущих відмінностей показників між експериментальними групами.

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше на основі комплексних експериментальних досліджень і аналізу даних про порушення електричної активності серця та вегетативної регуляції серцевого ритму, активації оксидативного стресу, пригнічення енергетичного метаболізму і продукції АТФ, порушень нітродергічної системи отримані нові дані щодо ролі порушень експресії мРНК iNOS, мРНК eNOS та білків iNOS і eNOS у патогенезі розвитку ХСН. Новими є експериментальні дані про те, що вираженість порушень електричної активності серця і вегетативної регуляції серцевого ритму, оксидативний стрес і енергетичний дефіцит пов'язані з дисфункцією NO-системи міокарда.

Вперше визначені нові ланки-мішені для терапії ХСН — система NO, та показано перспективність її позитивної фармакологічної модуляції.

Вперше експериментально обґрунтовано та клінічно підтверджено застосування нового оригінального β-блокатора з NO-міметичним ефектом — броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію (Гіпертрилу) у лікуванні ХСН.

Вперше визначено механізм захисної дії Гіпертрилу при експериментальній ХСН, зокрема в активації та нормалізації експресії eNOS/iNOS, підвищенні

продукції NO, що призводить до покращення ЕКГ, зменшення оксидативного стресу та поліпшення енергетичного метаболізму.

Вперше показано, що курсове введення щурам із експериментальною ХСН внутрішньошлунково Гіпертрилу (3,5 мг/кг) спричиняє негативний хронотропний ефект, що зумовлює зниження ЧСС ($p < 0,001$), інверсію сегмента ST нижче ізолінії до рівня контрольної групи ($p > 0,05$). Введення Гіпертрилу нормалізує тривалість фази деполяризації передсердь (зубець P) та шлуночків (комплекс QRS) до контролю ($p > 0,05$), підвищує спектральну потужність серцевого ритму TPW ($p < 0,001$) та знижує стрес-індекс SI ($p < 0,001$) порівняно з нелікованими тваринами.

Вперше показано, що Гіпертрил зменшує прояви вторинної мітохондріальної дисфункції при ХСН — зменшує відкриття мітохондріальної пори ($p < 0,05$), підвищує заряд внутрішньої мембрани мітохондрій міокарда ($p < 0,05$), збільшує продукцію АТФ і АДФ ($p < 0,05$) на фоні нормалізації реакцій циклу трикарбонових кислот, активації компенсаторного малат-аспартатного челночного механізму та обмеження анаеробного гліколізу в умовах експериментальної ХСН.

Вперше визначені NO-міметичні властивості Гіпертрилу в умовах експериментальної ХСН — підвищення експресії мРНК eNOS ($p < 0,05$) та білка eNOS ($p < 0,05$), нормалізація експресії мРНК iNOS ($p < 0,05$) і білка iNOS ($p < 0,05$), підвищення продукції NO ($p < 0,05$) та його біодоступності.

Вперше продемонстровано переваги Гіпертрилу над базовими β -блокаторами різних поколінь (метопрололом, карведилолом, бісопрололом, небівололом) при експериментальній ХСН.

Вперше розроблено сучасний метод стандартизації лікарської форми Гіпертрилу для лікування ХСН – таблеток, а також вперше вивчено її безпечність (гостра токсичність, кумуляція, подразнювальна та алергічна дія)

Практичне значення одержаних результатів.

Результати проведених досліджень дозволили розширити та поглибити наявні дані про патогенез ХСН, а також про метаболітотропну дію базових β -блокаторів різних поколінь.

Встановлено виражені NO-міметичні, антиоксидантні, мітопротективні, протішемічні та метаболітотропні ефекти у порівняльному аспекті з β -адреноблокаторами різних поколінь, що свідчить про перспективність і доцільність його подальшого застосування у лікуванні ХСН.

Удосконалено і апробовано методичний підхід до оцінки кардіопротекторної активності потенційних лікарських засобів.

Експериментально обґрунтовано доцільність розробки та створення лікарської форми Гіпертрилу у вигляді таблеток для лікування ХСН.

Результати дослідження інтегровані в науковий та навчальний процеси на наступних кафедрах: Медичної хімії Інституту фармакології і токсикології НАМН України; Фармакології, загальної та клінічної фармації Дніпровського Державного Медичного Університету; Фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пірогова; Фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету; Клінічної лабораторної діагностики та біологічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Особистий внесок здобувача.

Під керівництвом наукового керівника були сформульовані цілі та завдання дослідження, а також проведене планування роботи. Дисертант особисто здійснив патентно-інформаційний пошук за досліджуваною проблемою фармакології та кардіології, складено план і визначено коло наукових джерел для огляду літератури. Власноруч проведено всі експериментальні та клінічні розділи дослідження. За безпосередньої участі автора виконувались фармакологічні, електрофізіологічні, біохімічні та імунноферментні дослідження. Дисертант особисто здійснив статистичну обробку цифрових даних, підготував таблиці та рисунки, написав відповідні розділи роботи. Спільно з науковими керівниками проведено аналіз та узагальнення результатів експериментальних і клінічних досліджень, зроблено висновки та практичні рекомендації. Автор не запозичував ідей або результатів роботи інших співавторів у спільних публікаціях. Для перевірки граматики, пунктуації, стилю, виправлення складних орфографічних помилок, а також

оформлення тексту за ДСТУ використано комп'ютерну програму Perplexity (<https://www.perplexity.ai/hub/getting-started#copilot>).

Апробація результатів дисертації

1. Науково-практична конференція «ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ТА КЛІНІЧНІ АСПЕКТИ ФАРМАКОЛОГІЇ», 22 листопада 2022.- м. Запоріжжя.

2. 83 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СУЧАСНОЇ МЕДИЦИНИ ТА ФАРМАЦІЇ – 2023», 25-26 травня 2023 р., м. Запоріжжя

3. 84 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини та фармації - 2024», 23-24 травня 2024 року. м. Запоріжжя

4. 85 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СУЧАСНОЇ МЕДИЦИНИ ТА ФАРМАЦІЇ – 2025», 15-16 травня 2025 р., м. Запоріжжя

5. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 95-річчю професора Андрія Костянтиновича Коломійцева «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці – 2025», 29-30 травня 2025 року, м. Київ

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових праць: 3 статті, в наукових фахових журналах, котрі входять до міжнародної наукометричної бази Scopus 1-2 Q, 5 тез у матеріалах Всеукраїнських з'їздів і науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 235 сторінках друкованого тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, двох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаної літератури, який містить 490 джерела (з них 4 – кирилицею, 486 – латиною) та 3 додатків. Дисертація ілюстрована 25 таблицями та 15 рисунками.

РОЗДІЛ 1.

ПАТОХІМІЧНІ ЗМІНИ В МІОКАРДІ, ПОВ'ЯЗАНІ З NO ПРИ ХРОНІЧНІЙ СЕРЦЕВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ (ХСН), ТА МОЖЛИВОСТІ ЇХ ФАРМАКОКОРЕКЦІЇ ЗАСОБАМИ БАЗОВОЇ ТЕРАПІЇ Й НОВИМИ ЛІКАРСЬКИМИ ПРЕПАРАТАМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1.1 Молекулярно-біохімічні механізми формування міокардіодистрофії при ХСН — фокус на NO

Серцева недостатність на сьогодні є однією з провідних причин смертності в більшості країн світу. Вона розвивається у 0,5–2% дорослого населення, однак серед осіб віком понад 65 років її поширеність досягає 6–10% [29-31]. Попри значні досягнення в лікуванні серцево-судинних захворювань, поширеність хронічної серцевої недостатності (ХСН) не лише не зменшується, але й продовжує неухильно зростати. Щорічна захворюваність, за даними різних авторів, становить близько 300 осіб на 100 тис. населення. Залежно від тяжкості перебігу захворювання показники смертності при ХСН значно варіюють — від 15 до 50% [32-36]. Понад 40% пацієнтів із ознаками ХСН мають термінальний, III–IV функціональний клас (ФК) захворювання. У 2023 році декомпенсація ХСН стала причиною госпіталізації до стаціонарів із кардіологічними відділеннями майже кожного другого хворого (49%), а ХСН зазначалася в діагнозі у 92% госпіталізованих до таких закладів. Однорічна смертність пацієнтів із клінічно вираженою ХСН сягає 26–29% [37-39].

Основними причинами ХСН є інфаркт міокарда, гіпертонія, кардіоміопатія та клапанні захворювання серця [40-41].

Після інфаркту серце зазвичай адаптується за допомогою патофізіологічного процесу, відомого як «ремодельовання серця», який включає зміни у структурі та функції кардіоміоцитів, а також позаклітинного матриксу в неінфарктному міокарді. Ці зміни призводять до суттєвих змін форми й об'єму серця, прогресуючої дилатації шлуночків та порушення насосної функції [42-43]/

Аналіз механізму розладів при ХСН і досі залишається надзвичайно складним завданням. Вони виявилися значно ширшими, різноманітнішими та складнішими, ніж здавалося раніше [44-45].

Тому вивчення молекулярних механізмів ушкодження кардіоміоцитів при ХСН, а також потенційних фармакологічних мішеней і створення нових кардіопротекторів є найважливішим завданням сучасної медицини та фармації. У розвитку серцевої недостатності задіяно безліч механізмів. Найбільш важливою ланкою патогенезу ХСН є оксидативний стрес, про що свідчать ушкодження, спричинені активними формами кисню (АФК), такі як перекисне окиснення ліпідів, а також зниження рівня антиоксидантів і сульфгідрильних груп. Ураження міофібрил і порушення регуляції внутрішньоклітинного кальцію під дією АФК також є важливими механізмами, зазвичай пов'язаними з патогенезом ХСН [46-47].

Мішенню апоптозу внаслідок ХСН є не лише кардіоміоцити, але й ендотеліальні клітини, на що вказує активація каспази та міжнуклеосомна деградація ДНК [48-49]. У патогенезі ХСН також виявлені такі ланки, як зміни у пулі високоенергетичного фосфату та формування вторинної мітохондріальної дисфункції на тлі енергетичного дефіциту [50]. Усі ці молекулярні механізми молекулярно-біохімічних порушень тісно пов'язані зі змінами нітросидергічної системи міокарда [51-52].

1.1.2 Мітохондріальна дисфункція та порушення енергетичного метаболізму при ХСН

Мітохондрії є найбільш широко та прогресивно ушкоджуваними субклітинними органелами при патології серця, зокрема при ХСН [53].

При ХСН енергетичний обмін порушується, що характеризується зниженням продукції АТФ через зниження функції мітохондрій і переходом від ефективного окислення глюкози до менш ефективного окислення жирних кислот. У кардіоміоцитах спостерігається енергетичний дефіцит — значне зниження АТФ, необхідного для скоротливої роботи серця, що призводить до зменшення функції та

ефективності роботи серця. Ймовірно, що енергетичний дефіцит при ХСН пов'язаний із формуванням вторинної мітохондріальної дисфункції. Формування мітохондріальної дисфункції при ХСН викликає зміни у виборі субстратів та змінює транскрипційні й сигнальні шляхи, запускаючи апоптоз, запалення та продукцію АФК [54-58].

Ці порушення призводять до ультраструктурних патологічних змін, таких як набряк мітохондрій та утворення мієлінових фігур у мітохондріях [59-60].

На моделі ХСН, викликаній доксорубіцином у щурів, було виявлено, що окислення довголанцюгових жирних кислот у мітохондріях серця значно знижене, тоді як метаболізм глюкози підвищений, що вказує на загальний зсув від аеробного до анаеробного метаболічного стану [61].

Подібні зміни як гліколізу, так і мітохондріального окисного метаболізму при ХСН зумовлені як транскрипційними змінами ключових ферментів, що беруть участь у цих метаболічних шляхах, так і змінами окисно-відновного стану НАД/НАДН та сигнальною активністю метаболітів, які сприяють посттрансляційним епігенетичним змінам у контролі експресії генів, що кодують ферменти енергетичного метаболізму. Зміни у долі глюкози, крім потоку через гліколіз або окислення глюкози, також сприяють розвитку патології серцевої недостатності [62-63].

Описаний зсув метаболізму характерний для ХСН і може призвести до значного накопичення лактату та лактат-ацидозу. Один із передбачуваних механізмів розвитку лактат-ацидозу при серцевій недостатності полягає в тому, що, коли серцевий викид перестає забезпечувати достатню кількість кисню для метаболізуючих тканин, а здатність периферичних тканин збільшувати вилучення кисню з крові виснажується, розвивається тканинна гіпоксія, у результаті чого активується анаеробний гліколіз, і піруват перетворюється на лактат [64].

Лактат-ацидоз поділяється на дві категорії: тип А і тип В.

- Лактат-ацидоз типу А пов'язаний із недостатньою перфузією тканин та/або оксигенацією крові та може бути спричинений надмірною продукцією лактату або недостатнім його використанням.

- Лактат-ацидоз типу В не має доказів поганої перфузії тканин і/або оксигенації, а накопичення лактату в плазмі є наслідком порушеного кліренсу.

У пацієнтів із ХСН спостерігається змішаний лактат-ацидоз типів А і В [65-66].

При застійній ХСН за підвищеного рівня лактату та лактат-ацидозу часто спостерігаються гіперперфузія тканин і дисфункція органів, що погіршує прогноз [67-68].

Також відома роль NO та різних ізоформ NOS у формуванні мітохондріальної дисфункції при ХСН. Надмірна продукція NO на тлі підвищеної експресії iNOS та дефіциту тіольних антиоксидантів призводить до ушкодження мітохондріального електронно-транспортного ланцюга та може бути пов'язана з формуванням мітохондріальної дисфункції при ХСН [69-71].

NO і його токсичний метаболіт пероксинітрит (ONOO^-) можуть інгібувати мітохондріальний дихальний ланцюг, що призводить до енергетичної недостатності, дефіциту АТФ і, зрештою, до загибелі клітини. Існує різна чутливість типів клітин до впливу NO/ONOO-, на яку можуть впливати такі фактори, як антиоксидантний статус клітин і здатність підтримувати енергетичні потреби при вираженому ушкодженні дихального ланцюга. Хоча клітини, ймовірно, здатні відновлюватися після короточасного впливу NO/ONOO-, більш тривалий його вплив призводить до стійкого ушкодження дихального ланцюга, формування мітохондріальної дисфункції та загибелі клітин. NO/ONOO-мітохондріального походження відіграють значну роль в ініціюванні апоптозу при ХСН. Описано та показано наявність конститутивної форми NOS у мітохондріях [72-75].

Вивчено продукцію NO у мітохондріях при кальцієвому перевантаженні, що виникає внаслідок ішемії. В результаті досліджень структури, механізму експресії та функцій мітохондріальної NOS було встановлено, що ця ізоформа NOS локалізована у внутрішній мітохондріальній мембрані й за низкою властивостей дуже схожа на iNOS. При цьому iNOS може експресуватися як конститутивна, так і індукційна форма цього ензиму залежно від умов [76-77].

При ішемії міокарда мітохондріальна NOS на фоні дефіциту L-аргініну замість NO починає продукувати велику кількість супероксид-радикалів, які при антиоксидантній недостатності міокарда, перш за все за браком СОД, каталази та α -токоферолу, швидко перетворюються на більш агресивні АФК [78-79].

Показано, що при ХСН мітохондрії є важливим джерелом NO та його цитотоксичних форм. Мітохондріальна NOS значно активується у відповідь на розвиток гострої та хронічної ішемії міокарда, поглинання мітохондріями кальцію, підвищення рівня супероксид-радикалу, а також у відповідь на запалення та збільшення концентрацій IL-1 β і TNF- α . Продукція NO та супероксид-радикалу мітохондріями призводить до їх взаємодії та утворення більш агресивної форми – пероксинітриту (ONOO^-), який, у свою чергу, запускає механізми відкриття гігантської мітохондріальної пори мітохондрій [80-82].

Пероксинітрит (ONOO^-) також нітрозилує цитохром С у мітохондріях, що призводить до зміни його функцій, зокрема він стає нездатним підтримувати перенесення електронів у дихальному ланцюзі [83-84].

Пероксинітрит (ONOO^-) за рахунок нітрозилування активних ділянок білків мембран мітохондрій негативно впливає на кальцієвий гомеостаз кардіоміоцитів при ХСН та ішемії міокарда [85-86].

Відомо, що мітохондрії відіграють ключову роль у регуляції внутрішньоклітинного кальцію, що необхідно для спряження збудження і скорочення кардіоміоцитів. В умовах фізіологічної норми кальцій надходить у мітохондрії через мітохондріальний уніпортер кальцію (MCU) і виводиться через натрій-кальцієвий обмінник (NCLX) [87-88].

Правильне регулювання кальцію життєво важливе для підтримання функції мітохондрій та клітинного гомеостазу [89].

Встановлено, що пероксинітрит (ONOO^-) порушує активність MCU та NCLX при ішемії міокарда, ХСН, доксорубіциновій кардіотоксичності та артеріальній гіпертензії [90-92].

Порушення регуляції обміну кальцію при цих захворюваннях серцево-судинної системи призводить до перевантаження мітохондрій кальцієм, що

запускає апоптоз та аритмії. Наприклад, при серцевій недостатності порушення засвоєння та виведення кальцію погіршує дисфункцію мітохондрій і прогресування захворювання. Крім того, перевантаження кальцієм також сприяє відкриттю гігантського мітохондріального каналу, що призводить до загибелі клітин при ішемічно-реперфузійному ураженні та ХСН [93-96].

Основна функція мітохондрій — виробництво енергії — тісно пов'язана зі збереженням їх ультраструктури. У здорових клітинах мітохондрії утворюють динамічну мережу з добре вираженими кристами — складками внутрішньої мембрани, у яких розташовуються комплекси транспортного ланцюга електронів. До цих комплексів входять трансмембранні білки та білки-переносники, які беруть участь у перенесенні електронів для виробництва АТФ у клітинах. Це комплекс I (НАДН-дегідрогеназний комплекс), комплекс III (цитохром bc₁-комплекс), комплекс IV (цитохром-с-оксидаза) та комплекс V (АТФ-синтаза) [97-98].

При ХСН у міокарді спостерігається зниження щільності непошкоджених мітохондрій і підвищення щільності мітохондрій із ознаками значних ультраструктурних порушень — збільшення розмірів, фрагментована зовнішня мембрана, руйнування крист і електронно-прозорий матрикс, дефіцит кардіоліпіну у внутрішній мембрані та ремоделювання крист [99-100].

Дисфункція мітохондрій відіграє центральну роль у патогенезі різних серцево-судинних захворювань, включаючи серцеву недостатність, ішемічну хворобу серця, гіпертонію та атеросклероз [101].

За думкою дослідників, мітохондріальна дисфункція є типовим патологічним процесом, що не має етіологічної та нозологічної специфічності. Формування вторинної мітохондріальної дисфункції при серцево-судинній патології призводить, передусім, до значного енергетичного дефіциту за рахунок падіння продукції АТФ, порушення енергозалежних реакцій — синтезу білка, вторинного активного транспорту (симпорту та антипорту), переносу та синтезу медіаторів. Порушення синтезу АТФ у пошкоджених мітохондріях, як правило, супроводжується активацією «паразитарних» реакцій енергетичного метаболізму — коли замість

АТФ мітохондріальний енергопродукуючий комплекс виробляє величезну кількість АФК [102-105].

Формування мітохондріальної дисфункції призводить до пригнічення експресії багатьох ферментів (сукцинатдегідрогенази, малатдегідрогенази, супероксиддисмутази) та захисних білків — HSP70, HIF-1 α [106-107].

Стійка мітохондріальна дисфункція ініціює механізми позаклітинного та внутрішньоклітинного апоптозу. Це відбувається при незворотному відкритті гігантського мітохондріального каналу та виході в цитозоль великого об'єму проапоптичних факторів. Відкриття гігантського мітохондріального каналу відбувається під дією NO та його реакційних похідних — пероксинітриту та іона нітронію, які нітрозилують і потім окислюють SH-групи Cys-ділянки білка-антипортера внутрішньої мембрани мітохондрій, що призводить до підвищення полярності та проникності для іонів і білків [108-111].

За низкою досліджень встановлено, що відкриття гігантського мітохондріального каналу призводить до неконтрольованого виробництва АФК мітохондріальними комплексами [112-114].

На процес відкриття мітохондріальної пори при ішемії міокарда, ХСН та артеріальній гіпертензії впливають такі фактори, як зниження рО₂, кальцієві перевантаження, викид катехоламінів та окислювальна модифікація ділянок білка пори [115-116].

При ХСН на тлі запальних процесів що розвиваються, відкриття мітохондріальної пори пов'язане з підвищенням рівня прозапальних цитокінів — TNF- α та IL-1 β [117].

Дисфункція мітохондрії тісно пов'язана з прозапальними цитокінами — TNF- α та IL-1 β , формуючи складний, часто циклічний зв'язок. Ці цитокіни порушують мітохондріальне дихання, знижують продукцію АТФ та сприяють фрагментації мітохондрій і мітофтозу. У свою чергу, це ушкодження мітохондрій може призвести до вивільнення молекулярних патернів, асоційованих із ушкодженням мітохондрій (DAMP), що стимулює подальше виробництво прозапальних цитокінів. Тобто запалення сприяє мітохондріальній дисфункції, а дисфункціональна мітохондрія

бере участь у патогенезі запалення через кілька механізмів, які можуть встановлювати порочне коло рецидивуючого запалення за рахунок експресії TNF- α та IL-1 β [118-120].

Також IL-1 β може підвищувати експресію iNOS у мітохондріях, що призводить до посилення продукції мітохондріального NO та активних форм азоту. Як АФК, так і активні форми азоту знижують функціонування дихального ланцюга та синтез АТФ, викликають ушкодження мітохондріальної ДНК (мтДНК) і, зрештою, призводять до пошкодження та загибелі клітин [121-122].

1.1.3 Порушення доставки субстратів окиснення в міокарді при ХСН

З позиції енергетичних субстратних уподобань у клітинах серцево-судинної системи вона складається з різних типів клітин: кардіоміоцитів, ендотеліальних клітин, макрофагів та судинних гладком'язових клітин (VSMC). Кожен із цих типів має різні енергетичні потреби та субстратні переваги, які змінюються при серцево-судинних захворюваннях [123-124].

У здорових кардіоміоцитах домінує окиснення вищих жирних кислот (ВЖК), що забезпечує до 70% АТФ у циклі Кребса, тоді як окиснення глюкози виступає вторинним джерелом енергії. Таке субстратне уподобання відображає високу потребу серця в енергії та значну щільність мітохондрій [125-126].

Ендотеліальні клітини, навпаки, в першу чергу залежать від гліколізу – понад 80% АТФ синтезується у процесах анаеробних реакцій, зокрема гліколізу, навіть за умов фізіологічного рівня pO_2 [127-128].

При серцевій недостатності кардіоміоцити демонструють метаболічну негнучкість, що проявляється у зниженні використання ВЖК та підвищенні рівня гліколізу. Це призводить до зменшення виходу АТФ та підвищення рівня АФК унаслідок дискоординації в циклі Кребса та активації гліколізу [129].

Мітохондрії ендотеліальних клітин при ХСН починають споживати підвищені об'єми ВЖК, що посилює продукцію АФК, знижує синтез NO за рахунок зниження експресії eNOS та поглиблює дисфункцію мітохондрій [130-131].

У нормі NO впливає на транспорт та утилізацію ВЖК у міокарді, впливаючи на їх транспорт через сарколему за допомогою FAT/CD36, що позначається як на поглинанні ВЖК, так і на подальшому мітохондріальному β -окисненні. При ішемії міокарда та ХСН дискоординація в системі NO — зниження його біодоступності та поява високих концентрацій активних форм NO — може призвести до надмірного накопичення ВЖК і розвитку ліпотоксичності для міокарда [132].

У крові пацієнтів із ХСН як зі збереженою, так і зі зниженою фракцією викиду, а також у разі використання експериментальних моделей ХСН спостерігається підвищення концентрації кетонів тіл. Кетонів тіла розглядаються як еволюційно законсервоване паливо для клітинного метаболізму міокарда, призначене для забезпечення енергетичних потреб у періоди ішемії та субстратного дефіциту, а їх підвищення вважається адаптивним механізмом. Водночас нині порушується питання щодо адаптивності кетогенезу при ХСН [133].

Кетогенез розпочинається з перетворення ВЖК у ацетил-коензим А (КоА) шляхом мітохондріального β -окиснення. Ацетил-КоА конденсується з ацетоацетил-КоА за участю 3-метилглутарил-КоА-синтази 2 (HMGCS2) з утворенням 3-гідрокси-3-метилглутарил-КоА (HMGCoA), який далі під дією HMGCoA-ліази трансформується в ацетоацетат (AcAc). Надалі AcAc за участю β -гідроксибутиратдегідрогенази-1 (BDH1) може перетворюватися у β -гідроксибутират, а також у ацетоацетил-КоА за допомогою сукцинил-КоА:3-кетокислота-КоА-трансферази / 3-оксокислота-КоА-трансферази 1 (SCOT/OXCT1). Нарешті, мітохондріальна ацетоацетил-КоА-тиолаза перетворює ацетоацетил-КоА у дві молекули ацетил-КоА, які входять у цикл трикарбонівих кислот для продукції АТФ. Окислення кетонів тіл не впливає на швидкість окислення ВЖК, але забезпечує додаткове джерело субстрату для продукції енергії, хоча їх ефективність нижча за ефективність глюкози [134-135].

Збільшення окислення кетонів тіл супроводжується паралельним підвищенням експресії кетолітичних ферментів BDH1 і SCOT у серці, тоді як їх недостатня експресія, особливо SCOT, може бути пов'язана з підвищенням тяжкості перебігу ХСН [136-137].

NO регулює експресію SCOT шляхом модифікації залишків тирозину ферменту, зокрема Tyr4 та Tyr76, через механізм нітрозилування [138].

Це відбувається за рахунок підвищеної продукції iNOS при ХСН. Дефіцит NO призводить до зниження експресії SCOT та значного погіршення енергетичних можливостей міокарда при ХСН [139].

Порушення доставки субстратів окиснення, енергетичне виснаження, оксидативний стрес і апоптоз кардіоміоцитів при ХСН відбуваються переважно внаслідок мітохондріальної дисфункції [140].

Висока потреба серця в енергії залежить від мітохондрій, які забезпечують утворення АТФ шляхом окисного фосфорилування. При серцевій недостатності порушення продукції АТФ призводить до енергетичного голодування та дефіциту скоротливості, що додатково ускладнюється зниженням біогенезу мітохондрій і пригніченням регуляції окиснення ВЖК [141].

1.1.4 Порушення нітроксидергічної системи при ХСН

NO є необхідним для нормальної фізіології серця в регуляції серцевої функції, включаючи коронарну вазодилатацію, інгібування адгезії та активації тромбоцитів і нейтрофілів, а також модуляцію скоротливої функції серця. NO також відіграє захисну роль проти ішемії та/або серцевої недостатності. Ця захисна дія реалізується через кілька механізмів, зокрема стимуляцію розчинної гуанілатциклази, що призводить до зниження концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} та інгібування оксидативного стресу [142-145].

При ХСН певну роль відіграє iNOS, оскільки лактат-ацидоз може активувати її експресію в ендотеліальних клітинах та судинних гладеньком'язових клітинах, що призводить до гіперпродукції NO. Надлишок NO зумовлює вазодилатацію, яка ще більше поглиблює патологічний стан, знижуючи судинний тонус і артеріальний тиск, що може порушувати скоротливу здатність серця та підвищувати ризик аритмій і гіпотензії [146-147].

Експресія eNOS знижується при хронічній серцевій недостатності, що веде до зменшення продукції NO та сприяє розвитку ендотеліальної дисфункції, порушенню провідної системи серця та його скоротливості. Зниження експресії eNOS зумовлює ослаблення вазодилатації, посилення оксидативного стресу та запалення, що погіршує судинну функцію та сприяє прогресуванню серцевої недостатності. У мікроциркуляторному руслі міокарда в пацієнтів із серцевою недостатністю відзначається зниження експресії eNOS та зменшення базального вивільнення NO [148-149].

Ацетилхолін-індукована дилатація була ослабленою у пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю, а продукція NO, індукована ацетилхоліном в ізольованих коронарних мікросудинах, отриманих із серця людини з серцевою недостатністю, була нижчою порівняно з контрольними судинами [150-151].

Зниження ендотеліально-залежної вазодилататорної реакції на ацетилхолін може бути зумовлене зниженням експресії eNOS при ХСН [152].

Дисфункція лівого шлуночка призводить до зниження ударного об'єму, що, у свою чергу, зменшує напруження зсуву. Іншим можливим механізмом порушення ендотеліально-опосередкованої вазодилатації при ХСН може бути підвищення рівня прозапального цитокіну TNF- α , який пригнічує експресію мРНК eNOS [153-155].

Існують дані, що порушення нітродоксидергічної системи та пов'язана з нею дисфункція ендотелію при ХСН зумовлені посиленням оксидативного стресу. У аортальних кільцях експериментальних тварин з ХСН спостерігалася дисфункція ендотелію, викликана підвищеною генерацією супероксид-радикалів, які швидко інактивують NO [156-157].

Крім того, у гомогенатах міоцитів пацієнтів із ХСН відзначалося підвищене базальне утворення пероксинітриту — продукту взаємодії супероксид-радикала та NO. Також встановлено зниження біодоступності NO при хронічній серцевій недостатності, викликаній інфарктом міокарда, через його швидку інактивацію супероксид-радикалом на фоні низької концентрації низькомолекулярних тіольних антиоксидантів [158-159].

1.1.5 АФК та енергетичний обмін у міокарді

Існують дані про вплив АФК на PGC1 α та PGC1 β — білки-коактиватори транскрипції, які відіграють ключову роль у регуляції енергетичного обміну, функції мітохондрій та мітохондріального біогенезу у нормі та при серцево-судинній патології. PGC1 α та PGC1 β є частково взаємозамінними, проте обидва необхідні для нормального розвитку та функціонування організму, зокрема серцево-судинної системи та скелетних м'язів. PGC1 α сприяє адаптивним змінам у патернах фізичної активності через фактор енхансера міоцитів 2 та HIF-1 α за умов гіпоксії [160-161].

Експресія PGC1 α та PGC1 β , а також їх промоторна активність, підвищуються під впливом АФК і призводять до змін у експресії генів мітохондріального транспорту електронів, а також мітохондріальних і цитозольних систем енергопродукції. Різні концентрації АФК по-різному впливають на експресію PGC1 α та PGC1 β : концентрації, що трохи перевищують фізіологічні, підвищують їхню експресію і сприяють посиленню біогенезу мітохондрій при гіпертрофії серця, тоді як високі концентрації АФК пригнічують експресію цих факторів і сприяють посиленню енергетичного дефіциту та дисфункції мітохондрій [162-164].

Також різні концентрації АФК, що генеруються НАДФН-оксидазою-4 кардіоміоцитів, можуть модулювати ангіогенез міокарда за умов стресу, викликаного навантаженням тиском [165].

1.1.6 АФК та серцева недостатність

Надмірна продукція АФК є ще однією визначальною особливістю мітохондріальної дисфункції при серцевій недостатності, що призводить до оксидативного ушкодження клітинних компонентів. Підвищений рівень АФК порушує обробку кальцію та спряження збудження і скорочення, сприяючи аритміям і зниженню скоротливості [166-168].

Тваринні моделі серцевої недостатності показали підвищений рівень АФК, що сприяє оксидативному ушкодженню та дисфункції серця. Водночас антиоксидантний захист, такий як супероксиддисмутаза (СОД) і глутатіонпероксидаза (ГПР), часто виявляється перевантаженим, що призводить до стійкого оксидативного стресу. Наприклад, знижена активність СОД при серцевій недостатності людини була пов'язана з підвищеним оксидативним ушкодженням [169-170].

Надмірна продукція АФК ушкодженими мітохондріями при ХСН пригнічує антиоксидантний захист, спричиняючи оксидативне ушкодження. Було показано, що високі рівні стабільних продуктів оксидативного стресу позитивно корелюють із погіршенням кардіогемодинамічних показників при ХСН. Сигнальна активність, індукована АФК, бере участь у ремоделюванні серця, контролюючи координацію збільшення об'єму кардіоміоцитів, біогенез мітохондрій та щільність капілярів при ХСН. При ХСН АФК також регулюють сигнальні шляхи апоптозу [171-172].

На сьогодні відомі наступні АФК: супероксид-радикал (O_2^-), гідроксильний радикал (OH^-), пероксид водню (H_2O_2), синглетний кисень (O^*_2), озон (O_3), гіпохлорит-аніон (OCl^-), пероксильні радикали (ROO_2), алкоксильні радикали (RO_2). Також відомі активні форми оксиду азоту, що утворюються з NO і включають пероксинітрил ($ONOO^-$), катіон нітрозонію (NO^+), аніон нітрокису (NO^-) і S-нітрозотіоли. Активні форми NO виникають у результаті оксидативної модифікації під дією АФК при недостатності антиоксидантної системи. Активні форми NO відіграють важливу роль у патогенезі ХСН та інших захворювань серцево-судинної системи [173-175].

Утворення одних форм АФК та активних форм NO біохімічно пов'язане з генерацією інших активних форм і вільних радикалів. Гідроксильний радикал є потужним окисником, активним у реакціях акцепції, донорства та переносу електронів. Він бере участь в окислювальній модифікації білків, нуклеїнових кислот та простагландинів. Перекис водню виступає як прооксидант, має високу дифузійну здатність, активує транскрипційні фактори NF-Кара В та АРО-1, регулює синтез ЦОГ-2 і iNOS. Синглетний кисень та озон є потужними

окисниками, проте їхня роль у патогенезі серцево-судинних захворювань до кінця не з'ясована [176-178].

Пероксильний радикал характеризується меншою окислювальною активністю порівняно з гідроксильним радикалом, проте має вищу дифузійну здатність. Встановлено його роль у канцерогенезі та ремоделюванні міокарда. Алкоксильний радикал активний при взаємодії з ліпідами, призводить до їх окислювальної модифікації та бере участь у формуванні цито- та кардіотоксичних транс-ноненалей, малонового діальдегіду (МДА) та інших продуктів ліпопероксидації [179-180].

Гіпохлорит-аніон є потужним окисником. Він характеризується вищою дифузійною здатністю порівняно з ONOO^- , бере участь в окисненні сульфонових і дисульфонових груп білків та ДНК, а також у хлоруванні тирозину. Порушує численні сигнальні шляхи, ініціює апоптоз, десенситизацію рецепторів та транскрипційні процеси [181-182].

1.1.7 Шляхи утворення АФК при серцевій недостатності

На сьогодні достатньо чітко описані шляхи утворення АФК при різних патологічних станах, що призводять до активації оксидативного та нітрозативного стресу. Ці реакції характеризуються як процеси нерегульованого утворення АФК. Активація продукції АФК при серцево-судинних захворюваннях може бути зумовлена такими причинами: дискоординацією електротранспортних ланцюгів мітохондрій на фоні підвищеної експресії НАД(Ф)Н-оксидази; зниженням $p\text{O}_2$ у міокарді; накопиченням відновлених форм піридиннуклеотидів; накопиченням катехоламінів, їхніх прекурсорів та продуктів метаболізму; активацією метаболізму аденілових нуклеотидів та підвищенням експресії ксантиоксидази; дисбалансом мікроелементів у міокарді (Fe, Cu, Zn, Mn та ін.); посиленням метаболізму арахідонової кислоти; зниженням експресії антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази) та дефіцитом ендогенних антиоксидантів (α -токоферол, глутатіон, цистеїн та ін.) [183-185].

У дихальному ланцюзі мітохондрій АФК утворюються в невеликих кількостях у фізіологічних умовах внаслідок «витоку» незначної кількості електронів, що транспортуються по ланцюгу. Супероксид-радикал бере участь у процесі поєднання дихання з окисним фосфорилуванням і лежить в основі окисних процесів у мітохондріях. Швидкість утворення супероксид-радикала в мітохондріях прямо залежить від ступеня зв'язаності дихального ланцюга та різко зростає при його блокаді [186].

Внаслідок дефектів у електронно-транспортному ланцюзі мітохондрій кардіоміоцитів при ішемії значно посилюється продукція супероксид-радикала через одноелектронне відновлення молекулярного кисню, коли електрони «витікають» із ділянок високого електронного тиску в електронно-транспортному ланцюзі [187].

Значне підвищення активності та експресії НАДФН-оксидази-4 у мітохондріях міокарда відзначено як у пацієнтів із ХСН, так і в експериментальних тварин із різними моделями ХСН. Повідомляється, що НАДФН-оксидаза-4, локалізована в мітохондріях кардіоміоцитів, опосередковує мітохондріальну дисфункцію та зниження вмісту мтДНК у серці під час патологічної гіпертрофії, викликаній перевантаженням тиском, та при ХСН, за рахунок індукції оксидативного ушкодження мітохондріальних дихальних комплексів і мтДНК [188-189].

На сьогодні відомо, що НАДФН-оксидаза-4, локалізована перинуклеарно в ендоплазматичному ретикулумі кардіоміоцитів, захищає їх від перевантаження тиском, збільшує ангіогенез міокарда і підсилює енергетичну відповідь мітохондрій [190].

Ці дані свідчать про те, що АФК, які утворюються всередині кардіоміоцитів, є важливими компонентами адаптивного та скоординованого сигнального шляху при стресі перевантаження серця. Водночас надмірна продукція АФК під час ішемії та артеріальної гіпертензії призводить до зниження біоенергетики мітохондрій, що перешкоджає адаптації серця до хронічного стресу та сприяє розвитку ХСН [191].

Отримані дані свідчать, що при серцевій недостатності існує позитивна кореляційна залежність між підвищеною концентрацією НАДН і збільшеною

продукцією АФК. Високий рівень НАДН може сприяти надмірній продукції АФК у мітохондріях, особливо в електронно-транспортному ланцюзі [192-193].

Отримано дані про те, що НАДФН-оксидаза-4, використовуючи переважно НАДН як донор електронів, не лише бере участь у мітохондріальній продукції АФК, але й безпосередньо регулює ферменти, що синтезують НАДН/ФАДН у циклі трикарбонових кислот, ініціюючи регуляторні механізми зворотного зв'язку, які контролюють активність циклу щодо вироблення супероксид-радикалу [194-195].

Сучасні погляди на патогенез ХСН вказують, що саме експресія НАДФН-оксидази-4, локалізованої в мітохондріях кардіоміоцитів у відповідь на зниження pO_2 , є основним джерелом продукції супероксид-радикала та відіграє ключову роль у ініціації та формуванні мітохондріальної дисфункції, апоптозу кардіоміоцитів, пригніченні транскрипції і, в кінцевому підсумку, дисфункції лівого шлуночка та розвитку ХСН [196-198].

Більше того, фіброз, відкладення колагену й активація металопротеїназ, які беруть участь у ремоделюванні міокарда при ХСН, залежать від кількості АФК, що продукуються НАД(Ф)Н-оксидазою-4. НАД(Ф)Н-оксидаза-4 бере участь у фенотипічній трансформації фібробластів у міофібробласти, що пов'язано з прогресуванням термінальної стадії серцевої недостатності [199].

АФК, що генеруються НАДФН-оксидазою, мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом та прозапальними цитокінами, активують міоген-активовані протеїнкази та транскрипційні фактори, які, у свою чергу, модулюють функції іонних каналів і в кінцевому підсумку посилюють нейрональну активність та симпатичний відтік при серцево-судинних захворюваннях, зокрема при ХСН, залежних від ангіотензину II [200].

Дослідження свідчать, що ксантинооксидаза є важливим джерелом АФК при серцево-судинних захворюваннях і, зокрема, при ХСН. АФК, що утворюються під дією ксантинооксидази під час перетворення ксантина в сечову кислоту при деградації аденілових нуклеотидів за умов ішемії, призводять до порушення ендотеліально-залежної вазодилататорної здатності судин, скоротливої функції серця та прогресування захворювання [201-203].

Підвищення експресії та активності ксантиноксидази також відзначено при ХСН. ХСН асоційована з гіперурикемією, підвищенням рівня циркулюючих маркерів запалення та активацією ксантиноксидази, що призводить до збільшення продукції АФК, маркерів оксидативного стресу та сечової кислоти, сприяючи порушенню нітрузо-редокс-балансу та погіршенню функції серця. Підвищена активність ксантиноксидази при ХСН пов'язана з активацією АФК, підвищенням рівня сечової кислоти та нітротирозину, дисфункцією ендотелію, запаленням та порушенням скоротливості серця [204].

Встановлено взаємозв'язок між рівнем сечової кислоти в сироватці крові пацієнтів із ХСН, як маркером підвищеної активності ксантиноксидази, та маркерами запалення і оксидативного стресу [205-206].

Крім того, хронічне лікування тварин із ХСН та включення алопуринолу до комплексної терапії ХСН достовірно знизило несприятливе ремоделювання лівого шлуночка та покращило показники ЕКГ [207-208].

АФК утворюються у циклооксигеназному шляху як побічний продукт на пероксидазній ділянці під час синтезу простагландинів. Циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2) перетворює арахідонову кислоту на простагландин PGG_2 , який піддається пероксидному окисненню до простагландину PGH_2 . У цьому двоетапному ферментативному процесі відбувається утворення АФК [209].

При ХСН експресія ЦОГ-2 індукується та підвищується в міокарді у відповідь на дію запальних цитокінів і гіпоксії, опосередкованої сигнальним шляхом NF- κ B. Підвищена активність ЦОГ-2 призводить до надмірної продукції простагландинів, які відіграють складну й багатогранну роль у розвитку ХСН, а також до утворення АФК. Існує припущення, що активація ЦОГ-2 при ХСН асоціюється з гіпертрофією лівого шлуночка та активацією апоптозу [210-212].

Також у утворенні АФК у міокарді беруть участь елементи d-підгрупи (залізо, мідь, цинк і марганець) через окисно-відновні реакції, зокрема через багатовалентні стани окиснення. Елементи d-підгрупи беруть участь у біологічних процесах, таких як електронно-транспортний ланцюг і ферментативний каталітичний процес, який генерує АФК, зокрема супероксидні радикали та пероксид водню [213-214].

Із усіх елементів d-підгрупи найбільш відома роль заліза у продукції активних форм кисню (АФК). Залізо відіграє центральну роль у реакціях Фентона та Габера-Вейсса — ключових хімічних реакціях, у яких утворюються найбільш цитотоксичні АФК — гідроксильні радикали. При цьому в реакції Фентона двовалентне залізо реагує з пероксидом водню з утворенням гідроксильних радикалів і тривалентного заліза, а в реакції Габера-Вейсса тривалентне залізо реагує з супероксид-радикалом з утворенням двовалентного заліза, створюючи таким чином цикл безперервного утворення активних форм кисню [215-216].

При ХСН спостерігається парадоксальна ситуація: на тлі дефіциту заліза відбувається активація реакції Фентона та підвищена продукція гідроксильних радикалів [217-221]

Метаболізм заліза при ХСН є складним, і механізми регуляції системного та клітинного метаболізму заліза при серцево-судинних захворюваннях залишаються повністю невивченими. Очевидно, що навіть концентрації заліза нижчі за фізіологічну норму за умов кислого рН, надлишку перекису водню та антиоксидантної недостатності ініціюють реакцію Фентона [222-223].

Також відомо, що Cu^{2+} ефективно індукує реакцію типу Фентона та утворення гідроксильного радикала [224].

Рівень міді в крові пацієнтів із ХСН був вищим за норму та достовірно впливав на час до досягнення комбінованої кінцевої точки: смерті або госпіталізації у пацієнтів із ХСН [225].

Іншими джерелами АФК у мітохондріях є ферменти моноаміноксидаза А та В, обидва локалізовані на зовнішній мітохондріальній мембрані. Вони каталізують окислювальне дезамінування нейротрансмітерів та біогенних амінів, що призводить до утворення супероксид-радикала, синглетного кисню та перекису водню [226-227].

У кардіоміоцитах локалізована моноаміноксидаза А (МАО-А), яка через продукцію активних форм кисню (АФК) призводить до накопичення аутофагосом і злиття мітохондрій, утворення кон'югата легкої ланки 3-фосфатидилетаноламіну білка, асоційованого з мікротрубочками, а також накопичення рецептора аутофагії

(р62) та убіквітинованого білка. Супероксид-радикал, синглетний кисень та перекис водню, що утворюються під дією МАО-А, здатні безпосередньо впливати на функцію мітохондрій та інгібувати сфінгозинкіназу, що призводить до накопичення церміду та, як наслідок, до апоптозу кардіоміоцитів [228-230].

Каскадний механізм, що запускається МАО-А через продукцію АФК, призводить до загибелі кардіоміоцитів та прогресування застійної ХСН [231-233].

1.1.8 Антиоксидантна система міокарда при ХСН

Антиоксидантна система міокарда відіграє важливу роль у підтримці окремих ланок енергетичного обміну, метаболізму катехоламінів, синтезу простагландинів, а також у регуляції фізіологічного рівня АФК, необхідних для функціонування сигнальних шляхів клітини. Зниження окремих ланок цієї системи та її в цілому призводить до неконтрольованого продукування АФК і розвитку оксидативного стресу [234-235].

Існують різні специфічні та неспецифічні антиоксидантні захисні системи для видалення та розщеплення АФК, вільних радикалів і продуктів пероксидації до нетоксичних молекул. В організмі антиоксидантна система поділяється на ферментативну – різні ізоформи супероксиддисмутази (СОД), каталаза, антиоксидантні ферменти глутатіонової системи – ізоформи глутатіонпероксидази (ГПР), глутатіонредуктаза (ГР), глутатіон-S-трансфераза (ГСТ) та неферментативну – α -токоферол, глутатіон, цистеїн, низькомолекулярні тіоли, карнозин, мелатонін [236-237].

СОД у міокарді – найважливіший антиоксидантний фермент, який захищає серце від ушкодження, зумовленого оксидативним стресом, особливо при ішемічно-реперфузійному ураженні після інфаркту міокарда. У людини СОД існує в різних формах, включаючи внутрішньоклітинні Mn-СОД та Cu/Zn-СОД, а також позаклітинну Fe-СОД, яка зв'язується з серцевою тканиною. СОД каталізує дисмутацію супероксид-радикала в перекис водню, яка є відносно менш токсичною молекулою і у фізіологічних умовах видаляється каталазою або ГПР. Однак перекис

водню та супероксид-радикал можуть генерувати високореакційноспроможні та цитотоксичні гідроксильні радикали. Mn-SOD, що локалізується в матриксі мітохондрій, регулює утворення АФК мітохондріальними енергетичними реакціями, проявляє мітопротективну дію та становить особливий інтерес як об'єкт для фармакологічного втручання у комплексі кардіопротекторних заходів. CuZn-SOD є цитозольним ферментом, що каталізує ту ж реакцію, і може захищати від оксидативного стресу регуляторні, рецепторні білки та іонні канали. Fe-SOD особливо важлива для захисту серця від оксидативного ушкодження і здатна сповільнювати фіброз та втрату функції [238-242].

Відзначено, що при ХСН у міокарді значно знижена активність мітохондріальної Mn-SOD, а також активність позаклітинної Fe-SOD, що сприяє неконтрольованій продукції АФК у різних метаболічних шляхах. Це зниження посилює оксидативний стрес, що призводить до подальшої дисфункції шлуночків, ремоделювання та погіршення прогнозу захворювання. Встановлено, що зниження експресії мРНК Fe-SOD та Fe-SOD корелює зі ступенем тяжкості ХСН. Експресія Fe-SOD є інформативним маркером як прогнозу ХСН, так і потенційної можливості ендогенної цитопротекції міокарда. Експресія Fe-SOD знижується при серцевій недостатності, і це було пов'язано з доказами зростання оксидативного стресу міокарда та ендотеліальної дисфункції. Активність SOD та її ізоферментів є корисними предикторами несприятливого перебігу у пацієнтів зі зниженою фракцією викиду при серцевій недостатності внаслідок дилатаційної кардіоміопатії. Загальна SOD, Mn-SOD та CuZn-SOD забезпечують помірне поліпшення стратифікації ризику при використанні у поєднанні з традиційними маркерами та підвищують точність оцінки прогнозу [243-245].

Каталаза відіграє важливу роль у захисті міокарда від оксидативного стресу шляхом розщеплення перекису водню, а її низький рівень також пов'язаний із підвищеним ризиком смертності при тяжкій серцевій недостатності. Дисбаланс активності SOD і каталази спричиняє накопичення перекису водню, який бере участь у реакції Фентона, що призводить до утворення токсичних гідроксильних радикалів. Висока концентрація H_2O_2 знижує дисмутаційну здатність таких

ферментів, як супероксиддисмутаза Cu/Zn-СОД і Fe-СОД, що призводить до накопичення супероксид-радикала, який інгібує активність каталази [246].

Зниження рівня каталази в коронарному синусі корелює з високим рівнем продуктів оксидативного стресу та однорічною смертністю у пацієнтів із тяжкою ХСН [247-249].

ГПР є ключовим антиоксидантним ферментом, який каталізує відновлення перекису водню, гідроперекисів ліпідів, а також гідроксильного радикала. ГПР має вищу спорідненість до H_2O_2 , ніж каталаза, і у значних кількостях локалізується в міокарді, особливо у цитозольному та мітохондріальному компартментах [250].

Серед усіх ізоформ ГПР селенофермент ГПР4, мономер 20–34 кДа, вважається унікальним антиоксидантним ферментом завдяки його здатності інгібувати перекисне окиснення мембранних ліпідів і, в кінцевому підсумку, знижувати рівні ліпідних радикалів [251].

Відомо, що низка факторів регулюють ГПР4 на транскрипційному, трансляційному та посттрансляційному рівнях. Було показано, що внутрішньоклітинне виснаження відновленого глутатіону, спричинене накопиченням АФК або виснаженням цистеїну, інгібує активність ГПР4 та посилює ферроптоз [252-253].

Показано, що ХСН супроводжується зниженням активності ГПР4 і активацією оксидативного стресу, внаслідок чого відбувається надмірна продукція вільних ліпідних радикалів, включаючи ліпідні альдегіди, здатні необоротно модифікувати критично важливі клітинні компоненти кардіоміоцитів. Такі самопоширювані вільні ліпідні радикали можуть порушувати різні метаболічні та сигнальні шляхи і викликати необоротні структурні та функціональні зміни в міокарді, що призводить до прогресування ХСН. ГПР4 продемонстрував високу прогностичну цінність щодо рецидиву фіброзу передсердь при ХСН і негативно корелює з трансформуючим фактором росту β , що вказує на можливу роль ферроптозу у розвитку фіброзу передсердь [254-256].

Ендогенний антиоксидант α -токоферол здатний захищати жирні кислоти та фосфоліпіди мембран, зв'язуючи пероксильні радикали та зупиняючи

вільнорадикальну ланцюгову реакцію. Недавнє дослідження показало, що низькі концентрації α -токоферолу прямо корелюють із високою смертністю та підвищеними показниками маркерів оксидативного стресу в крові пацієнтів із серцево-судинною патологією, зокрема ХСН [257-258]

Таким чином, зниження антиоксидантного захисту міокарда при ХСН є не лише причиною посилення продукції АФК та розвитку оксидативного стресу, але й сприяє ініціюванню ферроптозу, запалення та фіброзу.

1.1.9 Оксидативний стрес і ХСН

Оксидативний стрес, визначений як надмірна продукція АФК на тлі депривації антиоксидантного захисту та утворення цито- і кардіотоксичних продуктів окислювальної модифікації білків, ліпідів і нуклеїнових кислот, вважається важливою ланкою в патогенезі серцевої недостатності [259].

Оксидативний стрес відіграє важливу роль у патофізіології ремоделювання серця та серцевої недостатності. Він спричинює зміни у внутрішньоклітинних шляхах, Red/Oxi-сигналізації, викликає клітинну дисфункцію та пошкодження функціональної активності органу-мішені – серця, погіршує дезадаптивне ремоделювання і визначає прогресування ХСН [260].

Оксидативний стрес також спричинює запалення тканини міокарда при ХСН, сприяючи підвищенню ризику таких патологій, як ожиріння, цукровий діабет або апное сну [261-263].

Наприклад, оксидативний стрес, спричинений гіпертрофічними стимулами, призводить до окислення SH-залишків цистеїну в гістондеацетилазах класу II, основних негативних регуляторів гіпертрофії серця. Ця подія спричинює вихід окислених продуктів у цитозоль та порушення транскрипційних процесів за участю NF- κ B, ядерного фактора активованих T-клітин. Окислені тіоли негативно впливають на фактор II енхансера – невеликий ділянка ДНК, який, взаємодіючи з іншими факторами, стимулює транскрипцію з основних промоторів гена або групи

генів. Оксидативне пригнічення фактора енхансера в міоцитах призводить до гіпертрофії серця при ХСН [264].

Виявлено значну негативну кореляцію між малоновим діальдегідом та фракцією викиду лівого шлуночка при ХСН. Також відомо, що рівні пероксидів ліпідів та 8-ізопростанів, основних біохімічних маркерів оксидативного стресу, були підвищені в плазмі та перикардальній рідині пацієнтів із ХСН і також позитивно корелювали з тяжкістю захворювання [265-266].

Оксидативний стрес чинить прямий негативний вплив на клітинну структуру та функцію міокарда і може активувати інтегральні сигнальні молекули під час ремоделювання та недостатності міокарда. Продукти оксидативного стресу активують широкий спектр сигнальних кіназ гіпертрофії та факторів транскрипції [267].

Стабільні продукти оксидативного стресу та АФК стимулюють тирозинкіназу Src, ГТФ-зв'язуючий білок Ras, протеїнкіназу C, мітоген-активовані протеїнкінази (МАРК) та Jun-ядерну кіназу (JNK), індукують апоптоз — важливий фактор ремоделювання та дисфункції. Апоптоз індукується опосередкованим АФК та продуктами оксидативного стресу (альдегіди, кетони, перекисі ліпідів) ушкодженням ДНК і мітохондрій та активацією проапоптичних сигнальних кіназ [268].

АФК та продукти оксидативного стресу спричиняють розриви ниток ДНК, активуючи ядерний фермент полі(АДФ-рибоза)полімераза-1 (PARP-1). PARP-1 регулює експресію різних запальних медіаторів, які сприяють прогресуванню ремоделювання серця. АФК можуть активувати матриксні металопротеїнази (ММП), родину протеолітичних ферментів. ММП зазвичай секретуються у неактивній формі і активуються посттрансляційно АФК через цільові взаємодії з критичними залишками цистеїну у пропептидному автоінгібіторному домені. АФК також стимулюють фактори транскрипції — ядерний фактор-кВ та активаторний білок-1 — для підвищення експресії ММП. Було показано, що активність ММП збільшується при серцевій недостатності на фоні підвищених маркерів оксидативного стресу [269].

1.1.10 NO та апоптоз при ХСН

Апоптоз — це високо регульована форма контрольованої загибелі клітин, необхідна для нормального розвитку та гомеостазу тканин. Він характеризується специфічними морфологічними змінами, включно зі скороченням клітин, конденсацією хроматину та бліббінгом мембрани, за якими слідує утворення апоптичних тіл, що фагоцитуються сусідніми клітинами або макрофагами, запобігаючи запаленню. Апоптоз включає сигнальні шляхи, пов'язані з апоптозом, та мітохондріальний шлях. Апоптоз кардіоміоцитів вносить значний внесок у втрату серцевої тканини та функції, що призводить до ХСН. Різні фактори, включаючи оксидативний стрес, порушення системи NO, запалення та мітохондріальну дисфункцію, можуть запускати апоптоз кардіоміоцитів при ХСН. Кінцевим наслідком підвищеного апоптозу кардіоміоцитів є не лише зниження скоротливої здатності серця, а й сприяння несприятливому ремоделюванню, фіброзу та, врешті-решт, підвищення захворюваності та смертності, пов'язаних із термінальною стадією серцевої недостатності [270-273].

Мітохондріальний шлях апоптозу передусім опосередковується внутрішнім механізмом, який включає вивільнення проапоптичних факторів з мітохондрій. Ключовими учасниками цього шляху є білки родини Вах та NO, які регулюють проникність мітохондріальної мембрани. Коли клітини перебувають у стані стресу або пошкоджені, проапоптичні білки сприяють вивільненню цитохрому з мітохондрій у цитозоль. Це вивільнення активує каспази, зокрема каспазу-9, яка надалі активує ефекторні каспази, такі як каспаза-3, що призводить до руйнування клітини та її загибелі [274-277].

Крім того, АФК та активні форми азоту можуть додатково посилювати апоптичну сигналізацію та сприяти загибелі клітини [278].

Було виявлено, що депривація Cu/Zn-SOD призводить до збільшення АФК, зниження біодоступності NO та утворення значних кількостей ендогенного пероксинітриту (ONOO^-) [279-281].

Було показано, що модулятори NO можуть гальмувати апоптоз за рахунок впливу на експресію каспази-3 або підвищення експресії білка теплового шоку HSP70 [282-283].

NO у фізіологічних концентраціях, який продукується ендogenousними та фармакологічними механізмами, здатний переривати IL-1 β -залежні механізми апоптозу, тоді як гіперпродукція NO індукованими синтазами або фармакологічними донорами посилює апоптоз через утворення ONOO⁻ [284-288].

Заходи, спрямовані на збереження NO, зниження його перетворення під дією АФК в ONOO⁻, а також підвищення активності СОД і ферментів, що залежать від глутатіону, перешкоджають ініціюючим механізмам апоптозу. Окислювальний стрес, гіпоксія, ішемія, що призводять до зниження біодоступності NO, підвищують утворення пероксинітриду, іону нітрозонію та нітрозилування сигнальних білків, сприяють посиленню проведення проапоптотичних сигналів через Fas-рецептори. Крім того, активація нітрозативного стресу та поява в клітині цитотоксичних концентрацій NO призводить до зниження в мітохондріях антиапоптотичного білка bcl-2 і індукції c-fos. Високі концентрації NO можуть впливати на механізми SH-залежного відновлення Fe²⁺ та посилювати механізми ферроптозу. До посилення NO-залежних механізмів апоптозу також причетний H₂O₂, надлишок якого спостерігається при депривації експресії СОД, каталази та ГПР при ХСН [289-291].

Активність антиоксидантних ферментів у межах фізіологічної норми та фізіологічні концентрації α -токоферолу перешкоджають ініціюванню апоптозу, тоді як слабкі властивості цієї системи є фактором ризику для запуску апоптозу. Також аскорбінова кислота при змінах рН може посилювати прооксидантні властивості заліза та сприяти ферроптозу. Низькі концентрації каталази сприяють посиленню апоптозу, індукованого H₂O₂ [292-294].

Певну роль в ініціюванні NO-залежних механізмів апоптозу відіграють макрофаги, які експресують індукцибельну iNOS та мають конденсоване ядро і цитоплазму. Вивільнення NO активованими макрофагами призводить до їх функціонального пригнічення і, зрештою, до апоптозу. Ряд досліджень із

використанням S-нітрозотіолів показали роль реакцій транснаїтрозилування в механізмах апоптозу. Реакції транснаїтрозилування беруть участь у перенесенні активних форм NO на SH-групи низькомолекулярних тіолових сполук (глутатіон, цистеїн) і сигнальних білків, змінюючи або пригнічуючи їх функцію, що призводить до ініціювання апоптозу [295-301].

Можна припустити на основі експериментальних досліджень, що підвищення концентрації активних форм азоту, навіть при низькій продукції NO, призводить до інгібування окисного фосфорилування в мітохондріях за рахунок нітрозилування ферментів електронно-транспортного ланцюга та транслокаторних білків зовнішньої мембрани мітохондрій. Активні форми азоту здатні індукувати перекисне окислення фосфоліпідів та окислення тіолових груп, присутніх на білках мітохондріальної мембрани. Все це, зрештою, призводить до масованого вивільнення з мітохондрій проапоптичних факторів [302-306].

Вивільнення мітохондріальних проапоптичних білків, цитохрому C та активація каспаз при ХСН призводить до клітинної дисфункції, апоптозу та сприяє систолічній дисфункції. «Бачити надію в смерті» відноситься до концепції, згідно з якою, хоча апоптоз і сприяє розвитку серцевої недостатності, цей процес може бути перерваний у багатьох клітинах серця, утворюючи «зомбі-міоцити», які зберігають ядра, але страждають від пошкодження цитоплазми. Ці клітини, хоча і дисфункціональні, можуть мати потенціал до відновлення за рахунок цитоплазматичної реконструкції. Фармакологічний вплив, спрямований на гальмування апоптозу, може продемонструвати новий напрямок у терапії ХСН [307-308].

1.2 Сучасний погляд на медикаментозну терапію ХСН. Фокус на β -адреноблокатори

Стратегії профілактики та лікування ХСН зазнали змін протягом останніх двох десятиліть [309]. Стадії ХСН були переоцінені з визнанням стану пре-СН, який охоплює безсимптомних пацієнтів, у яких розвинулися структурні або

функціональні порушення серця, або у яких підвищений рівень натрійуретичних пептидів чи серцевого тропоніну в плазмі [310].

Терапія першої лінії у пацієнтів з ХСН зі зниженою фракцією викиду включає базову терапію інгібіторами ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) або блокаторами рецепторів ангіотензину, β -блокаторами, антагоністами мінералокортикоїдних рецепторів, інгібіторами натрій-глюкозного котранспортера 2 (SGLT2) та діуретиками. Терапія першої лінії у пацієнтів з ХСН з помірно зниженою фракцією викиду або з ХСН із збереженою фракцією викиду включає інгібітори SGLT2, β -блокатори та діуретики [311-312].

1.2.1 Інгібітори натрій-глюкозного котранспортера 2 (SGLT2)

Протягом останнього десятиліття інгібітори SGLT2 застосовуються у пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу (ЦД2) для контролю рівня глікемії. Відомо, що ЦД2 є важливим фактором розвитку та прогресування атеросклеротичних серцево-судинних захворювань та ХСН, а зниження гіперглікемії призводить до певного зменшення ризику розвитку серцево-судинних ускладнень [313-314].

Однак серед гіпоглікемічних засобів позитивний серцево-судинний прогноз продемонстрували лише інгібітори SGLT2 (емпагліфлозин, канагліфлозин, дапагліфлозин). У більш пізньому дослідженні лише для емплагліфлозину було показано зниження загальної та серцево-судинної смертності [315].

Тому в останні роки інгібітори SGLT2 стали новим класом препаратів, що довели свою ефективність у лікуванні ХСН [316-317].

Інгібітори SGLT2 можуть застосовуватися для лікування ХСН з будь-якою фракцією викиду та при супутніх захворюваннях, таких як цукровий діабет. Інгібітори SGLT2 знижують смертність від ХСН і кількість госпіталізацій, підвищують якість життя пацієнтів. Вони також чинять сприятливий вплив на ремоделювання серця та функцію нирок [318].

Дослідження механізмів дії інгібіторів SGLT2 показали, що їх кардіопротективний ефект не пов'язаний із гіпоглікемічним механізмом. Отримані

дані свідчать про позитивний вплив інгібіторів SGLT2 на гемодинаміку: зниження артеріального тиску, перед- та постнавантаження на серце, судинного опору, зменшення симпатичної активності та маси міокарда лівого шлуночка (ММЛШ). Зменшення ММЛШ може слугувати одним із механізмів покращення прогнозу у пацієнтів із ЦД2 та ХСН. Саме цей механізм, на думку низки дослідників, лежить в основі позитивного впливу інгібіторів SGLT2 на гемодинаміку [319-320].

Іншим механізмом кардіопротективної дії інгібіторів SGLT2 є їх здатність впливати на активність мембранних Na^+/H^+ -обмінників (NHE) ізоформи 1 та 3, підвищена експресія яких спостерігається при ХСН та ЦД2 [321].

Пригнічення активності ізоформи 1 NHE інгібіторами SGLT2 у тваринних моделях ХСН із збереженою фракцією викиду, незалежно від наявності цукрового діабету, знижувало апоптоз кардіоміоцитів [322].

Інгібітори SGLT2 знижують рівень глюкози та інсуліну, підвищують рівень глюкагону, збільшують синтез кетонного β -гідроксибутирату та його перетворення в ацетоацетат, підвищують використання кетонів та ВЖК як енергетичних субстратів, збільшуючи компенсаторне вироблення енергії, що, можливо, покращує систолічну функцію та ремоделювання міокарда [323].

Однак інгібітори SGLT2 активують малоефективний шлях утворення АТФ, а саме використання кетонів та ВЖК. При цьому внесок кетонів у загальне вироблення енергії в міокарді при ХСН залишається невідомим [324].

Більш ефективним для утворення АТФ є використання вуглеводів. Тому зміщення енергетичного метаболізму серця у бік використання вуглеводів та поєднання гліколізу з окисленням глюкози представляє потенційну стратегію підвищення ефективності міокарда при ішемії та гіпоксії. Враховуючи, що SGLT-2 не експресується в міокарді людини та відсутність даних щодо впливу інгібіторів SGLT-2 на утилізацію субстратів міокарда, функцію мітохондрій і систему переносу фосфору у людей з ХСН, вплив цих лікарських засобів на енергетичний метаболізм міокарда залишається під завісою таємничості [325].

Кардіопротективний ефект емпагліфлозину на моделі ХСН проявився також у зниженні експресії циклооксигенази-2 та інтерлейкіну-1 β незалежно від наявності ЦД2 [326].

Інгібітори SGLT2 можуть підвищувати продукцію NO, покращуючи функцію ендотелію за рахунок фосфорилування eNOS (активації) та зниження утворення АФК при ЦД у щурів. Інгібітори SGLT2 підвищують рівні NO, перешкоджаючи взаємодії NO із супероксид-радикалом. Проте даних щодо цього ефекту наразі дуже мало [327].

Інгібітори SGLT2, нарівні з інгібіторами АПФ та β -блокаторами, є науково обґрунтованою базовою терапією у пацієнтів із ХСН зі зниженою фракцією викиду. Недавній метааналіз (95 444 учасники із 75 досліджень) показав, що комбінація інгібіторів АПФ, β -блокаторів та інгібіторів SGLT2 була найбільш ефективною для зниження смертності від усіх причин та комбінованого показника серцево-судинної смерті або першої госпіталізації з приводу ХСН зі зниженою фракцією викиду. Водночас відсутні дані щодо ефективності інгібіторів SGLT2 стосовно серцево-судинних наслідків у пацієнтів із ХСН із збереженою фракцією викиду [328].

Однак питання про вплив інгібіторів SGLT2 на метаболізм міокарда при ХСН поки що не є остаточно з'ясованим і залишається відкритим для досліджень.

1.2.2 Діуретики

Діуретики широко застосовуються при ХСН, підвищуючи діурез, сприяючи виведенню надлишку рідини з організму, зменшуючи накопичення рідини (набряки) та полегшуючи такі симптоми, як задишка та набряки. У клінічній практиці при ХСН використовують петльові діуретики, такі як фуросемід, торасемід та буметанід, які ефективні для швидкого виведення рідини при помірній та тяжкій серцевій недостатності. Також застосовують тіазидні діуретики при легких випадках, калійзберігаючі діуретики та антагоністи альдостерону, що допомагають запобігти втраті електролітів. Хоча діуретики ефективно зменшують симптоми, вони не усувають основну причину ХСН [329-331].

Петльові діуретики є найбільш часто застосовуваними діуретиками завдяки їх швидкому початку дії та високій ефективності. Петльові діуретики оборотно інгібують $\text{Na}^+ / 2\text{Cl}^- / \text{K}^+$ котранспортер у товстому висхідному відділі петлі Генле, де відбувається реабсорбція третини профільтрованого натрію. Це призводить до зниження реабсорбції натрію та хлоридів і посилення діурезу. Петльові діуретики також стимулюють синтез простагландинів, які зумовлюють розширення ниркових судин та вен. Це пояснює деякі ефекти, пов'язані із серцево-судинною системою, зокрема зниження тиску заклинювання у легеневій артерії. Однак важливо розуміти, що діуретичний ефект петльових діуретиків може бути знижений при одночасному застосуванні нестероїдних протизапальних препаратів, імовірно, внаслідок пригнічення синтезу простагландинів у нирках. До петльових діуретиків належать фуросемід, буметанід, торасемід та етакринова кислота. Фуросемід (фрусемід) є найбільш часто використовуваною терапією першої лінії, яку зазвичай починають із дози 20–40 мг один раз на добу в амбулаторних умовах [332-333].

Тіазидні діуретики інгібують транспортер натрію та хлориду в дистальному відділі висхідної частини ниркових каналців і у початковій частині дистального каналця. Вони перешкоджають максимальному розведенню сечі, тим самим збільшуючи кліренс вільної води та виведення натрію і хлориду через епітелій ниркових каналців. Підвищене надходження натрію у збірні трубочки посилює обмін натрію з калієм і, як наслідок, призводить до виснаження запасів калію. Вони є менш ефективними у пацієнтів зі зниженою клубочковою фільтрацією, оскільки чинять діуретичну дію з люмінальної сторони нефрона. Хоча їх ефективність поступається петльовим діуретикам, тіазиди можуть діяти синергічно з ними при послідовному блокуванні сегментарних відділів нефрона. Тіазидні діуретики також знижують периферичний судинний опір через механізм, який на сьогодні недостатньо вивчений, що призводить до зниження артеріального тиску [334-336].

Калійзберігаючі діуретики, що застосовуються для лікування ХСН, – це антагоністи альдостеронових рецепторів спіронолактон та еплеренон. Вони діють на кортикальний відділ збірних трубочок, зокрема знижуючи абсорбцію натрію та води й підвищуючи екскрецію іонів водню та калію, а їх дія опосередковується

антагонізмом до мінералокортикоїдів. Лише 3% профільтрованого натрію реабсорбується у збірних трубочках, тому цей клас препаратів не має вираженого діуретичного ефекту. Проте їх часто застосовують у поєднанні з іншими, більш ефективними діуретиками для корекції або запобігання дефіциту калію. Вони також суттєво знижують негативний вплив альдостерону на серцево-судинну систему. Спіронолактон є неселективним антагоністом альдостеронових рецепторів, тому при його застосуванні відносно часто виникають побічні ефекти з боку ендокринної системи (такі як гінекомастія). Еплеренон має вищу селективність щодо мінералокортикоїдних рецепторів і характеризується меншою кількістю побічних ефектів [337-338].

Попри численні дискусії щодо можливих негативних ефектів діуретичної терапії, зумовлених зниженням внутрішньоартеріального об'єму та нейроендокринною гіперактивністю, чіткої причинно-наслідкової залежності між діуретичною терапією, її дозуванням та серцево-судинною смертністю не встановлено. Хоча існує три основні класи діуретиків (петльові діуретики, тіазидні діуретики з метолазоном та калійзберігаючі діуретики), саме петльові діуретики застосовуються найчастіше, оскільки вони мають найпотужніший натрійуретичний ефект. Водночас, попри слабкий діуретичний ефект, калійзберігаючі діуретики, як було доведено, значно покращують довгостроковий прогноз у пацієнтів із симптоматичною ХСН. Діуретики можуть негативно впливати на метаболізм міокарда, потенційно змінюючи рівні глюкози та ліпідів і посилюючи ремоделювання серця, а також чинити несприятливий вплив на систему NO. Хоча діуретики забезпечують істотне симптоматичне полегшення, можуть підвищувати толерантність до фізичного навантаження та знижувати смертність від серцевої недостатності, їх довгостроковий вплив на структуру міокарда, зокрема розвиток фіброзу, залишається неоднозначним і потребує додаткового вивчення [339].

1.2.3 Інгібітори АПФ

Інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) є основою терапії серцевої недостатності, особливо при серцевій недостатності зі зниженою фракцією викиду. Вони покращують функцію серця та виживаність за рахунок зниження рівня ангіотензину II, що призводить до вазодилатації (зниження постнавантаження) і зменшення продукції альдостерону (зниження затримки рідини і переднавантаження). Знижуючи цей тиск і навантаження на серце, інгібітори АПФ підвищують серцевий викид, зменшують постнавантаження на лівий шлуночок, полегшують такі симптоми, як втома та застійні явища, та сповільнюють прогресування серцевої дисфункції. Крім того, інгібітори АПФ підвищують доставку кисню до міокарда, оскільки перешкоджають розпаду брадикініну, і їх дія реалізується через ендотелій-релаксуючий фактор [340].

Більш вираженою судинорозширювальною дією володіють сполуки, що містять сульфгідрильну групу – каптоприл (капотен). У більшості хворих, які перенесли інфаркт міокарда, а також у пацієнтів із ХСН, тривале лікування каптоприлом призводило до зниження летальності [341].

Протиішемічною дією у більшій чи меншій мірі володіють усі інгібітори АПФ, як ті, що містять SH-групи – каптоприл (капотен, систоприл, тензіомін), так і ті, що їх не містять – еналаприл (ренітек, вазотек, енап, енам, едніт), цілазиприл (інгібейс), квінаприл (аккупро, аккуприл), периндоприл (престаріум, коверсіл), раміприл (тритаце, альта-це, делікс), спіраприл (репрес), трандолаприл (гоптен, одрік), фозиноприл (фозинорм, моекс). Слід також зупинитися на показниках до застосування препаратів інших груп із метою терапії хворих на ішемічну хворобу серця. Інгібітори АПФ покращують перебіг ХСН, знижуючи післянавантаження, переднавантаження та систолічне напруження стінки, що призводить до збільшення серцевого викиду без підвищення частоти серцевих скорочень [342].

Інгібітори АПФ відіграють важливу роль у сприянні виведенню солі, збільшуючи нирковий кровоток і знижуючи продукцію альдостерону та антидіуретичного гормону. Крім зниження постнавантаження, інгібітори АПФ

також зменшують гіпертрофію міоцитів серця. З 1980-х років кілька великих проспективних рандомізованих плацебо-контрольованих досліджень довели, що лікування інгібіторами АПФ знижує загальну смертність, особливо у пацієнтів із серцевою недостатністю зі зниженою фракцією викиду. Ці дослідження продемонстрували, що інгібітори АПФ знижують смертність навіть у безсимптомних пацієнтів із дисфункцією лівого шлуночка [343-345].

Інгібітори АПФ суттєво знизили серцево-судинну смертність, інфаркт міокарда та госпіталізації з приводу ХСН у пацієнтів з безсимптомною або симптоматичною систолічною дисфункцією лівого шлуночка. Крім того, тривале 12-річне дослідження SOLVD (Дослідження дисфункції лівого шлуночка: профілактика і лікування) продемонструвало значну користь із зниженням кумулятивної смертності від усіх причин у порівнянні з плацебо (50,9% проти 56,4%) [346].

Переваги у виживаності та значне зниження серцево-судинних захворювань, пов'язані з лікуванням інгібіторами АПФ, ймовірно, досягаються шляхом титрування дози інгібіторів АПФ до цільової дози, визначеної в клінічних дослідженнях. Хоча дослідження, в якому пацієнти з ХСН були рандомізовані у групи з низькою та високою дозою лізиноприлу, не виявило суттєвих відмінностей між групами за первинною кінцевою точкою — смертністю від усіх причин, задалегідь визначена вторинна комбінована кінцева точка — смертність від усіх причин і госпіталізація з ХСН - була знижена на 15% у пацієнтів, що отримували лізиноприл у високих дозах, порівняно з тими, що отримували низькі дози. Незважаючи на застосування інгібіторів АПФ, блокада ренін-ангіотензинової системи залишається неповною, з доказами постійної продукції ангіотензину II через не-АПФ-залежні шляхи. Безпека і потенційна користь антагоністів рецепторів ангіотензину (сартани) у пацієнтів із порушенням систолічної функції були оцінені в помірних і великих клінічних дослідженнях. У пацієнтів із порушенням систолічної функції лівого шлуночка і ХСН додаткове включення у базову терапію ХСН блокаторів рецепторів ангіотензину разом із інгібіторами АПФ

показало свою ефективність у порівнянні з групою, що отримувала лише базову терапію з інгібіторами АПФ [347-349].

Згідно з даними клінічних досліджень, кандесартан у поєднанні з інгібіторами АПФ як доповнення до стандартної терапії ХСН призводить до подальшого зниження серцево-судинної смертності у пацієнтів з ХСН. У такій ситуації необхідний ретельний моніторинг функції нирок та рівня калію у сироватці крові [350].

Результати дослідження свідчать про те, що валсартан є настільки ж ефективним, як каптоприл, у пацієнтів, які перенесли гострий інфаркт міокарда з ХСН та/або систолічною дисфункцією лівого шлуночка, і може застосовуватися як альтернативне лікування у пацієнтів з непереносимістю інгібіторів АПФ. У цьому дослідженні не було виявлено переваг у виживаності при застосуванні комбінації валсартану та каптоприлу порівняно з монотерапією каптоприлом [351].

Незважаючи на ці результати, інгібітори АПФ залишаються препаратами першого вибору у пацієнтів, які перенесли інфаркт міокарда, тоді як блокатори ангіотензинових рецепторів можуть застосовуватися у пацієнтів із вираженою непереносимістю. Хоча застосування інгібіторів АПФ може бути перспективним у пацієнтів з ХСН та збереженою систолічною функцією ЛШ, наразі відсутні дані великих клінічних досліджень, що підтверджують цю гіпотезу. Отримані дані свідчать про вплив інгібіторів АПФ на рівень NO — як безпосередньо, так і опосередковано, за рахунок запобігання продукції ангіотензину II (що знижує продукцію NO) та інгібування деградації брадикініну (що стимулює локальне вивільнення NO). Підвищення рівня NO у мікросудинах коронарних артерій та міокарді сприяє вазодилатації, зниженню споживання кисню серцем, а також модулюванню скоротливості та поліпшенню функції лівого шлуночка. Зниження продукції NO під впливом інгібіторів АПФ може погіршувати дисфункцію ендотелію. Усе це вимагає додаткових досліджень для вивчення даного ефекту у різних представників цієї групи [352-353].

Нові перспективи відкриваються при використанні інгібіторів АПФ. Фармакологічна модуляція рецепторів ангіотензину II може ініціювати сигнальні

шляхи стимуляції регенерації пошкодженого ендотелію та запобігання судинному тромбозу при ХСН [354].

Також показано, що фармакологічна модуляція рецептора ангіотензину II відіграє промоторну роль у диференціації мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку в кератиноцити та посилює процеси репаративної регенерації [355].

Відомо, що інгібітори АПФ сприяють експресії АПФ2, який опосередковує проникнення SARS-CoV-2 у клітини, викликаючи COVID-19 [356].

Тому виникли побоювання щодо безпеки пацієнтів, які отримують лікування інгібіторами АПФ. Проте дослідження показали, що ангіотензин II є потужним активатором ферменту ADAM17, протеази, яка розщеплює АПФ2, і як тільки він зв'язується зі шипоподібним білком вірусу, він сприяє проникненню вірусу в клітину, тож інгібування продукції ангіотензину II таким чином знижує ймовірність зараження [357].

Крім того, у гіпоксичному стані ангіотензин II активується для відновлення вентиляційного тиску. Проте, із підвищенням рівня ангіотензину II збільшуються і його побічні ефекти. Враховуючи ці аргументи, прихильність до лікування інгібіторами АПФ була рекомендована пацієнтам із ХСН, інфікованим SARS-CoV-2 [358].

Поширені побічні ефекти інгібіторів АПФ при лікуванні ХСН включають сухий кашель, запаморочення та втому. Більш серйозні побічні ефекти можуть включати ангіоневротичний набряк (набряк обличчя, губ, язика або горла), небезпечно низький артеріальний тиск, небезпечно високий рівень калію (гіперкаліємію) та проблеми з нирками. Серед пацієнтів із ХСН або шлуночковою дисфункцією, включених у рандомізовані клінічні дослідження, лікування інгібітором АПФ протягом у середньому двох років призводить до збільшення числа відмов від лікування на 3% (додатково). У значній частині звітів із цих рандомізованих клінічних досліджень інформація про небажані явища, які призвели до відміни лікування, була недостатньою [359].

Наглядові дослідження та метааналізи показують, що інгібітори АПФ призводять до підвищеного ризику раку легень, особливо при тривалому застосуванні (понад 5–10 років). Механізм дії може бути пов'язаний із накопиченням брадикініну в легенях внаслідок застосування інгібіторів АПФ, що потенційно може стимулювати ріст пухлини. Ризики виникнення раку легень при призначенні інгібіторів АПФ особливо високі у пацієнтів азійської раси, у яких найчастіше (80–90 %) з'являється «фірмовий» побічний ефект цієї групи ЛЗ – сухий кашель [360].

Інші результати демонструють взаємозв'язок між інгібуванням АПФ та розвитком раку легень (особливо аденокарциноми легень), а також значущий зв'язок між кашлем, викликаним інгібіторами АПФ, та підвищеним ризиком раку легень у деяких груп європейців. Пацієнтам із гіпертензією, у яких спостерігається сухий кашель як побічний ефект прийому інгібіторів АПФ, слід розглянути можливість переходу на альтернативну антигіпертензивну терапію [361].

1.2.4 β -адреноблокатори

В останнє десятиріччя хронічна серцева недостатність (ХСН) стала прямим показанням до застосування β -адреноблокаторів, хоча раніше вважалася протипоказанням. Добре відомо, що активізація симпатoadреналової системи лежить в основі серцево-судинного континууму при ХСН і разом з ренін-ангіотензиною системою відіграє ключову роль на всіх його етапах, від факторів ризику до розвитку ХСН. З цієї точки зору призначення β -адреноблокаторів виглядає цілком закономірно. Сучасна доктрина їх застосування при ХСН базується на тридцятирічному досвіді експериментальних і клінічних досліджень, зокрема багатьма центровими дослідженнями, що підтвердили їхню ефективність. Вже наприкінці 1990-х років β -адреноблокатори стали основними засобами терапії ХСН. Вони, поряд з інгібіторами АПФ, входять до препаратів першої лінії, адже здатні покращувати виживаність та знижувати кількість госпіталізацій у хворих, ефективно підвищувати фракцію викиду (ФВ), зменшувати масу та сферичність

лівого шлуночка. β -Блокатори найбільше впливають на зниження ЧСС, скоротливості міокарда та потреби кардіоміоцитів в кисні, що забезпечує їм кардіопротекторні властивості [362-364].

Наразі, залежно від фармакологічної дії, виділяють три покоління бета-блокаторів. β -Блокатори першого покоління — неселективні, блокують β_1 - та β_2 -рецептори (пропранолол (анаприлін), надолол, тимолол), проявляють серйозні побічні ефекти, що суттєво обмежує їх використання в клінічній практиці. β -Блокатори другого покоління — кардіоселективні, оскільки блокують лише β_1 -рецептори (метопролол, бісопролол, атенолол); вони мають меншу частоту побічних ефектів порівняно з препаратами першого покоління, відзначаються більш сприятливою переносимістю при тривалому застосуванні та мають переконливу доказову базу щодо покращення довгострокового прогнозу життя при лікуванні ХСН. β -Блокатори третього покоління можуть бути як високоселективними щодо β_1 -рецепторів (небіволол, бетакселол), так і неселективними (карведилол, лабеталол, картерол); вони володіють протиішемічною, ендотеліотропною, антиоксидантною, антипроліферативною, антигіпертрофічною та антиапоптичною активністю з мінімальними побічними ефектами. Також бета-блокатори першого та другого покоління називають традиційними, а третього покоління — бета-блокаторами з додатковими фармакологічними властивостями [365-367].

Існує також більш детальна фармакологічна класифікація препаратів, що володіють β -адреноблокуючою активністю:

1. Препарати неселективної дії, що мають мембраностабілізуючі властивості, без симпатоміметичної активності — анаприлін, надолол та інші.
2. Препарати неселективної дії, що мають внутрішню симпатоміметичну активність — піндолол (Віскен), окспренолол (Транзикор).
3. Препарати селективної дії (впливають на β_1 -рецептори) без симпатоміметичної активності, так звані «кардіоселективні β -блокатори» — атенолол, метопролол, бісопролол, небіволол та інші.
4. Препарати селективної дії (впливають на β_1 -рецептори) з внутрішньою

симпатоміметичною активністю — ацебутолол (Сектраль).

5. «Гібридні» α - і β -адреноблокатори — лабеталол, проксотолол, циліпролол, а також карведилол (α - і β -адреноблокатор, вазодилататор), дилевалол (α_2 -стимулятор і $\beta_{1,2}$ -адреноблокатор), алтіоприл (α - і β -адреноблокатор та інгібітор АПФ), кардіотрил (α - і β -адреноблокатор, антиоксидант з вираженими протиішемічними, енерготропними, мембраностабілізуючими та гіполіпідемічними властивостями) [368].

Окрім того існує клінічна класифікація β -блокаторів:

1. Неселективні β -блокатори з рівнозначним впливом на β_1 - і β_2 -адренорецептори (жоден із β -блокаторів цього класу не показаний при ХСН із неспроможною фракцією викиду);

2. Кардіоселективні β_1 -блокатори з різним афінітетом до β_1 -адренорецепторів (метопролол, бісопролол і небіволол), які є переважними у пацієнтів із хронічною обструктивною хворобою легень або легким перебігом астми (небіволол також сприяє вивільненню NO і є переважним у пацієнтів з артеріальною гіпертензією);

3. β -блокатори з додатковим антагонізмом до α_1 -адренорецепторів і наступною периферичною вазодилатацією (карведилол), переважні у пацієнтів із гіпертонією або підвищеним периферичним судинним опором. β -Блокатори також можна розділити на ліпофільні й гідрофільні. Ліпофільні препарати швидко абсорбуються у шлунково-кишковому тракті й активно метаболізуються в печінці, що зумовлює їх низьку біодоступність і швидке виведення. Гідрофільні препарати мають довший період напіввиведення, але можуть накопичуватися при нирковій недостатності. Всі β -блокатори, дозволені для пацієнтів із ХСН із неспроможною фракцією викиду, є ліпофільними [369].

Механізм дії даної групи лікарських засобів пов'язаний із послабленням симпатичних впливів на міокард та зменшенням потреби міокарда в кисні. Найбільше поширення у практичній медицині отримав анаприлін (пропранолол), який має антиангінальну, гіпотензивну та антиаритмічну дію, хоча вона проявляється при застосуванні у великих дозах. Це явище пов'язують із певним

мембраностабілізуючим ефектом анаприліну. Анаприлін пригнічує активність синусового вузла, екстопічних вогнищ збудження, збільшує ефективний рефрактерний період передсердно-шлуночкового вузла, зменшує автоматизм клітин серця, пригнічує провідність у передсердно-шлуночковому вузлі та знижує збудливість. Під впливом анаприліну також відзначається зменшення роботи серця. Крім того, препарат має седативний ефект. При гострому інфаркті міокарда анаприлін зменшує летальність та підвищує якість життя. Також відзначається здатність препарату стимулювати скорочення матки та кишечника [370-371].

Хоча є дані про здатність анаприліну знижувати коронарний кровотік, все ж вважається, що цей його несприятливий ефект компенсується здатністю зменшувати потреби міокарда в кисні. Сприяє реалізації кардіопротективного ефекту анаприліну підтримання ним кровопостачання в субендокардіальній області [372-374].

У лікуванні серцево-судинних захворювань застосовуються також неселективний β -адреноблокатор без внутрішньої симпатоміметичної активності пролонгованої дії – надолол (Коргард) та піндолол (Віскен) – неселективний β -адреноблокатор, що володіє внутрішньою симпатоміметичною активністю [375-376].

Серед побічних ефектів неселективних β -адреноблокаторів відзначають бронхоспазм, гіперглікемію, АВ-блокаду, підвищення тону периферичних судин, фізичну стомлюваність, декомпенсацію серцевої недостатності, гіпертригліцеридемію, інсулінорезистентність, імпотенцію, зниження когнітивних функцій ЦНС [377-380].

Препарати вибіркової дії — атенолол, бісопролол, метопролол та небіволол — не викликають бронхоспазму, застою крові в периферичних судинах, не змінюють толерантність до глюкози. Із кардіоселективних β_1 -блокаторів еталонними препаратами для лікування ХСН у багатьох країнах залишаються атенолол, бісопролол та метопрололу сукцинат. Останнім часом широко використовується небіволол. У цих препаратів не відзначено внутрішньої симпатоміметичної активності та відсутня мембраностабілізуюча дія. В

дослідженні атенололу не виявлено суттєвої різниці у смертності між двома групами (пацієнти з ХСН зі зниженою фракцією викиду, які отримували атенолол у комплексній терапії, та ті, хто не отримував цей лікарський засіб) [381-383].

У дослідженні бісопрололу при ХСН зі зниженою ФВ (2647 пацієнтів) продемонстровано значну перевагу у зниженні смертності на 34 % [384].

Метопролол є селективним β_1 -блокатором, характеризується меншою тривалістю дії, ніж атенолол і бісопролол. У дослідженні «Метопролол при дилатованій кардіоміопатії» (MDC), у якому взяли участь 383 пацієнти із ХСН зі зниженою фракцією викиду, було встановлено зниження відносного ризику смертності від усіх причин на 34% [385].

Небіволол є селективним антагоністом β_1 -рецепторів. Препарат також стимулює β_3 -рецептори, спричиняючи вироблення NO та вазодилатацію. У дослідженні «Вивчення ефектів втручання небівололу на наслідки та повторну госпіталізацію у людей похилого віку з серцевою недостатністю» (понад 2000 пацієнтів віком старше 70 років) зі зниженою ФВ було показано значне зниження комбінованої кінцевої точки смертності від усіх причин та госпіталізацій, пов'язаних із серцевою недостатністю [386].

Беручи до уваги ці результати, небіволол був включений до числа β -блокаторів, рекомендованих для лікування ХСН із зниженою ФВ у американських та канадських клінічних рекомендаціях. Серед адреноблокаторів III покоління, які також володіють периферичною вазодилатуючою дією, виділяють «гібридні» адреноблокатори – лабетолол, целипролол, дилевалол, карведилол, буциндопіл, небіволол, алтиоприл, кардіотрил. Ці препарати застосовують для лікування стенокардії та ішемічної хвороби серця, артеріальної гіпертензії та ХСН [387-388].

Наразі найбільш затребуваним є карведилол — помірно селективний β -блокатор без внутрішньої симпатоміметичної активності, що має властивості периферичного вазодилататора завдяки α -адреноблокаді. Карведилол, завдяки блокаді β -адренорецепторів серця, може знижувати артеріальний тиск, уповільнювати частоту серцевих скорочень. Карведилол не зменшує серцевий викид. Він пригнічує ренін-ангіотензин-альдостеронову систему через блокаду β -

адренорецепторів нирок, викликаючи зниження активності реніну плазми. Блокуючи α_1 -адренорецептори, препарат може викликати розширення периферичних судин, завдяки чому знижується системний судинний опір. Поєднання блокади β -адренорецепторів та вазодилатації має такі впливи: у хворих на артеріальну гіпертензію — зниження артеріального тиску; у хворих на ішемічну хворобу серця — протиішемічну та антиангінальну дію; у хворих із дисфункцією лівого шлуночка та недостатністю кровообігу — сприятливо впливає на гемодинамічні показники, підвищує фракцію викиду лівого шлуночка і зменшує його розміри. А також помірно знижує рівень тригліцеридів, є безпечнішим для пацієнтів із хронічними обструктивними захворюваннями легень [389].

Карведилол успішно застосовують у лікуванні артеріальної гіпертензії, хронічної серцевої недостатності та стабільної стенокардії. У дослідженні US Carvedilol Heart Failure Study (1094 пацієнти з ХСН із несохраненою ФВ) було встановлено, що застосування карведилолу супроводжувалося зниженням ризику госпіталізації з кардіоваскулярних причин на 27%, а також зниженням комбінованого ризику госпіталізації або смерті на 38% [390-391].

Дослідження гемодинаміки у пацієнтів із ХСН демонструють більш безпечний профіль карведилолу (порівняно з іншими препаратами) щодо серцевого індексу та системного судинного опору [392].

Побічні ефекти карведилолу проявляються у вигляді запаморочення, головного болю, втрати свідомості, міастенії, підвищеної втомлюваності, депресії, порушення сну, парестезій, зниження толерантності до фізичних навантажень, брадикардії, ортостатичної гіпотензії, атріовентрикулярної блокади II–III ступеня, розвитку кардіодистрофії, посилення проявів ендотеліальної дисфункції та підвищення активності «печінкових» трансаміназ [393].

Бета-блокатори чинять антиапоптичну дію при ХСН, зменшуючи шкідливу хронічну адренергічну стимуляцію серця, яка може призвести до загибелі міоцитів. Блокуючи ці токсичні ефекти, бета-блокатори захищають кардіоміоцити від апоптозу та некрозу, що сприяє уповільненню згубного процесу ремоделювання лівого шлуночка, покращенню функції серця і, в кінцевому підсумку, зниженню

смертності у пацієнтів із серцевою недостатністю [394-395].

Результатами великих плацебо-контрольованих досліджень було встановлено зниження абсолютного ризику смерті протягом 13 місяців спостереження в середньому на 4,5%, знижуючи смертність із 12,8% у групі плацебо до 8,3% у групі пацієнтів із ХСН, які отримували β -блокатори. Застосування β -блокаторів рятує життя у 45 пацієнтів із ХСН на кожні 1000 пролікованих. При аналізі етіології смерті було виявлено, що терапія β -блокаторами знижує як раптову серцеву смерть, так і смерть унаслідок прогресуючої ХСН, а також частоту госпіталізацій [396-397].

Всі дослідження із застосуванням карведилолу, метопрололу, небівололу та бісопрололу показали покращення класу за Нью-Йоркською кардіологічною асоціацією (NYHA) при лікуванні ХСН [398].

Лікування β -блокаторами, такими як метопролол, карведилол та бісопролол, уповільнює реакції оксидативного стресу на тлі покращення перебігу ХСН. Антиоксидантна дія β -блокаторів вивчена недостатньо та потребує додаткових досліджень, але передбачається наявність кількох механізмів: по-перше, важливий сам β -блокуючий ефект, оскільки катехоламіни викликають продукцію АФК у міокарді; по-друге, значущі протиішемічні ефекти та негативні хронотропні впливи; по-третє, прогнозуються властивості «скавенджерів» у β -блокаторів залежно від їх хімічної структури [399-400].

Таким чином, β -адреноблокатори показані при ХСН будь-якої тяжкості та зайняли міцне місце серед препаратів першого ряду для лікування цього захворювання. Однак на сьогоднішній день у рекомендаціях із лікування пацієнтів із ХСН не наведені схеми диференційованого застосування β -адреноблокаторів з урахуванням даних про їх афінність до різних підтипів β -адренорецепторів, вплив на показники метаболізму міокарда та організму в цілому. Нерозв'язаними залишаються питання диференційованого застосування β -адреноблокаторів у різних категорій хворих на ХСН та ранньої діагностики резистентності до цих препаратів, невідомо, в яких клінічних ситуаціях доцільніше застосовувати той чи інший β -адреноблокатор. Усе це потребує як додаткових досліджень щодо

ефективності β -адреноблокаторів при ХСН, так і розробки нових оригінальних молекул, що проявляють β -адреноблокуючу дію з додатковими властивостями (антиоксидантні, метаболітотропні, антиапоптичні) [401-402].

1.3 Похідні 1,2,4-триазолу — перспективні засоби кардіопротекції при ХСН

Похідні 1,2,4-триазолу мають широкий спектр фармакологічної активності — антигіпоксичну, противішемічну, антиоксидантну, ростстимулюючу, противірусну, протизапальну [403-407].

Особливий інтерес похідні 1,2,4-триазолу представляють як потенційні кардіопротектори. Так, серед 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-карбонових кислот та їх солей виділено сполуки, що проявляють кардіопротекторну активність на моделі інфарктів міокарда у щурів. Серед цієї підгрупи виділяються солі — морфолінова, натрієва, моноетаноламонієва 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтової кислоти та її найяскравіший представник — тіотриазолін. Тіотриазолін, який є першим представником класу метаболітотропних цито- та кардіопротекторів, проявляє протиішемічні, кардіопротекторні, антиоксидантні, енерготропні, мембранопротекторні та імуномодулюючі властивості [408-409].

Результати багатопрофільних рандомізованих досліджень свідчать про доцільність включення Тіотриазоліну в комплексне лікування захворювань серцево-судинної системи як метаболітотропного кардіопротектора. Тіотриазолін зменшує кількість та тривалість епізодів ішемії, порушень ритму серця, підвищує толерантність до фізичних навантажень, а також покращує якість та тривалість життя пацієнтів зі стабільною стенокардією, інфарктом міокарда, постінфарктом ремодельованням міокарда, ХСН, що, відповідно, покращує прогноз і якість життя пацієнтів. Показана добра переносимість і безпечність курсового застосування (8 тижнів) Тіотриазоліну у добовій дозі 600 мг для лікування ІХС, стабільної стенокардії напруження II–III функціонального класу та ХСН. Так, під час клінічних випробувань Тіотриазоліну встановлено, що відсоток побічних ефектів

був невисоким — близько 3%, вони не мали характеру тяжких (легкі та помірні) і не були пов'язані з прийомом препарату [410].

Механізм дії Тіотриазоліну полягає у підвищенні експресії антиоксидантних ферментів, зниженні концентрації вільних радикалів, активації компенсаторного малат-аспартатного шунта продукції енергії, нормалізації роботи циклу Кребса та ініціації Red/Oxi-залежної експресії факторів транскрипції в умовах ішемії [411-412].

Подальша модифікація молекули тіотриазоліну дозволила отримати нову молекулу наступної структури — L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат, яка отримала назву Ангіолін. Ангіолін, маючи аналогічний тіотриазоліну фрагмент молекули — 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат, проявляє нові, відсутні у тіотриазоліну ланки механізму кардіопротективної дії:

1. Ангіолін підвищує біодоступність NO, нормалізує експресію мРНК eNOS та iNOS, а також підвищує щільність ендотеліоцитів судин міокарда на фоні збільшення експресії васкулоендотеліального фактора росту (VEGF) і зменшення експресії молекулярних маркерів дисфункції ендотелію — фактора некрозу пухлини (TNF- α), C-реактивного білка, інтерферону-гамма (INF- γ) при інфаркті міокарда, ішемії міокарда, хронічній серцевій недостатності, а також алкогольній кардіоміопатії. Все це свідчить про наявність ендотеліопротективного механізму (відсутнього у всіх відомих кардіопротекторів) у кардіопротекторній дії Ангіоліну.

2. Ангіолін призводить до перерозподілу щільності клітин із різним ступенем фіброзу — зменшує щільність кардіоцитів із помірним ступенем фіброзу, збільшує щільність клітин із незначним ступенем фіброзу та повністю запобігає появі клітин із вираженим ступенем фіброзу при хронічній серцевій недостатності.

3. Ангіолін усуває дисфункцію лівого шлуночка, що проявляється у збільшенні робочого індексу лівого шлуночка та ударного робочого індексу лівого шлуночка, а також підвищенні тиску в лівому шлуночку при хронічній серцевій недостатності.

4. Ангіолін зберігає ультраструктуру мітохондрій кардіоміоцитів при артеріальній гіпертензії та активує додаткові шунти енергії (малат-аспартатний) як

при артеріальній гіпертензії, так і при інфаркті міокарда, хронічній серцевій недостатності, алкогольній кардіоміопатії та робочій гіпоксії міокарда.

5. Ангіолін гальмує реакції не лише окисного, а й нітрузуючого стресу.

6. Ангіолін підсилює експресію ендогенного цитопротектора — білка теплового шоку HSP70.

7. Ангіолін пригнічує TNF- α -залежний апоптоз кардіоміоцитів. Відповідно до концепції створення катіонно-аніонних лікарських засобів, він містить у своїй структурі 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат, що відповідає за антиоксидантні, енерготропні та противішемичні властивості, та L-лізин, здатний регулювати експресію eNOS і впливати на утворення L-карнітину. Встановлено, що Ангіолін виявляє виражені ендотеліопротекторні, протиішемичні, кардіопротекторні, нейропротекторні, антиоксидантні та протизапальні властивості. Ангіолін також здійснює кардіопротекторну дію, підвищуючи виживаність кардіоміоцитів і покращуючи результати ЕКГ, загальну та кардіогемодинаміку при гострій і хронічній ішемії міокарда — нормалізує систолічний артеріальний тиск, зменшує прояви ішемічної дисфункції лівого шлуночка — збільшує серцевий викид лівого шлуночка. Розроблені лабораторні та промислові методи синтезу та стандартизації Ангіоліну [413-416].

Також кардіопротекторні властивості виявлені у похідних 4-аміно-1,2,4-триазолу. Найбільший інтерес становлять похідні 1-алкіл-, 1-(1-карбоксіалкіл)-4-аміно-1,2,4-триазолію [417].

З яких було виділено найбільш активну сполуку — бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолу, який виявляв високу кардіопротекторну активність і належав до малотоксичних речовин (ЛД₅₀ 295 мг/кг, внутрішньочеревно) [418].

Співробітниками кафедри фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії, кафедри фармакології і медичної рецептури з курсом нормальної фізіології ЗДМФУ під керівництвом професора І.А. Мазура розроблено оригінальний препарат Гіпертрил на основі похідного 4-аміно-1,2,4-триазолу, а саме броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію. Гіпертрил є кардіоселективним β -

адреноблокатором з NO-міметичним ефектом, що проявляє антигіпертензивні, антиангінальні, протиішемічні, фібринолітичні та антиоксидантні властивості [419].

Гіпертрил у дозі 2,5 мг/кг проявляє виражену кардіопротекторну дію в умовах гострої ішемії та реперфузії міокарда у щурів, зменшуючи показники маркерів ішемічного ушкодження міокарда — гіперферментемію МВ-КФК, зміщення інтервалу $\Sigma_{\Delta}ST$, а також об'єм некрозу міокарда. Експериментально на моделі інфаркту міокарда визначено ED_{50} Гіпертрилу при внутрішньочеревному (2,5 мг/кг) та внутрішньом'язовому (3,5 мг/кг) введенні. Показано, що внутрішньочеревне введення Гіпертрилу у дозі 2,5 мг/кг щурам паралельно формуванню гострого інфаркту міокарда призводило до 100% зниження летальності та покращення показників ЕКГ. Призначення Гіпертрилу тваринам із інфарктом міокарда приводило до зменшення зони некрозу міокарда, зниження щільності апоптично та деструктивно змінених кардіоміоцитів, підвищення щільності ядер кардіоміоцитів, збільшення в них РНК порівняно з групою нелікованих тварин, що свідчило про наявність вираженої кардіопротекторної дії потенційного препарату. Внаслідок експериментальних досліджень виявлено, що Гіпертрил має властивості NO-міметика — у серці тварин з інфарктом міокарда, які отримували Гіпертрил, було виявлено підвищення активності eNOS, збільшення її концентрації і підвищення продукції NO. Гіпертрил зменшував прояви мітохондріальної дисфункції кардіоміоцитів при гострому інфаркті міокарда — зменшував відкриття мітохондріальної пори, збільшував заряд внутрішньої мембрани мітохондрій міокарда. Призначення Гіпертрилу тваринам з інфарктом міокарда приводило до значного зниження реакцій окисного стресу у міокарді. У міокарді тварин, які отримували курсом Гіпертрил, виявлено зниження маркерів окисної модифікації білка, а також достовірне підвищення активності супероксиддисмутази, каталази та глутатіонредуктази у цитозольній та мітохондріальній фракціях серця щурів з інфарктом міокарда. Гіпертрил проявляв впливи на всі основні процеси, що зумовлюють активацію тромбогенезу при гострому інфаркті міокарда, але був більш ефективним стосовно фібринолізу, ніж системи згортання крові та агрегації тромбоцитів. Гіпертрил у дозі 2,5 мг/кг покращував основні показники загальної та

кардіогемодинаміки в умовах гострої ішемії міокарда у кроликів, знижував частоту серцевих скорочень, артеріальний тиск, зменшував загальний периферичний судинний опір. На відміну від традиційних β -аденоблокаторів, терапевтична дія Гіпертрилу не супроводжується зменшенням роботи лівого шлуночка — препарат збільшує його робочі індекси. Введення Гіпертрилу тваринам з гострою ішемією міокарда призводить до збільшення ударного об'єму, систолічного та серцевого індексів. Гіпертрил завдяки кардіопротекторним механізмам, спрямованим на зниження як перед-, так і постнавантаження на серце в умовах гострої ішемії, очевидно, здатний покращувати не лише систолічну, а й діастолічну функцію лівого шлуночка. Отримані дані демонструють, що Гіпертрил має характеристики кардіоселективного β -аденоблокатора з властивостями периферичного вазодилататора [420-422].

Потенційний препарат Гіпертрил проявляє виражені антигіпертензивні та кардіопротекторні властивості при 15-денному введенні в дозі 5 мг/кг/добу щурам лінії SHR на фоні стійкого підвищення артеріального тиску, що виражалось в достовірному зниженні АТ та зменшенні ураження органа-мішені — серця. Дослідженнями отримано докази покращення енергетичного метаболізму міокарда в умовах артеріальної гіпертензії при курсовому призначенні Гіпертрилу, що пов'язано з його мітохондріальним захисним ефектом. Гіпертрил зменшує прояви вторинної мітохондріальної дисфункції кардіоцитів при артеріальній гіпертензії у щурів. Гіпертрил впливає на одну з причин виникнення мітохондріальної дисфункції — окисну модифікацію білкових структур мітохондрій в умовах активації реакцій окисного стресу, знижує недостатність mPT-пори та усуває антиоксидантну недостатність у спонтанно гіпертензивних щурів. Гіпертрил зменшує порушення в системі L-аргінін-NOS-NO міокарда при артеріальній гіпертензії. Гіпертрил проявляє NO-міметичні властивості, підвищуючи синтез NO за рахунок збільшення експресії ендотеліальної NOS у міокарді. Гіпертрил посилює захисні ефекти NO, зменшуючи його перетворення на пероксинітрит і тим самим підвищує резистентність кардіоцитів до несприятливих впливів. Призначення Гіпертрилу при артеріальній гіпертензії призводить до зниження щільності ядер

кардіоміоцитів до рівня нормотензивних щурів і суттєвого збільшення вмісту РНК у ядрах та цитоплазмі кардіоміоцитів порівняно з групою нелікованих тварин [423].

Однак до теперішнього часу не виявлено кардіопротекторного ефекту Гіпертрилу при ХСН, не встановлені особливості його впливу на молекулярно-біохімічні процеси в міокарді та не показані його переваги перед класичними β -адреноблокаторами і β -адреноблокаторами з додатковими властивостями.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Експериментальні тварини

Експерименти проводилися на 416 білих безпородних щурах масою 190–220 г, обох статей отриманих із віварію Інституту фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України та Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця Національної академії медичних наук України. Після отримання тварини були зважені, пронумеровані, тимчасово помічені з використанням розчину діамантового зеленого і поміщені до кліток (по 5 особин в кожній) для акліматизації. Тривалість карантину (періоду акліматизації) для всіх тварин становила 14 діб. Під час карантину кожну тварину щодня оглядали (поведінка та загальний стан), у клітках спостерігали за захворюваністю та летальністю двічі на добу. Також кожна тварина була оглянута кваліфікованим ветеринаром з метою визначення стану її здоров'я. Тварини були поміщені до полікарбонатних кліток розміром 550x320x180 мм з кришками із оцинкованої сталі розміром 660x370x140 мм та скляними поїлками. У кожній клітці утримували по 5 щурів. Кожна клітка була оснащена етикеткою із зазначенням номера дослідження, виду, статі, номерів тварин та дози. Клітки були розміщені на стелажах згідно до дозових рівнів та номерів кліток, зазначених на етикетках. В кімнаті для утримання тварин підтримували наступні умови: температура - 20-24°C, вологість - 30-70%, цикл освітлення – 12 годин світло/12 годин темрява. Всім щурам згодовували *ad libitum* стандартний раціон для лабораторних тварин, що постачається фірмою "Phoenix" («Фенікс»), Україна. Вода із міської водопровідної мережі (після зворотнього осмосу і стерилізації УФ-випромінюванням) давалась без обмежень. У якості підстилки використовували тирсу вільхи (*Alnus glutinosa*), попередньо оброблену автоклавуванням. Перед початком дослідження тварини, які відповідали критеріям включення до експерименту, були розподілені на групи методом рандомізації.

Протягом усього експерименту за тваринами спостерігали, фіксували травматизацію, летальність, а також описували їхній зовнішній вигляд.

Маркіровка лабораторних тварин здійснювалась згідно зазначеному нижче рис. 2.1 :

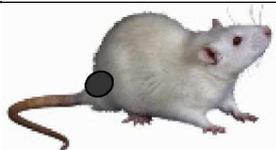
№1 - мітка на голові	
№2 - мітка на спині	
№3 - мітка на хвості	
№4 - мітка на передній лівій лапі	
№5 - мітка на передній правій лапі	
№6 – без мітки	

Рисунок 2.1 – Маркіровка лабораторних тварин

Біоетичні аспекти.

Усі маніпуляції проводилися відповідно до положення про гуманне поводження з лабораторними тваринами для біомедичних експериментів (Страсбург, 1986 р., із поправками 1998 р.) та «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують у експериментальних і наукових цілях». Протоколи експериментальних досліджень та їх результати були затверджені рішенням Комісії з біоетики ЗДМУ (Протокол № 1 від 15 січня 2026 р.).

2.2 Експериментальна модель хронічної серцевої недостатності (ХСН)

Для відтворення ХСН була використана доксорубіцинова модель [73, 431]. Фармакологічна модель ХСН, індукована доксорубіцином, може вважатися найбільш ефективною, оскільки у більшості тварин вона призводить до розвитку тяжкої та прогресуючої ХСН. Застосування доксорубіцину (внутрішньочеревно в сумарній дозі 15 мг/кг, розділеній на 6 ін'єкцій протягом 14 днів) спричинює зниження скоротливості міокарда лівого шлуночка, його ексцентричне ремоделювання та формування прогресуючої ХСН у щурів [73, 431, 434, 282].

2.3 Лікарські засоби й фармакологічні агенти

У дослідженні використовували доксорубіцин "Ebeve" 50 мг/25 мл (EBEWE Pharma Ges.mbH Nfg. KG, Австрія). Всі препарати вводили внутрішньошлунково один раз на добу у вигляді суспензії в 1% крохмальному слизу протягом 30 діб після 14-денної ін'єкції доксорубіцину — Гіпертрин у експериментально обґрунтованій дозі 3,5 мг/кг [24], метопрололу сукцинат — 15 мг/кг [73,431], небіволол — 10 мг/кг [490], карведилол — 50 мг/кг [428], бісопролол — 10 мг/кг [400]. У роботі використовували такі речовини: субстанція Гіпертрин (Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» НАН України), таблетки метопрололу сукцинату (Astra Zeneca UK Ltd, Швеція), небіволол (Teva Pharmaceutical Industries, Ltd, Ізраїль), карведилол (Salutas Pharma GmbH, Німеччина), бісопролол (Teva Pharmaceutical Industries, Ltd, Ізраїль).

Експериментальні групи

Тварин було розподілено на такі експериментальні групи:

1. Інтактна (вводили внутрішньошлунково один раз на добу 1% крохмальну слизу протягом 30 діб) 40 тварин;
2. Контрольна з експериментальною ХСН (вводили внутрішньошлунково один раз на добу 1% крохмальний слиз протягом 30 діб після 14-денної ін'єкції доксорубіцину) 40 тварин ;

3. ХСН+Гіпертрил (вводили 3,5 мг/кг внутрішньошлунково один раз на добу у вигляді суспензії в 1% крохмальному слизі протягом 30 діб після 14-денної ін'єкції доксорубіцину) 40 тварин;
4. ХСН+карведилол (вводили 50,0 мг/кг внутрішньошлунково один раз на добу у вигляді суспензії в 1% крохмальному слизі протягом 30 діб після 14-денної ін'єкції доксорубіцину) 40 тварин;
5. ХСН+ бісопролол (вводили 10,0 мг/кг внутрішньошлунково один раз на добу у вигляді суспензії в 1% крохмальному слизі протягом 30 діб після 14-денної ін'єкції доксорубіцину) 40 тварин;
6. ХСН + метопролола сукцинат (вводили 15,0 мг/кг внутрішньошлунково один раз на добу у вигляді суспензії в 1% крохмальному слизі протягом 30 діб після 14-денної ін'єкції доксорубіцину) 40 тварин;
7. ХСН + небіволол (вводили 10,0 мг/кг внутрішньошлунково один раз на добу у вигляді суспензії в 1% крохмальному слизі протягом 30 діб після 14-денної ін'єкції доксорубіцину) 40 тварин;

У зв'язку з високою летальністю в експериментальних групах всі вони були розподілені на дві підгрупи по 20 щурів у кожній. Одна підгрупа використовувалась для електрофізіологічних і гістоімуногістохімічних досліджень, а інша — для біохімічних.

2.4 Анестезія

Наприкінці експерименту у тварин під анестезією (натрій тіопентал, 40 мг/кг) вилучали серце, зважували його, а також брали кров із черевної артерії за допомогою шприца для біохімічних досліджень.

2.5 Електрофізіологічні методи

У всіх групах тварин на 45-й день експерименту під тіопенталовою анестезією (40 мг/кг) аналізували електрокардіограму (ЕКГ) та автономну

регуляцію ритму серця (АРРС), використовуючи комп'ютерний аналізатор Cardio-Com-2000plus (КАІ-medica, Україна). При аналізі ЕКГ оцінювали параметри зубців та інтервалів як середнє значення їхньої амплітуди або тривалості відповідно у всіх зареєстрованих відведеннях.

Крім того, ЕКГ у II стандартному відведенні записували протягом 5 хвилин (не менше 1000 кардіоінтервалів) для дослідження автономної регуляції ритму серця (АРРС). Цей метод дозволяє оцінити функціональний стан активності симпатичного (адренергічного) і парасимпатичного (холінергічного) відділів вегетативної нервової системи на синусовий вузол (Колесник та ін., 2014). Визначали такі параметри варіабельності серцевого ритму (ВСР):

1. частота серцевих скорочень (ЧСС, хв^{-1});
2. модальне значення (M_0 , сек) — тривалість інтервалу RR, що зустрічається частіше за інші в досліджуваному сегменті ЕКГ;
3. амплітуда моди (AM_0 , %) — відсоток серцевих інтервалів, що відповідають модальному значенню в загальній вибірці;
4. діапазон варіацій серцевих інтервалів (ΔX , сек) — різниця між найбільшим і найменшим значенням тривалості RR у вибірці;
5. SI — індекс напруги (індекс Баєвського), який відображає напругу регуляторних механізмів контролю ритму серця, визначають за формулою: $SI = AM_0 / (2 - \Delta X - M_0)$;
6. APR (Adequacy of Processes Regulation) — індекс адекватності регуляції процесів, який відображає відповідність між активністю симпатичної ланки вегетативної нервової системи та рівнем функціонування синусового вузла; розраховується за формулою: $APR = AM_0 / M_0$;
7. TP (total power) або PSD (потужність спектральної щільності), мс^2 — загальний рівень активності регуляторних систем, характеризує не тільки періодичні, але й неперіодичні процеси; підвищення показника свідчить про зростання активності автономного контуру регуляції ритму серця, а зниження — про пригнічення активності автономного контуру. Для аналізу ВСР та вимірювання PSD використовували методи дискретного перетворення Фур'є.

Зазвичай спектральний аналіз ВСР містить діапазони VLF (дуже низькочастотний), LF (низькочастотний), HF (високочастотний), PSD — як суму VLF, LF і HF;

8. ULF, мс^2 — потужність ультранизькочастотного діапазону спектра, характеризує стан електролітно-метаболічного рівня автономної регуляції ритму серця, частково пов'язаний із процесами терморегуляції;

9. VLF, мс^2 — потужність дуже низькочастотного спектра, характеризує стан енергетично-метаболічного рівня вегетативної регуляції ритму серця, визначає вираженість ерготопного впливу надсегментарного відділу вегетативної нервової системи;

10. LF, мс^2 — потужність низькочастотного спектра, є маркером симпатичних впливів та/або симпатичних і парасимпатичних механізмів, асоційованих із барорефлекторною регуляцією ритму серця; характеризує абсолютний рівень активності симпатичного вазомоторного центру, відображає залученість у регуляцію внутрішньосистемного рівня контролю;

11. HF, мс^2 — потужність високочастотного спектра, відображає періодичне посилення тонічної активності блукаючого нерва (парасимпатичний вплив) на серце, синхронізоване з ритмом дихальних рухів;

12. LF/HF — індекс співвідношення вагосимпатичної взаємодії спектра, характеризує відносну перевагу субкортикальної симпатичної активності над активністю парасимпатичного каналу регуляції ритму серця;

13. IC — індекс централізації, характеризує відносну перевагу центрального контуру регуляції над автономним, відображає ступінь централізації керування серцевим ритмом, визначають за формулою: $IC = (LF + VLF) / HF$;

14. $M \pm m$ — середнє \pm стандартна помилка середнього (S.E.M.).

Всі розрахунки проводилися за допомогою оригінальної комп'ютерної програми.

2.6 Підготовка біологічного матеріалу

Серце очищали холодним 0,15 М розчином KCl (+4 °C) у співвідношенні 1:10. Після видалення зайвого жиру, сполучної тканини, кровоносних судин і згустків у внутрішніх порожнинах серця, проводили повторне очищення тим самим розчином KCl у співвідношенні 1:10 при +4 °C. Потім серце подрібнювали в рідкому азоті до одержання порошкоподібної консистенції. 100 мг подрібненої в порошок тканини серця точно зважували на торсійному балансі WT500 (Київ, Україна). Порошок тканини ретельно змішували з 10,0 мл середовища, утримуваного при +2 °C, яке містило 250 ммоль/л сахарози, 20 ммоль/л Tris-HCl буфера та 1 ммоль/л EDTA при рН 7,4. Гомогенат піддавали прецентрифугуванню у холодильній центрифугі Sigma 3–30 k (Остероде, Німеччина) при +4°C протягом 7 хвилин на 1000 g для вилучення великих клітинних фрагментів. Отриманий супернатант збирали та центрифугували вдруге при +4 °C протягом 20 хвилин на 17 000 g. Після цього супернатант збирали і зберігали при –80 °C. Для подальших досліджень використовували густий мітохондріальний осад, який утворився під час ресуспензії.

2.7 Імуногістохімія

Для імуногістохімічного аналізу апекс серця занурювали в фіксатор Буйна на 24 години. Після дегідратації та обробки тканини хлороформом і парафіном міокард заливали в парапласт (McCormick, Hunt Valley, MD, США). Серійні гістологічні зрізи товщиною 15 мкм виготовляли на роторному мікротомі Microm-325 (Microm Corp., Мюнхен, Німеччина). Ці зрізи обробляли етиловим спиртом та *o*-ксилолом перед проведенням аналізу методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу (реал-тайм ПЛР).

Гістологічні зрізи серця вилучали з парапласту та зволожували. Потім їх тричі промивали по 5 хвилин фосфатним буфером (рН = 7,4) і інкубували 30 хв у 2N хлористоводневій кислоті (37 °C) для визначення інтенсивності експресії

індукованої (iNOS) та ендотеліальної (eNOS) синтаз оксиду азоту. Далі зрізи інкубували 30 хв у 0,1%-му розчині трипсину в фосфатному буфері (37°C), після чого промивали двічі по 5 хв фосфатним буфером (pH = 7,4), двічі по 5 хв буфером Холмса з бором (pH = 8,4) та чотири рази по 5 хв фосфатним буфером (pH = 7,4). Після обробки зрізи інкубували 24 години в камері з вологою атмосферою (4–6 °C) з первинними поліклональними антитілами до eNOS (IgG кролика, розведення 1:500, R-20 #SC-648, Santa Cruz Biotechnology, США). Потім проводили чотириразове 5-хвилинне промивання фосфатним буфером (pH = 7,4). Для вторинного фарбування зрізи інкубували 1 год при 37 °C з антитілами до фрагмента IgG миші, кон'югованими з флуоресцентним барвником FITC (Sigma-Aldrich, каталожний номер F2266). Аналогічно для визначення експресії iNOS зрізи інкубували первинними поліклональними антитілами (C-20#SC-654 FITC, Santa Cruz Biotechnology, США) 24 години у вологій камері при 4–6 °C, з подальшим чотириразовим промиванням. Після остаточного промивання зрізи занурювали у суміш гліцеролу і фосфатного буфера (9:1).

Інтенсивність експресії ізоформ NOS оцінювали шляхом підрахунку кількості iNOS- і eNOS-позитивних клітин на зрізах, отриманих за допомогою відеокамери SOHU-4922 (США), з подальшим аналізом зображень у системі VIDAS-386 (Kontron Electronic, Німеччина) з використанням флуоресцентного мікроскопа Axioskop (Zeiss, Німеччина) та об'єктива F-Fluar 40x/1.30 Oil (Carl Zeiss). Фотографії робили камерою AxioCam-ERc 5s (8-біт) і зберігали у форматі TIFF з роздільною здатністю 2560×1920 з однаковими параметрами яскравості, витримки та корекції. Аналіз зображень проводили у програмі ImageJ (NIH, США), враховуючи шкалу мікроскопа для конвертації пікселів у мікрометри квадратні (μm^2). Визначали області інтересу (ROI) з інтенсивною флуоресценцією, обчислювали абсолютну площу ROI (μm^2), імунореактивний матеріал (IRM) і скориговану загальну флуоресценцію (CTF), що корелюють з кількістю IRM. Обчислювали питомі показники: площу IRM (SA, %) як відношення абсолютної площі IRM до площі ROI і концентрацію IRM (CONC, $\text{mUif}/\mu\text{m}^2$) як відношення CTF до площі ROI. Для кожної групи аналізували не менше ніж 100 візуальних полів.

2.8 Імуноферментний аналіз (ELISA)

Кількість нітротирозину в цитозолі та гомогенаті мітохондрій серця визначали за допомогою методу імуноферментного аналізу «сендвіч» із застосуванням комплекту ELISA (каталожний номер НК 501-02, Hycult Biotech, Нідерланди). Активність eNOS в цитозолі оцінювали ферментним імуноаналізом із використанням комплексу Cloud-Clone Corporation (#PAA868Ra01, США) згідно з інструкцією. Активність iNOS в цитозолі вимірювали аналогічно, використовуючи комплекс MyBioSource (#MBS023874, США). Усі аналізи проводили на автоматичному імуноферментному аналізаторі SIRIO-S (Seac, Італія) (Hanchev, 2018; Ferreira, 2012).

2.9 Біохімічні методи

Для визначення кількості метаболітів оксиду азоту (NO_x) у серцях використовували метод Гріса. Після отримання 1,0 мл супернатанту, як описано раніше, додавали 100 мкл 0,092 М сульфату цинку та 100 мкл 1 М NaOH, суміш змішували та витримували 30–40 хв для депротейнізації. Потім центрифугували у центрифугу Eppendorf™ 5430 G (Гамбург, Німеччина) при 4000 g протягом 10 хв (5 °C). Далі 100 мкл отриманого супернатанту переносили у лунку мікропланшету, до кожної лунки додавали 0,5 мМ хлориду ванадію (III) для перетворення нітрату у нітрит. Після цього додавали 0,2 мкл N-1-(нафтил)етилендіаміну та 50 мкл сульфонаміду. Загальний об'єм суміші становив 300 мкл. Проби інкубували 30 хв при 37°C, після чого реєстрували оптичну густина при 540 нм. Вміст NO_x визначали за допомогою лінійної калібрувальної кривої в діапазоні від 0 до 50 мкмоль/л нітрату натрію. Рівні NO_x у тканинах виражали в мкмоль/л.

Активність загальної NOS оцінювали спектрофотометричним методом на основі стехіометричного окислення NADPH під час реакції утворення NO з L-аргініну. Кількість NO визначали при 340 нм як величину падіння NADPH. За допомогою додаткових проб із інгібітором NOS — N-нітро-L-аргініном (1 мМ) —

показано, що швидкість окислення NADPH є показником активності NOS. Для реакції використовували інкубаційну суміш (рН 7.4), розведену дистильованою водою до 1 л, яка містила 25 мМ Tris-HCl, 5 мМ MgCl₂, 1 мМ CaCl₂, 1 мМ NADPH і 1 мМ L-аргініну. Кювету з кварцу об'ємом 1 см заповнювали 2,9 мл інкубаційної суміші (37°C). Реакцію ініціювали додаванням 0,1 мл цитозоля та мітохондріального лізату, фіксували поглинання при 340 нм одразу та через 4 хв (Eppendorf BioSpectometr, США). Активність загальної NOS виражали у нмоль/мг білка/хв.

Метод Елмана застосовували для визначення концентрації SH-груп у білках. Основою методу є реакція обміну тіол-дисульфід, що приводить до утворення аніону 2-нітро-5-тіобензоату, який має поглинання при 412 нм (молярний коефіцієнт екстинкції $\epsilon_{412} = 14000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Реактивами слугували 4 мг 5,5-дітіобіс(2-нітробензойної) кислоти (DTNB) у 1 мл фосфатного буфера; 0,1 М фосфат натрію, рН 8,0, з 1 мМ EDTA. Для початку реакції у кварцову кювету (1 см) додавали 0,25 мл цитозолю або мітохондріального лізату, 0,05 мл DTNB та 2,5 мл фосфатного буфера. Реакцію проводили при 37 °С, фіксували абсорбцію при 412 нм за допомогою спектрофотометра Eppendorf BioSpectometr (США) через 10 хв. Концентрацію білка у зразках визначали методом Лоурі [Lowry technique].

Для оцінки стану енергетичного метаболізму міокарда визначали концентрації АТФ, АДФ, АМФ, малату, пірувату та лактату. Також досліджували швидкість відкриття мітохондріального отвору, заряд мітохондріальної мембрани та активність сукцинатдегідрогенази й малатдегідрогенази.

Визначення аденінових нуклеотидів методом тонкошарової хроматографії

Принцип методу полягає у розділенні АТФ, АДФ, АМФ у системі діоксан–ізопропанол–вода–аміак на тонкому шарі сорбенту, з подальшим кількісним визначенням методом прямої спектрофотометрії при 260 нм.

Реактиви:

- Ізопропанол;
- Діоксан;
- Аміак;

- Пластини для тонкошарової хроматографії на алюмінієвій основі, покриті мікрофракційованим силікагелем.

Проведення досліджень:

Загалом 0,2 мл безбілкового екстракту тканини наносили на стартову лінію пластини і хроматографували у системі діоксан–ізопропанол–вода–аміак (4:2:4:1). АТФ, АДФ, АМФ ідентифікували під ультрафіолетовим світлом при довжині хвилі 365 нм. Зразки промивали 4,0 мл 0,1 N HCl, після чого вимірювали спектрофотометрично при 260 нм. Вміст АТФ, АДФ, АМФ (мкмоль/г тканини) розраховували за калібрувальною кривою із поправкою на обсяг тканини.

Кількісне визначення вмісту пірувату за методом Цоха–Лампрехта

Принцип методу полягає в тому, що за наявності лактатдегідрогенази (LDH) піруват відновлюється до лактату за рівнянням:



Кількість пірувату, що витрачається у реакції, еквімолярна кількості NADH, зниження концентрації якого визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 340 нм.

Реактиви:

- 0,5 М буфер Tris-HCl амінометану, рН 7,6;
- 0,06 М розчин NADH;
- лактатдегідрогеназа (активність 700 од./мг).

Проведення досліджень:

0,8 мл безбілкового екстракту додавали до 1,2 мл буфера Tris-HCl. Реакцію ініціювали додаванням 0,05 мл розчину LDH. Оптичну густина вимірювали перед початком реакції (E_1) і через 4 хвилини (E_2). Кількість пірувату розраховували за формулою:

$$C = \frac{\Delta E \cdot K \cdot V}{6.22}$$

де: ΔE ($E_2 - E_1$);

V - об'єм розчину у кюветі;

K - коефіцієнт розведення зразка відносно тканини.

Кількісне визначення малату за методом Гогорста

Принцип методу полягає в тому, що за наявності малатдегідрогенази (MDH) малат перетворюється в оксалооцтову кислоту. Зв'язування оксалооцтової кислоти гідразиново-гліциновим буфером забезпечує повне окиснення малату за реакцією:



Утворення відновленої форми NADH було еквімолярне кількості окисненого малату, а збільшення NADH реєстрували при довжині хвилі 340 нм.

Реактиви:

- 0,4 М гідразиново-гліциновий буфер, рН 9,5;
- 0,05 М розчин NAD^+ ;
- малатдегідрогеназа (активність 700 од./мг).

Проведення досліджень:

0,2 мл безбілкового екстракту тканини додавали до 2,2 мл гідразиново-гліцинового буфера. Реакцію ініціювали додаванням 0,2 мл розчину NAD^+ . Оптичну густину вимірювали до початку реакції (E_1) та через 4 хвилини (E_2). Кількість малату розраховували за формулою:

$$C = \frac{\Delta E \cdot K \cdot V}{6.22}$$

Де: ΔE ($E_2 - E_1$);

V - об'єм розчину у кюветі;

K - коефіцієнт розведення зразка відносно тканини.

Визначення активності сукцинатдегідрогенази (СДГ)

Принцип методу полягає в наступному. Під дією СДГ жовтий калій гексаціаноферрат (III) $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ відновлюється сукцинатом до безбарвного калію гексаціаноферрату (II) $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Активність ферменту пропорційна кількості відновленого гексаціаноферрату (III).

Реактиви:

- 0,1 М сукцинат;
- 25 мМ калій гексаціаноферрат (III);
- 150 мМ натрію азид;
- 25 мМ EDTA (рН 7,8);
- 0,1 М фосфатний буфер (рН 7,8);
- 20% трихлороцтова кислота (ТХК).

Проведення дослідження:

У центрифужні пробірки поєднували 1 мл 0,1 М фосфатного буфера, 0,1 мл розчинів сукцината, EDTA, натрію азиду та дистильованої води. Потім додавали 0,5 мл дослідного зразка тканини і інкубували 5 хв для інгібування цитохромоксидази натрієм азидом. Реакцію запускали додаванням 0,1 мл розчину калій гексаціаноферрату (III). Зразки інкубували 10–15 хв при 30°C, після чого реакцію зупиняли охолодженням і додаванням 2 мл 20% ТХК. Контрольні зразки отримували додаванням ТХК перед внесенням гомогенату, в результаті чого фермент був денатурований із самого початку і специфічне відновлення не відбувалося. Після центрифугування (2000 об/хв при 15 °С, 15 хв) супернатант вимірювали фотометрично при 420 нм. Оптичним контролем слугував розчин 20% ТХК та 0,1 М фосфатного буфера у співвідношенні 1:1.

Активність ферменту (нмоль сукцината/хв на 1 мг білка) обчислювали за формулою:

$$A = \frac{1000 \cdot m}{2M \cdot a \cdot t}$$

Де: m — кількість відновленого калій гексаціаноферрату (III) у зразку,

a — вміст білка у зразку (мг),

M — молекулярна маса калій гексаціаноферрату (III),

t — час інкубації (хв).

Кількісне визначення лактату за методом Хохорста

Принцип методу полягає в тому, що за наявності лактатдегідрогенази (LDH) лактат перетворюється на піруват, а зв'язування утвореного пірувату з гідразиновогліциновим буфером забезпечує повне окиснення лактату за реакцією:



Утворення відновленої форми NAD було еквімолярним кількості окисненого лактату, збільшення NAD реєстрували при довжині хвилі 340 нм.

Реактиви:

- 0,4 М гідразино-гліциновий буфер, рН 9,5;
- 0,05 М розчин NAD⁺;
- лактатдегідрогеназа (активність 700 од./мг).

Проведення досліджень:

0,2 мг безбілкового екстракту тканини додавали до 2,0 мл гідразино-гліцинового буфера і 0,2 мл розчину NAD. Оптичну густина вимірювали перед початком реакції (E1) і через 4 хвилини (E2). Кількість лактату розраховували за формулою:

$$C = \frac{\Delta E \cdot K \cdot V}{6.22}$$

Де: ΔE ($E_2 - E_1$);

V - об'єм розчину у кюветі;

K - коефіцієнт розведення зразка відносно тканини.

Визначення активності NAD-залежної малатдегідрогенази

Принцип методу полягає у дослідженні активності NAD-залежної малатдегідрогенази у реакції прямого окиснення малату, де кількість окисненого малату еквімолярна кількості відновленого NADH. Збільшення концентрації NADH у зразках реєстрували при довжині хвилі 340 нм. Реакція протікала в лужному середовищі для сприяння окисненню малату.

Реактиви для інкубаційного середовища включали:

- натрієвий гліцин буфер 85 мМ (рН 10,0);
- D,L-натрієвий малат 85 мМ;
- NAD⁺ 25 мМ.

Хід дослідження:

Реакцію ініціювали додаванням 0,1 мл тканинного екстракту в 2,9 мл інкубаційного середовища. Оптичну густина вимірювали одразу (E₁) та через 3

хвилини (E_2) на довжині хвилі 340 нм. Активність ферменту виражали у мкмоль NADH, утвореного за хвилину на 1 мг білка, за формулою:

$$X = \frac{E \cdot V}{6.22 \cdot a}$$

Де: E — зміна оптичної густини за 3 хв ($E_2 - E_1$),

V — кінцевий об'єм зразка (3 мл),

a — концентрація білка у зразку.

Визначення відкриття мітохондріальної пори (МП)

Для визначення відкриття мітохондріальної мембранної пори використовували суспензію мітохондрій (1 мг білка на зразок), додану до інкубаційного середовища, що містить 70 мМ сахарози, 5 мМ HEPES, 70 мМ KCl, 0,5–1 мМ K_2HPO_4 при рН 7,4. Відкриття мітохондріального потенціалу мембрани (МПМ) вимірювали при 540 нм за 25 °С з постійним помішуванням протягом 25 хв.

Потенціал мембрани (Ψ)

Потенціал мембрани (Ψ) вимірювали у присутності флуоресцентного барвника сафранину О. Потенціал, що генерується на внутрішній мітохондріальній мембрані, реєстрували на спектрофотометрі в двохвимірному режимі (511–533 нм) із застосуванням сафранину О як потенціал-залежного зонду (18 мкМ). Вимірювання проводили у кюветі 10×10 мм, робочий об'єм 2 мл, у середовищі з 0,62 мМ NaCl та 40 мМ Caps (3-[циклогексиламіно]-1-пропансульфонова кислота)-NaOH (рН 10). Для дисипації потенціалу застосовували протон-оперон FCCP (п-трифторметоксіфенілгідрозон) та антипортер моненсин.

Набухання мітохондрій реєстрували на спектрофотометрі за зменшенням оптичної густини мітохондріальної суспензії при 540 нм.

Для біохімічних досліджень використовували спектрофотометр Eppendorf BioSpectrometer (USA) та спектрофлуориметр Agilent Fluorescence Spectrophotometer (USA).

2.10 Токсикологічні методи дослідження

Визначення гострої токсичності при внутрішньошлунковому введенні препарату у щурів.

Гостру токсичність таблеток «Гіпертрил» вивчали на 48 білих нелінійних білих безпородних щурах, самцях масою 190–220 г, (по 6 у кожній групі) після попереднього 10-денного карантину. Щурам внутрішньошлунково вводили кілька доз таблеткової маси Гіпертрилу у перерахунку на активну фармакологічну інгредієнту так, щоб одна доза не спричиняла загибелі тварин у групі, а максимальна — викликала 100% загибель. Таблеткову масу розчиняли у фізіологічному розчині з додаванням Твін-80 для отримання стабільної суспензії.

Параметри гострої токсичності таблеток «Гіпертрил» розраховували за методом Кербера. Оцінку дії одноразового введення розчину «Гіпертрил» проводили за наступними показниками: а) поведінка тварин; б) динаміка зміни маси тіла. Реєстрацію зазначених показників здійснювали у вихідному стані, на 7-й та 14-й дні після внутрішньошлункового введення досліджуваного препарату. Враховували загибель тварин у кожній групі. Загиблі тварини та живі після двотижневого спостереження піддавалися патологоанатомічному дослідженню.

Дослідження шкірноподразнюючої дії.

Дослідження проведені на 12 білих безпородних щурах, самицях масою 190–220 г, які утримувалися в стандартних умовах віварію (харчування та догляд). Готували 1% суспензію досліджуваних таблеток «Гіпертрил», яку наносили на підготовлену шкіру (із видаленим волоссяним покривом) боків дослідних тварин (п=6) двічі на день. Протягом подальших 2 тижнів здійснювали спостереження за станом шкірного покриву на місці аплікації та загальним станом тварин щодо можливого резорбтивного впливу препарату. Тваринам контрольної групи (п=6) на шкіру наносили розчин дистильованої води.

Визначення алергенної активності методом накожних аплікацій.

Експерименти проведені на 25 білих безпородних щурах самцях масою 190–220 г, після 10-денного карантину та стандартної дієти, методом випадкової вибірки

поділених на дослідну та контрольну групи по 5 тварин у кожній. На виголену ділянку шкіри бокової поверхні тулуба 5-ти білим щурам наносили по 3 краплі 1% суспензії "Гіпертрилу" протягом 2 тижнів, 5 разів на тиждень. Реакцію шкіри враховували щоденно за шкалою оцінки шкірних проб.

Цей експеримент дозволяє виявити ризик розвитку неалергічного контактного дерматиту залежно від дози досліджуваного фармакологічного засобу. Дослідження сенсibiliзуючої дії 1% розчину Гіпертрилу проводили шляхом 20 повторних накожних аплікацій на ділянку бокової поверхні тулуба розміром 4×4 см по 5 разів на тиждень. Дозування здійснювали піпеткою, по 3 краплі. Понад 20 накожних аплікацій проводити не рекомендується, оскільки вони можуть викликати гіпосенсибилізуючий ефект, особливо якщо препарат є слабким алергеном. Перше тестування проводили після 10 аплікацій, і у разі виявлення алергії подальше нанесення речовини припиняли. При негативному або сумнівному результаті кількість аплікацій доводили до 20, після чого тварин тестували повторно. Реакцію шкіри враховували щоденно за шкалою оцінки шкірних проб. Оцінку результатів алергічної активності Гіпертрилу методом накожних аплікацій проводили згідно з відповідною шкалою (Таблиця 2.1).

Таблиця 2.1

Шкала для оцінки аплікаційних шкірних тестів

Позначення реакції	Умовні позначення	Опис реакції
Негативна	-	Зміна шкіри відсутня
Сумнівна	±	Невелика еритема без набряку
Слабо позитивна	+	Еритема і набряк у місці аплікації
Позитивна	++	Еритема, набряк, папули
Різко позитивна	+++	Еритема, набряк, папули, поодинокі везикули
Дуже різко позитивна	++++	Еритема, набряк, папули, що зливаються везикули

Вивчення місцево-роздратівної дії на слизову оболонку очей

Цей тест є дуже чутливим і в низці випадків дозволяє виявити реакцію тварин на алерген при слабких або негативних шкірних тестах. Для постановки проби 1 краплю 1% суспензії Гіпертрин вводили очною піпеткою з витягнутим тонким кінцем під верхню повіку 5 білим безпородним щурам самцям, масою 190–220 г, У друге око (контрольний) вводили 1 краплю води. Закапування зручно проводити у положенні тварини лежачи головою вниз.

Реакції враховували через 15 хв (швидка реакція) та через 24–48 год (гіперчутливість уповільненого типу), оцінювали за наступною шкалою (у балах):

- 1 - легке почервоніння слъозового протоку;
- 2 - почервоніння слъозового протоку і склери в напрямку до рогівки;
- 3 - почервоніння слъозового протоку і склери, реакція супроводжується свербежем і при розчісуванні лапками можливий розвиток гнійного офтальміту. Офтальміт це запалення ока, яке може торкатися різних його структур (наприклад, райдужку, судинну оболонку, сітківку) Симптоми офтальміту варіюються і можуть включати почервоніння, біль, світлобоязнь, а також виділення.

Методика виявлення кумулятивної дії

Орієнтовну мінімальну інформацію можна отримати в гострих дослідженнях - шляхом визначення індексу кумуляції. Для цього розраховували значення $LD_{50(1)}$ - за результатами спостереження загибелі тварин у перші 24 години після введення препарату, а також $LD_{50(14)}$ - за результатами загибелі тварин протягом 14 днів після одноразового введення препарату.

Інтегративний індекс кумуляції I_k розраховували за формулою:

$$I_k = \frac{LD_{50(1)} - LD_{50(14)}}{LD_{50(1)}}$$

Вважається, що коли $LD_{50(1)}$ і $LD_{50(14)}$ співпадають, тобто I_k дорівнює 0, — кумуляція не виражена. Чим ближче I_k до 1 (тобто чим пізніше загибель тварин), тим більша ймовірність наявності кумулятивних властивостей препарату.

Для оцінки коефіцієнта кумуляції, який широко використовується в практиці фармакологів і токсикологів, застосовують метод, розроблений Ю.С. Каганом і В.В. Станкевичем (1964). Відповідно до цього методу коефіцієнт кумуляції $K_{\text{кум}}$ обчислюють за формулою:

$$K_{\text{кум}} = \frac{ED_{50}^n}{ED_{50}^1}$$

де ED_{50}^n - сумарна середньоєфективна (летальна) доза в підгострому експерименті при введенні біологічно активної речовини рівними дозами з добовим інтервалом; ED_{50}^1 - ефективна (летальна) доза при одноразовому введенні.

Для досягнення результату достатньо протягом двох місяців протестувати три дози препарату, які складають 1/5, 1/10 і 1/20 від ED_{50} .

У нашому дослідженні Гіпертрил вводили внутрішньошлунково 6 білим безпородним щурам, самцям масою 190–220 г, у дозі 100 мг/кг, що становить 1/6 від LD_{50} , протягом 90 днів.

За класифікацією Л.І. Медведя та співавторів (1968) на основі коефіцієнта кумуляції можна зробити такі висновки:

- якщо $K_{\text{кум}} < 1$ - це свідчить про надкумуляцію;
- якщо $K_{\text{кум}} = 1 \dots 3$ - означає наявність вираженої кумуляції;
- якщо $K_{\text{кум}} = 3 \dots 5$ - спостерігається помірна кумуляція;
- якщо $K_{\text{кум}} > 5$ - кумулятивні властивості речовини слабо виражені.

2.11 Ідентифікація та кількісне визначення

Ідентифікацію та кількісне визначення броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазоліа в таблетованій лікарській формі проводили методом ВЕРХ (ДФУ*, 2.2.29). Методика аналізу подана у розділі 4, п.4.1 «Розробка методу стандартизації таблеток гіпертрилу методом високоефективної рідинної хроматографії».

2.12 Статистичний аналіз

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою програми «Statistica® for Windows» (StatSOFT, Гамбург, Німеччина). Для порівняння груп використовували дисперсійний аналіз з повторними вимірами (ANOVA) або однофакторний ANOVA з подальшою поправкою Бонферроні, а також непараметричний критерій Крускала-Уолліса з поправкою Данна. Рівень статистичної значущості приймали при $p < 0,05$. Результати дослідження ЕКГ аналізували за допомогою стандартного статистичного пакету “STATISTICA for Windows 6.0” (StatSoftInc., №AXXR712D833214FAN5), “SPSS 16.0” і “Microsoft Office Excel 2003”. Для визначення наявності та характеру зв’язку між числовими змінними застосовували процедуру регресійного аналізу з використанням лінійних, логарифмічних, степеневих, експоненціальних, поліноміальних (другого і третього ступеня) моделей, забезпечуючи незалежність залишків за критерієм Дарбіна-Ватсона і нормальний розподіл залишків (при цьому для оцінки нормальності апроксимації використовувалися показники асиметрії та ексцесу). Нормальність розподілу оцінювали за допомогою тесту Шапіро-Уїлка. Дані подавали як середнє значення. Ступінь різниці між середніми значеннями визначали за допомогою t-критерію Стьюдента (при нормальному розподілі). Для розподілу, що відрізнявся від нормального, або аналізу порядкових змінних застосовували критерій Манна-Уїтні. Для порівняння незалежних змінних у більш ніж двох вибірках використовували аналіз варіансів (ANOVA) при нормальному розподілі або критерій Крускала-Валіса при відсутності нормальності.

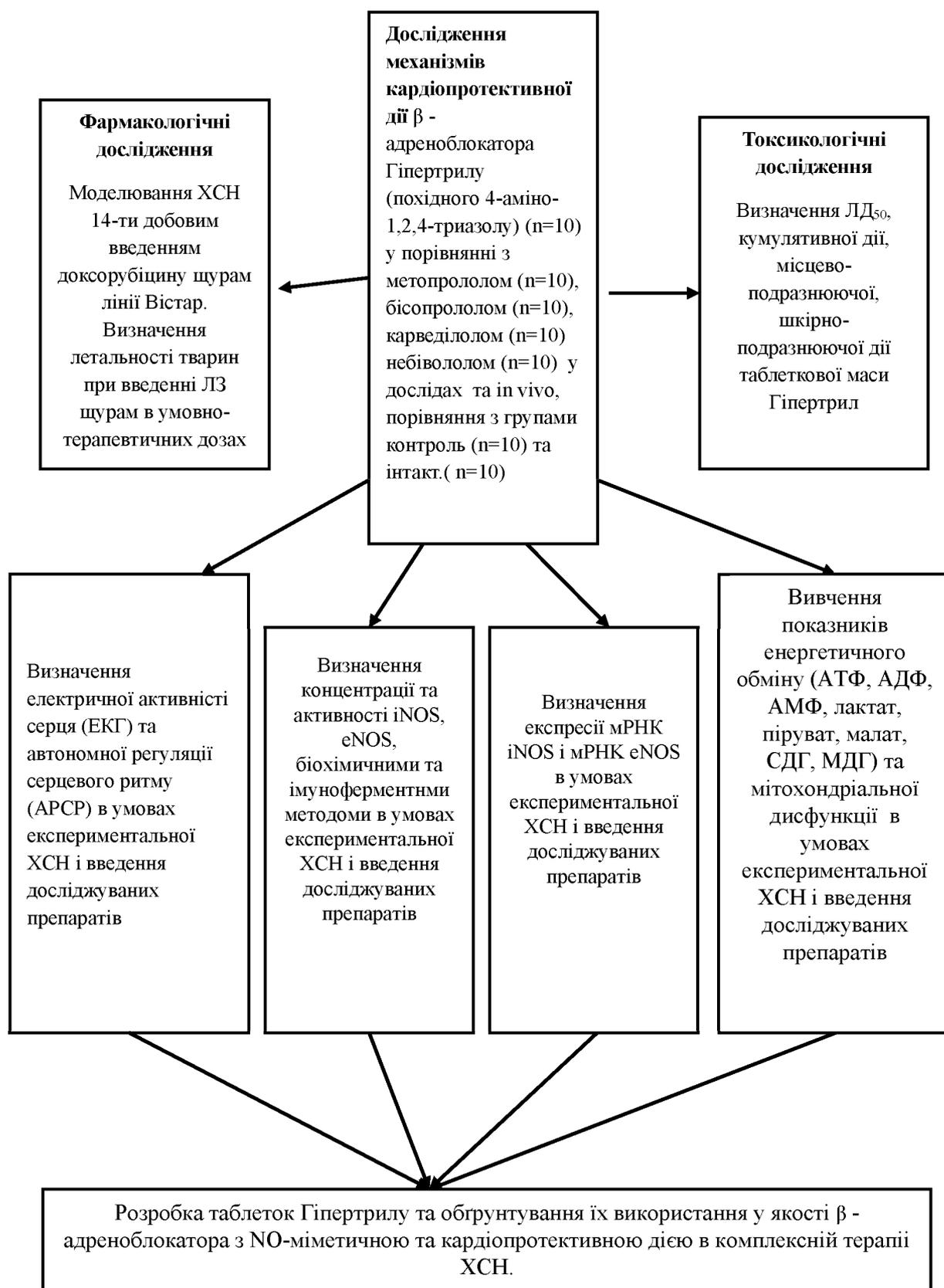


Рис. 2.2 - Дизайн дослідження

РОЗДІЛ 3.

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Вплив експериментальної терапії хронічної серцевої недостатності β -адреноблокаторами різних поколінь на електричну активність серця (ЕКГ) та автономну регуляцію серцевого ритму (АРРС)

У 45-денному дослідженні виживаності щурів інтактна група мала ідеальні показники виживання — усі 40 щурів успішно завершили дослідження. Контрольна група продемонструвала нижчу виживаність — лише 12 із 40 щурів вижили. Однак при лікуванні групи ХСН+Гіпертрин виживаність суттєво підвищилася до 95% — 38 із 40 щурів вижили. Серед груп лікування ХСН у комбінації з метопрололом сукцинатом і бісопрололом відмічено перспективні результати — у кожній групі вижили 24 із 40 щурів. У групі ХСН+карведилол виживаність була трохи нижчою — 20 із 40 щурів, а в групі ХСН+небіволол — 32 із 40 щурів успішно завершили дослідження.

Аналіз електричної активності міокарда в контрольній групі щурів під легкою анестезією, знятий у другому стандартному відведенні, показав регулярний серцевий ритм. Хвиля R мала більшу амплітуду порівняно з іншими хвилями ЕКГ, а сегмент ST знаходився трохи нижче базової лінії ($-0,006 \pm 0,009$ мВ). Щодо структури ЕКГ (Таблиця 3.1), тривалість електричної систоли передсердь (хвиля P) становила $15,111 \pm 0,209\%$, систоли шлуночків (комплекс QRS) — $18,182 \pm 0,419\%$, а тривалість електричної діастоли (інтервал TR) — $32,886 \pm 1,536\%$ тривалості серцевого циклу. Частота серцевих скорочень у окремих тварин варіювала від 317 до 451 удару на хвилину, у середньому 378 ± 4 уд./хв, що свідчить про нормальне функціонування серця у стані спокою у щурів. Отже, вплив легкої анестезії мінімально вплинув на роботу серця.

Таблиця 3.1.

Вплив препаратів на характеристику ЕКГ у стандартних відведеннях (M±m).

Показники	Серії досліджень			
	Інтакт ⁽¹⁾	ХСН ⁽²⁾	ХСН + метопролол ⁽³⁾	ХСН + Гіпертрил ⁽⁴⁾
ЧСС, хв ⁻¹	378±4	497±6 ^{1,3,4,5,6,7}	437±6 ^{1,2,4}	400±2 ^{1,2,3,5,6,7}
Амплітуда зубців, мВ				
P	0.048±0.004	0.019±0.005 ^{1,4,5,6,7}	0.032±0.003 ^{1,4,6,7}	0.061±0.004 ^{2,3,5}
R	0.371±0.027	0.202±0.013 ^{1,4,5,6,7}	0.192±0.01 ^{1,4,5,6,7}	0.359±0.033 ^{2,3}
T	0.114±0.009	0.066±0.015 ^{1,3,4,5,6,7}	0.059±0.011 ^{1,4,5,6,7}	0.148±0.010 ^{1,2,3}
ST	-0.006±0.009	0.103±0.008 ^{1,3,4,5,6,7}	0.029±0.011 ^{1,2,4,6,7}	-0.013±0.008 ^{2,3}
Тривалість серцевого циклу, мс				
RR	159.9±1.7	122.5±1.6 ^{1,3,4,5,6,7}	137.1±1.8 ^{1,2,4}	149.4±1.0 ^{1,2,3}
SDNN	2.657±0.178	1.547±0.192 ¹	1.614±0.243	1.829±0.225
Тривалість серцевих інтервалів, % до тривалості серцевого циклу RR				
P	15.111±0.209	17.956±0.364 ^{1,3,4,5,6,7}	12.356±0.493 ^{1,2,4}	14.601±0.397 ^{2,3,5}
PQ	8.954±0.369	8.538±0.440 ^{3,4,5,6,7}	10.849±0.602 ^{1,2,4}	5.240±0.387 ^{1,2,3,5,6,7}
QRS	18.182±0.419	21.520±0.642 ^{1,3,4,5,7}	19.454±0.339 ^{1,2,4,5,6}	18.137±0.246 ^{2,3,5,6}
T	24.864±0.959	30.280±0.967 ^{1,3,4,5,6,7}	33.058±0.859 ^{1,2,4,5,6}	27.473±0.866 ^{2,3,5,6,7}
TP	32.886±1.536	21.704±1.240 ^{1,4,5,6,7}	24.28±1.474 ^{1,4,5,6,7}	34.546±0.842 ^{2,3,5}

Таблиця 3.1 (продовження)

Вплив препаратів на характеристику ЕКГ у стандартних відведеннях (M±m).

Показники ЕКГ	Серії досліджень			
	ХСН ⁽²⁾	ХСН + бісопролол ⁽⁵⁾	ХСН + небіволол ⁽⁶⁾	ХСН + карведилол ⁽⁷⁾
ЧСС, хв ⁻¹	497±6 ^{1,3,4,5,6,7}	425±9 ^{1,2,4}	431±10 ^{1,2,4}	424±10 ^{1,2,4}
Амплітуда зубців, мВ				
P	0.019±0.005 ^{1,4,5,6,7}	0.044±0.005 ^{2,4}	0.055±0.008 ^{2,3}	0.064±0.010 ^{2,3}
R	0.202±0.013 ^{1,4,5,6,7}	0.359±0.033 ^{2,3}	0.398±0.033 ^{2,3}	0.318±0.040 ^{2,3}
T	0.066±0.015 ^{1,3,4,5,6,7}	0.148±0.010 ^{1,2,3,4}	0.152±0.025 ^{2,3}	0.165±0.022 ^{1,2,3}
ST	0.103±0.008 ^{1,3,4,5,6,7}	-0.022±0.034 ²	-0.021±0.021 ^{2,3}	-0.058±0.039 ^{2,3}
Тривалість серцевого циклу, мс				
RR	122.5±1.6 ^{1,3,4,5,6,7}	145.4±4.4 ^{1,2}	142.9±3.1 ^{1,2}	143.3±4.4 ^{1,2}
SDNN	1.547±0.192 ¹	1.726±0.181	1.800±0.245	1.957±0.223
Тривалість серцевих інтервалів, % до тривалості серцевого циклу RR				
P	17.956±0.364 ^{1,3,4,5,6,7}	12.282±0.827 ^{1,2,4}	13.186±0.316 ^{1,2,4}	13.209±0.729 ^{1,2}
PQ	8.538±0.440 ^{3,4,5,6,7}	12.196±0.935 ^{1,2,4}	11.005±0.994 ^{2,4}	11.046±0.756 ^{1,2,4}
QRS	21.520±0.642 ^{1,3,4,5,7}	14.317±0.943 ^{1,2,3,4,6}	22.917±0.557 ^{1,2,3,4,5,7}	16.626±0.826 ^{2,3,6}
T	30.280±0.967 ^{1,3,4,5,6,7}	22.724±1.291 ^{2,3,4,6}	17.685±0.816 ^{1,3,4,5,7}	22.952±1.183 ^{2,3,4,6}
TP	21.704±1.240 ^{1,4,5,6,7}	38.478±1.685 ^{1,2,3,4}	35.204±1.623 ^{2,3}	36.164±1.579 ^{2,3}

Примітка: достовірність змін $PST < 0,05$ у порівнянні з інтактними тваринами (1), тваринами з ХСН (2), при лікуванні метопрололом (3), Гіпертрилом (4), бісопрололом (5), небівололом (6), карведилолом (7).

Розвиток ХСН у експериментальних тварин супроводжувався також дизрегуляцією вегетативної функції серця, що проявлялося значним, приблизно в 4 рази, зниженням спектральної потужності серцевого ритму TPW при п'ятиразовому збільшенні індексу стресу SI. Абсолютна потужність

високочастотного компонента HF, що характеризує вплив парасимпатичного регуляторного компонента на ВСР, знизилася майже в 3 рази, а абсолютна потужність низькочастотного компонента LF, що характеризує вплив симпатичного регуляторного компонента на ВСР, знизилася в 2,5 рази. Водночас баланс симпатичної та парасимпатичної регуляції LF/HF зменшився в 2 рази ($p < 0,001$) на фоні загального зниження спектральної потужності серцевого ритму. Отримані дані свідчать про те, що розвиток ХСН у експериментальних тварин супроводжувався компенсаторним переважанням парасимпатичної регуляції серцевого циклу блукаючим нервом як відповідь на тахікардію та зниження спектральної потужності автономної регуляції ритму серця (Таблиця 3.2).

Таблиця 3.2

Вплив препаратів на спектральні характеристики вегетативної регуляції серцевого ритму ($M \pm m$).

Показники ВСР	Серії досліджень			
	Інтакт ⁽¹⁾	ХСН ⁽²⁾	ХСН + Метопролол ⁽³⁾	ХСН + Гіпертрил ⁽⁴⁾
PSD, mc^2	4.007±0.495	0.984±0.185 ^{1,4,5}	1.585±0.301 ^{1,4}	2.920±0.395 _{2,3,5,6,7}
ULF, mc^2	2.057±0.343	0.373±0.074 ^{1,4}	0.664±0.180 ¹	1.283±0.266 ^{2,5,6,7}
VLF, mc^2	1.565±0.168	0.615±0.167 ^{1,4}	0.721±0.130 _{1,4}	1.333±0.154 ^{2,3}
LF, mc^2	1.353±0.243	0.528±0.126 ^{1,4}	0.549±0.182 _{1,4}	1.623±0.264 _{2,3,5,6,7}
HF, mc^2	0.572±0.097	0.203±0.037 ^{1,4}	0.329±0.075 _{4,5,6,7}	0.663±0.099 _{2,3,5,6,7}
LF норм., %	70.884±1.318	50.984±4.370 _{1,4,5,6,7}	60.878±4.862 _{4,5,6}	71.441±0.684 _{2,3,5}
HF норм., %	29.115±1.318	49.015±4.370 _{1,4,5,6,7}	39.121±4.862 _{4,5,6}	28.558±0.684 _{2,3,5}
LF/HF (норм.)	2.624±0.176	1.404±0.240 _{1,4,5,6,7}	2.002±0.284 _{5,6,7}	2.545±0.080 ^{2,5}

Таблиця 3.2 (продовження)
Вплив препаратів на спектральні характеристики вегетативної регуляції серцевого ритму (M±m).

Показники BCP	Серії досліджень			
	Інтакт ⁽¹⁾	ХСН ⁽²⁾	ХСН + Метопролол ⁽³⁾	ХСН + Гіпертрил ⁽⁴⁾
IC	0.257±0.036	0.231±0.043 ⁶	0.185±0.027 ^{5,6,7}	0.204±0.020 ^{5,6}
SI	8589±734	42154±4752 ^{1,4,5,6,7}	31278±5028 ^{1,4,5,7}	15514±592 ^{1,2,3,5,7}
APR	554±16	739±43 ^{1,4,5,6}	767±38 ^{1,4,5,6,7}	568±32 ^{2,3}
PSD, мс ²	0.984±0.185 ^{1,4,5}	1.785±0.341 ^{1,2,4}	1.150±0.177 ^{1,4}	1.328±0.15 ^{1,4}
ULF, мс ²	0.373±0.074 ^{1,4}	0.442±0.112 ^{1,4}	0.420±0.141 ^{1,4}	0.464±0.129 ^{1,4}
VLF, мс ²	0.615±0.167 ^{1,4}	0.978±0.231 ¹	0.970±0.326	1.114±0.299
LF, мс ²	0.528±0.126 ^{1,4}	0.387±0.044 ^{1,4}	0.310±0.070 ^{1,4}	0.300±0.057 ^{1,4}
HF, мс ²	0.203±0.037 ^{1,4}	0.139±0.011 ^{1,3,4}	0.150±0.016 ^{1,3,4}	0.128±0.012 ^{1,3,4}
LF норм., %	50.984±4.370 ^{1,4,5,6,7}	74.328±0.262 ^{1,2,3,4}	72.390±2.414 ^{2,3}	72.450±2.927 ²
HF норм., %	49.015±4.370 ^{1,4,5,6,7}	25.671±0.262 ^{1,2,3,4}	27.610±2.414 ^{2,3}	27.550±2.927 ²
LF/HF	1.404±0.240 ^{1,4,5,6,7}	2.884±0.038 ^{2,3,4}	2.820±0.262 ^{2,3}	3.200±0.487 ^{2,3}
IC	0.231±0.043 ⁶	0.350±0.059 ^{3,4}	0.630±0.172 ^{1,2,3,4}	0.457±0.125 ³
SI	42154±4752 ^{1,4,5,6,7}	19144±803 ^{1,2,3,4}	19477±3648 ^{1,2}	20537±608 ^{1,2,3,4}
APR	739±43 ^{1,4,5,6}	501±27 ^{2,3,7}	537±43 ^{2,3}	624±40 ^{3,5}

Примітка: достовірність змін $PST < 0,05$ у порівнянні з інтактними тваринами (1), тваринами з ХСН (2), при лікуванні метопрололом (3), Гіпертрилом (4), бісопрололом (5), небівололом (6), карведилолом (7).

Введення метопрололу тваринам із серцевою недостатністю спричинило негативний хронотропний ефект, знизивши частоту серцевих скорочень на 12% ($p < 0,001$). Однак цей показник залишався на 16% вищим ($p < 0,001$), порівняно з інтактною групою тварин. У групі, що отримувала метопролол, спостерігалось значне зниження рівня підйому сегмента ST (понад у 3 рази порівняно з нелікованими тваринами), що свідчить про потенційні антиішемічні властивості препарату. Також відзначалося незначне збільшення амплітуди хвилі P (деполяризація передсердь), хоча її величина залишалася нижчою ($p = 0,01$) порівняно з інтактними щурами, при цьому скоротилася її тривалість ($p < 0,001$) як порівняно з нелікованими, так і з інтактними тваринами. Метопролол не впливав на амплітуду комплексу QRS (деполяризація шлуночків), проте частково нормалізував тривалість систоли шлуночків ($p = 0,005$ порівняно з тваринами з серцевою недостатністю). Метопролол мало впливав на амплітуду хвилі T (реполяризація міокарда) та тривалість електричної діастоли (інтервал TR). Таким чином, метопролол проявив помірний негативний хронотропний ефект і не мав суттєвого впливу на систолічну чи діастолічну дисфункцію серця.

Введення метопрололу тваринам із ХСН практично не впливало на спектральну потужність серцевого ритму TPW ($p > 0,05$) та індекс стресу SI ($p > 0,05$), а також індекс централізації IC ($p > 0,05$) і індекс вагосимпатичної взаємодії LF/HF ($p > 0,05$). Іншими словами, застосування метопрололу у тварин із серцевою недостатністю не мало значного впливу на баланс автономних механізмів регуляції частоти серцевих скорочень при експериментальній патології.

Введення Гіпертрилу тваринам із серцевою недостатністю спричинило негативний хронотропний ефект, що знизив частоту серцевих скорочень (ЧСС) на 20% ($p < 0,001$), що було лише на 6% вищим за інтактних тварин ($p < 0,001$). Після застосування Гіпертрилу електрокардіограма (ЕКГ) показала нормалізацію амплітуди передсердної (P) та шлуночкової (R) хвиль ($p > 0,05$), у той час як амплітуда хвилі реполяризації міокарда T збільшилася на 30% і перевищувала значення інтактних щурів, що можна пояснити покращеним енергозабезпеченням міокарда та більш раціональним використанням макроергічних сполук для

скоротливої функції серця. Побічним підтвердженням цього була інверсія сегмента ST нижче ізолінії, що досягала рівня інтактних тварин ($p > 0,05$). Введення Гіпертрилу нормалізувало тривалість фаз деполяризації передсердь (хвиля P) і шлуночків (комплекс QRS) до значень інтактних тварин ($p > 0,05$) та відновило тривалість електричної діастоли (інтервал TR, $p > 0,05$). Одночасно тривалість атріовентрикулярного сегмента PQ скоротилася і стала на 40% коротшою ($p < 0,001$), ніж у контрольних щурів. Отримані дані свідчать про те, що експериментальна терапія Гіпертрилом значно зменшувала систолічну та діастолічну дисфункції міокарда у тварин із серцевою недостатністю.

Введення Гіпертрилу тваринам із серцевою недостатністю значно збільшувало спектральну потужність серцевого ритму TPW у 3 рази ($p < 0,001$ порівняно з нелікованими тваринами та $p > 0,05$ порівняно з інтактними щурами) і знижувало індекс стресу SI у 2,6 рази ($p < 0,001$), який, однак, залишався в 1,8 рази вищим за рівень інтактних тварин ($p < 0,001$). Гіпертрил сприяв підвищенню потужності симпатичної (LF) та парасимпатичної (HF) регуляції варіабельності серцевого ритму до рівнів інтактною групи та нормалізував індекс вагосимпатичної взаємодії LF/HF ($p > 0,05$ порівняно з контрольною групою). Таким чином, введення Гіпертрилу тваринам із серцевою недостатністю свідчить про суттєве відновлення автономних механізмів регуляції частоти серцевих скорочень і балансу активності симпатичної та парасимпатичної гілок вегетативної нервової системи у контролі функції серця.

Введення бісопрололу у щурів із серцевою недостатністю спричинило негативний хронотропний ефект, знизивши частоту серцевих скорочень (ЧСС) на 15% ($p < 0,001$). Проте ЧСС залишалася на 12% вищою ($p < 0,001$) порівняно з інтактною групою тварин. ЕКГ показала нормалізацію амплітуд хвиль передсердь (P) і шлуночків (R) ($p > 0,05$ порівняно з інтактними тваринами), тоді як амплітуда хвилі реполяризації міокарда T збільшилася в 1,5 рази і була вища за значення у інтактних щурів ($p < 0,02$). Введення бісопрололу зменшило амплітуду сегмента ST, який став негативним, і хоча його амплітуда була меншою порівняно з інтактними тваринами, статистично значущих відмінностей не виявлено ($p > 0,05$). ЕКГ

показала скорочення тривалості хвилі деполяризації передсердь P, комплексів деполяризації шлуночків QRS та хвилі реполяризації T, а також збільшення тривалості електричної діастоли TR ($p < 0,001$ порівняно з нелікованими тваринами із серцевою недостатністю та $p < 0,02$ порівняно з інтактними тваринами).

Введення біспрололу тваринам із серцевою недостатністю призвело до збільшення спектральної потужності серцевого ритму TPW на 80% ($p < 0,001$), але вона залишалась на 65% нижчою у абсолютних значеннях порівняно з інтактною групою ($p < 0,001$). Біспролол не впливав на показники симпатичної (LF) та парасимпатичної (HF) регуляції варіабельності серцевого ритму і сприяв відновленню індексу вагосимпатичної взаємодії LF/HF ($p > 0,05$ порівняно з інтактними тваринами). Індекс стресу SI суттєво знизився під час терапії біспрололом у тварин із серцевою недостатністю, але залишався приблизно втричі вищим ($p < 0,001$) за рівень інтактних тварин.

Введення небівололу щурам із серцевою недостатністю спричинило негативний хронотропний ефект, знизивши частоту серцевих скорочень (ЧСС) на 13% ($p < 0,001$), при цьому цей показник залишався на 14% вищим ($p < 0,001$) порівняно з інтактною групою тварин. Небіволол призвів до нормалізації амплітуди передсердної (P) і шлуночкової (R) хвиль, а також хвилі реполяризації T міокарда шлуночків ($p > 0,05$ порівняно з інтактними тваринами) у щурів із серцевою недостатністю. Однак введення препарату знизило амплітуду сегмента ST, який став негативним, і хоч амплітуда була меншою порівняно з інтактними тваринами, статистичних відмінностей не виявлено ($p > 0,05$). Введення небівололу тваринам із серцевою недостатністю пришвидшило час деполяризації передсердь (хвиля P) та комплекс реполяризації шлуночків (хвиля T), які були на 13% та 29% коротшими ($p < 0,001$) відповідно, ніж у інтактних щурів. Одночасно відносна тривалість комплексу QRS не відрізнялася від значень у нелікованих щурів, а час атріовентрикулярного проведення (сегмент PQ) і тривалість електричної діастоли TR нормалізувалися до рівня інтактних тварин ($p > 0,05$).

Введення небівололу щурам із серцевою недостатністю практично не впливало на спектральну потужність серцевого ритму TPW ($p > 0,05$), яка

залишалася на 71% нижчою ($p < 0,001$) порівняно з інтактною групою. Хоча введення небівололу не мало статистичного впливу на абсолютні показники спектральної потужності симпатичної (LF) та парасимпатичної (HF) регуляції автономної регуляції ритму серця (APPC), спостерігалось зростання нормалізованої потужності симпатичної регуляції (LF norm) та зниження потужності парасимпатичної регуляції (HF) BCP ($p < 0,001$). Це сприяло нормалізації індексу вагосимпатичної взаємодії LF/HF ($p > 0,05$ порівняно з інтактними тваринами) та значному зростанню індексу централізації регуляторних систем IC ($p > 0,05$). Індекс стресу SI суттєво знизився під час лікування небівололом у тварин із серцевою недостатністю, але залишався у 2,3 раза вищим ($p < 0,002$) за рівень інтактних тварин

Введення карведилолу щурам із серцевою недостатністю спричинило негативний хронотропний ефект, знизивши частоту серцевих скорочень (ЧСС) на 15% ($p < 0,001$), при цьому цей показник залишався на 12% вищим ($p < 0,001$) порівняно з інтактною групою тварин. Карведилол призвів до збільшення амплітуди хвиль передсердь (P) та шлуночків (R) у тварин із серцевою недостатністю (відповідно у 3,3 та 57 разів), а також до зростання амплітуди хвилі реполяризації міокарда T, яка була на 45% вищою, ніж у інтактних тварин ($p < 0,05$). Водночас введення карведилолу знизило амплітуду сегмента ST, який став негативним, а його величина була порівнянною з інтактними тваринами ($p > 0,05$). Експериментальна терапія карведилолом сприяла нормалізації тривалості електричної систоли (комплекс QRS) та часу реполяризації шлуночків (хвиля T), а також тривалості електричної діастоли серця (інтервал TR) ($p > 0,05$ порівняно з інтактною групою щурів). Водночас відмічалось статистично значуще скорочення відносної тривалості систоли передсердь (хвиля P) та збільшення затримки атріовентрикулярного проведення (сегмент PQ) порівняно з нелікованими ($p < 0,005$) та інтактними тваринами ($p < 0,02$)

Введення карведилолу щурам із серцевою недостатністю не мало значного впливу на спектральну потужність серцевого ритму TPW, яка залишалась на 67% нижчою ($p < 0,001$) порівняно з інтактною групою і не показувала статистично

значущих відмінностей ($p > 0,05$) порівняно з нелікованими щурами. Введення карведилолу також не впливало статистично на абсолютні показники спектральної потужності симпатичної (LF) та парасимпатичної (HF) регуляції варіабельності серцевого ритму ($p > 0,05$). Проте спостерігалось збільшення нормалізованої потужності симпатичної регуляції (LF norm) і зниження потужності парасимпатичної регуляції (HF) варіабельності серцевого ритму ($p < 0,001$), що сприяло нормалізації індексу вагосимпатичної взаємодії LF/HF ($p > 0,05$ порівняно з інтактними тваринами). Індекс стресу SI суттєво знизився під час лікування карведилолом у тварин із серцевою недостатністю, але залишався в 2,4 раза вищим ($p < 0,001$) за рівень інтактних тварин.

Таблиця 3.3

Ранжування β -адреноблокаторів різного покоління (карведилол, бісопролол, небіволол, метопролол, Гіпертрин) за ефективністю дії при ХСН.

Ранги показників	Інтакт	ХСН (конт- роль)	Мето-пролол	Гіпертрин	Бісопролол	Небіволол	Карведилол
Хронотропна функція міокарда	3	1	1.5	2	1.5	1.5	1.5
Інотропна функція міокарда	3.5	1	1.5	4	3.5	3.5	4
Вегетативна регуляція серцевого ритму	3.5	1	1.5	3.5	2	2	2

Принцип: для ранжування ми взяли середні значення показників і обчислили модуль різниці з показниками тварин із ХСН. У цьому випадку індекс у групі ХСН був "0". Отримані результати відсортували за зростанням, тобто чим більше показник відрізнявся від "ХСН", тим вище він отримував ранг. Сума рангів у кожній групі нормалізовувалась за загальним рангом у групі ХСН. Для порівняння також наведено ранг у інтактній групі тварин.

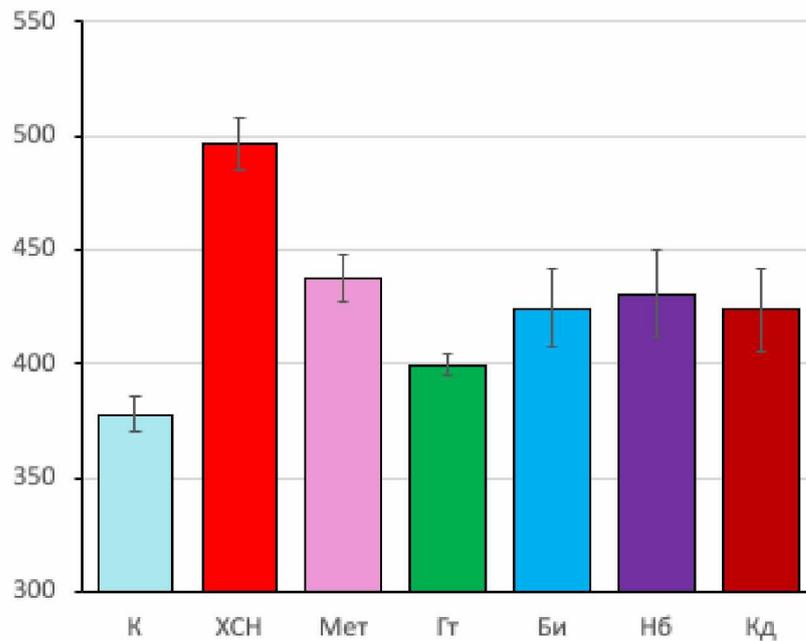


Рисунок 3.1 - Частота серцевих скорочень (хв⁻¹) при експериментальній терапії ХСН (середнє ± довірчий інтервал).

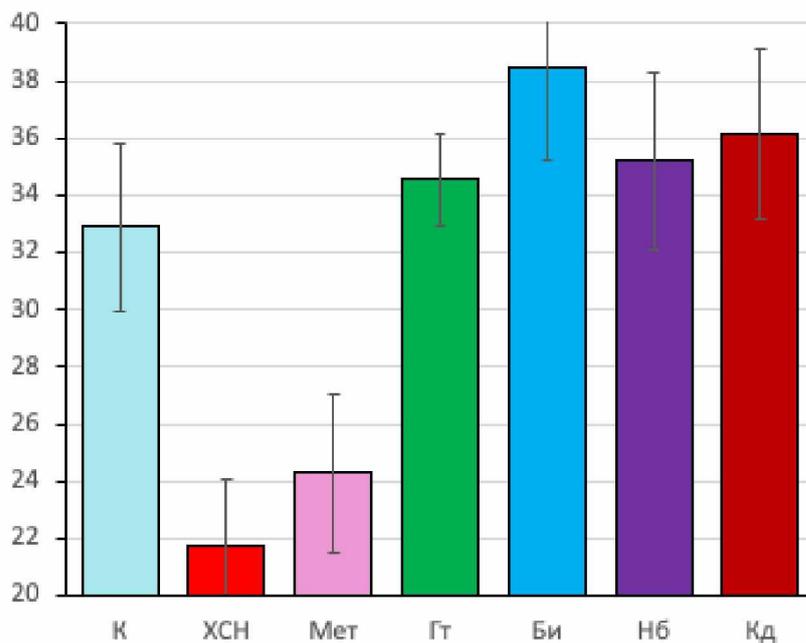


Рисунок 3.2 - Тривалість електричної діастолі (інтервал TP у % відносно тривалості серцевого циклу RR) при експериментальній терапії ХСН (середнє ± довірчий інтервал).

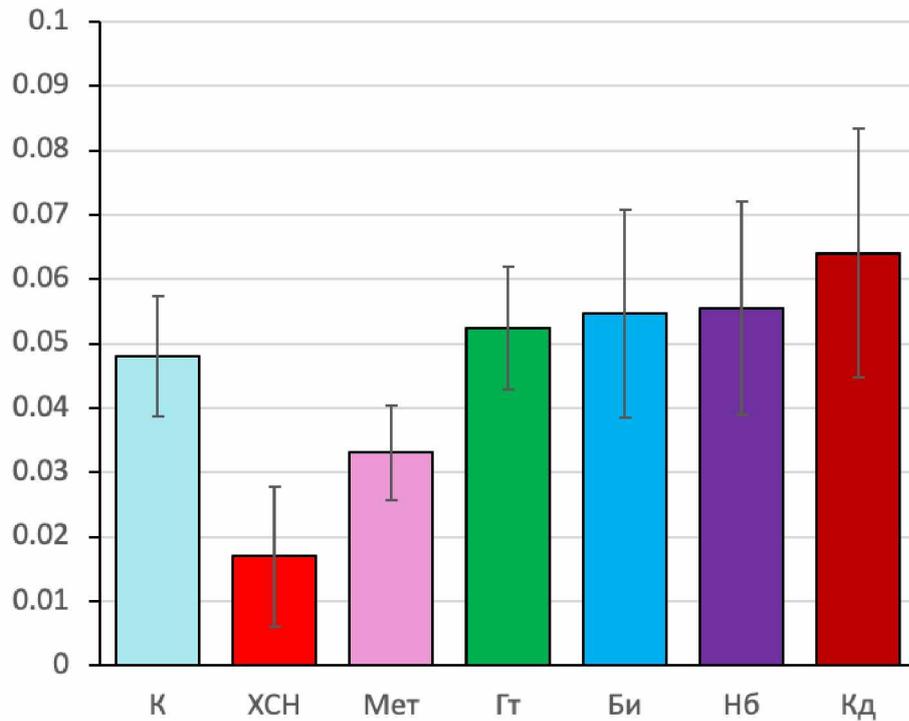


Рисунок 3.3 - Амплітуда зубця Р (мВ) при експериментальній терапії ХСН (середнє ± довірчий інтервал).

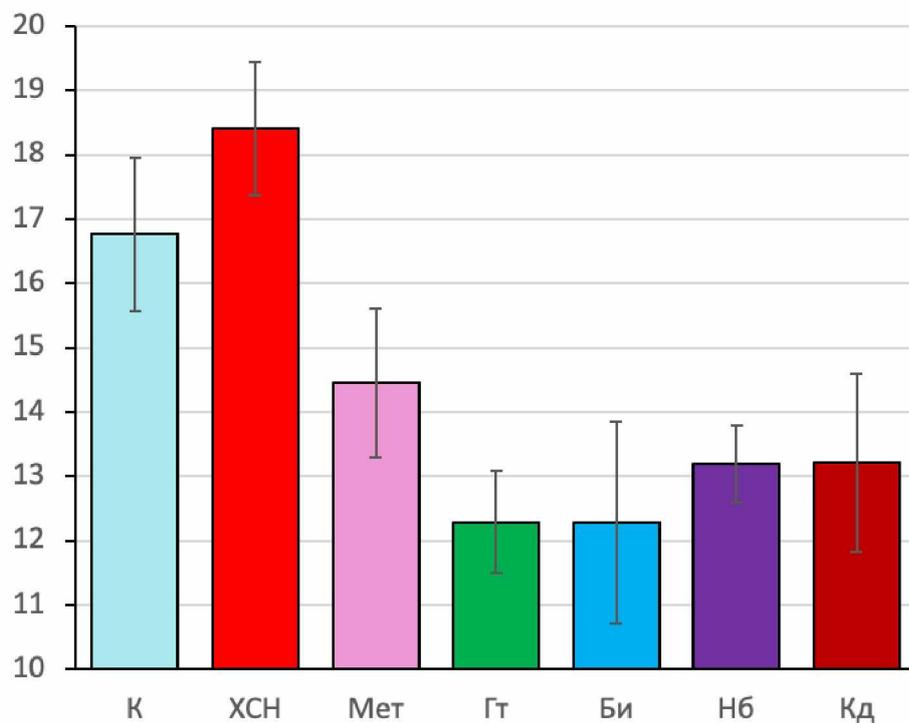


Рисунок 3.4 - Тривалість електричної систоли передсердь (зубець Р у % відносно тривалості серцевого циклу RR) при експериментальній терапії ХСН (середнє ± довірчий інтервал).

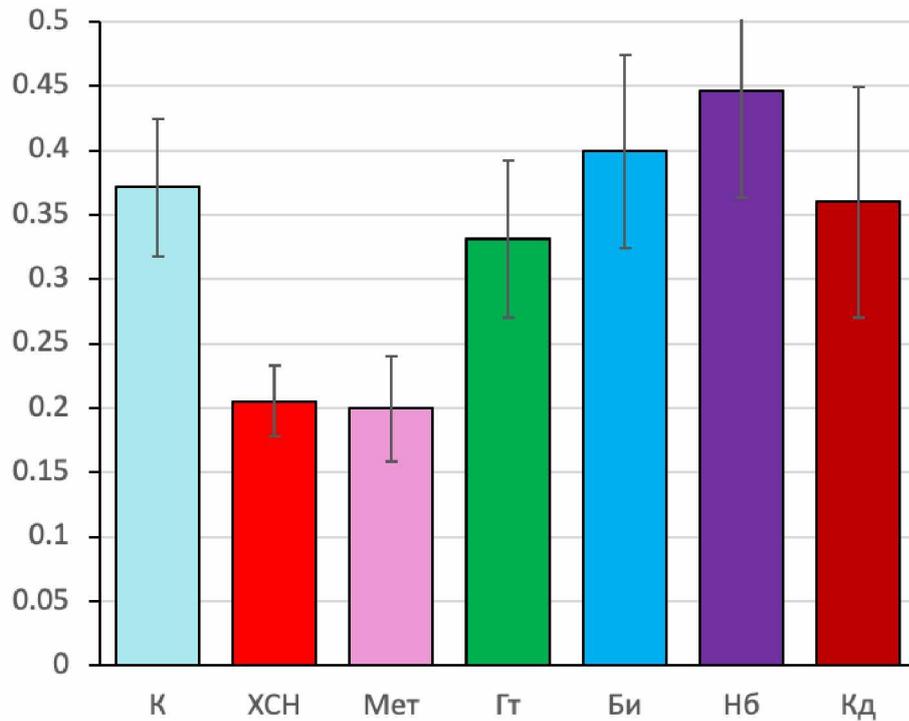


Рисунок 3.5 - Амплітуда зубця R (мВ) при експериментальній терапії ХСН (середнє \pm довірчий інтервал).

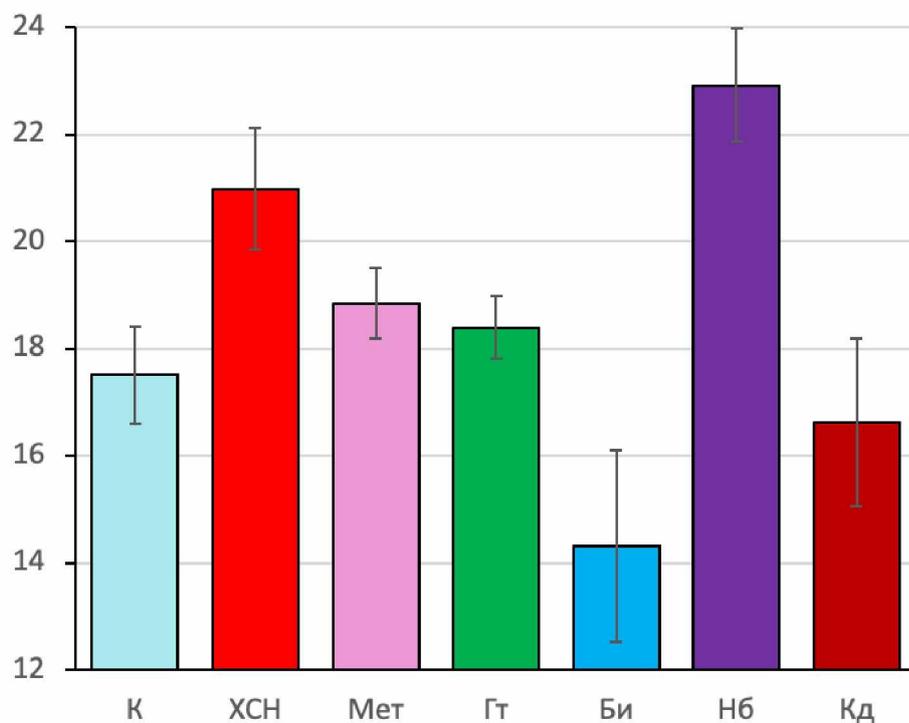


Рисунок 3.6 - Тривалість електричної систоли шлуночків (комплекс QRS у % відносно тривалості серцевого циклу RR) при експериментальній терапії ХСН (середнє \pm довірчий інтервал).

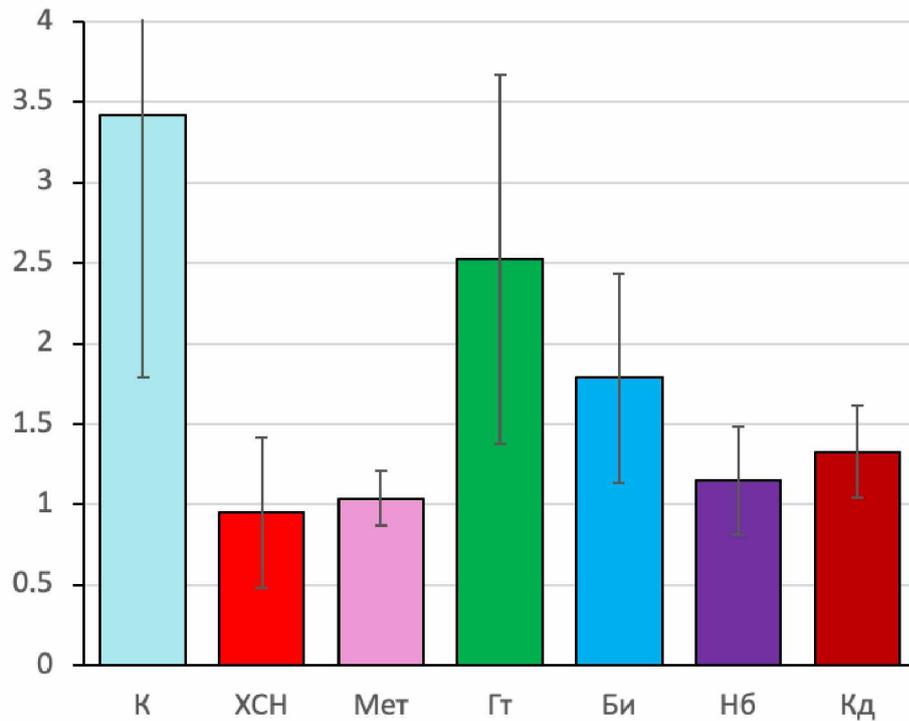


Рисунок 3.7 - Потужність спектра ВРСР (TP, мс²) при експериментальній терапії ХСН (середнє ± довірчий інтервал).

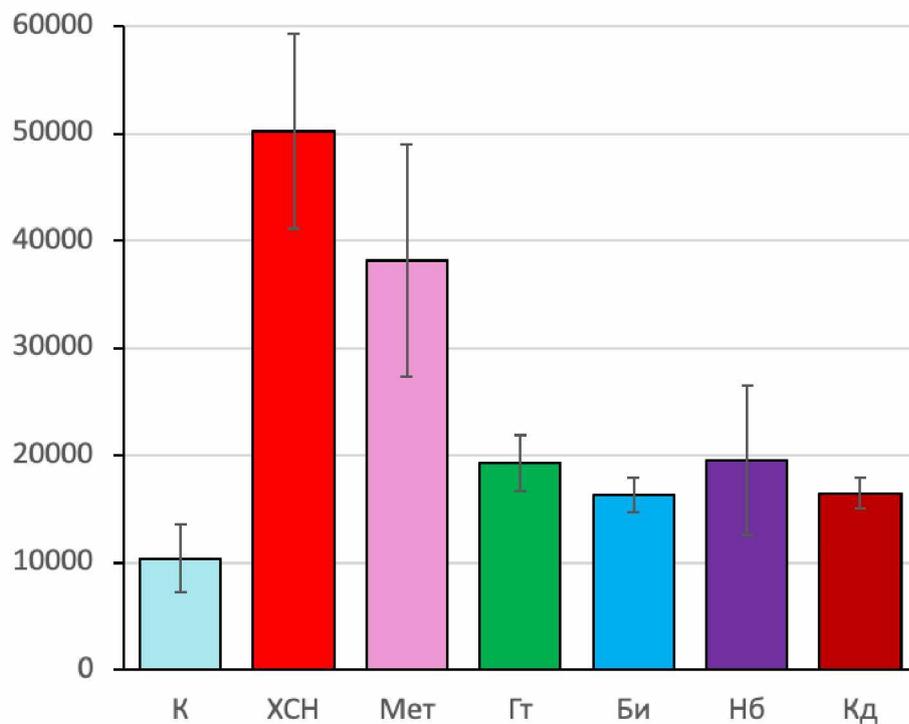


Рисунок 3.8 - Стрес-індекс (індекс напруження, SI) при експериментальній терапії ХСН (середнє ± довірчий інтервал).

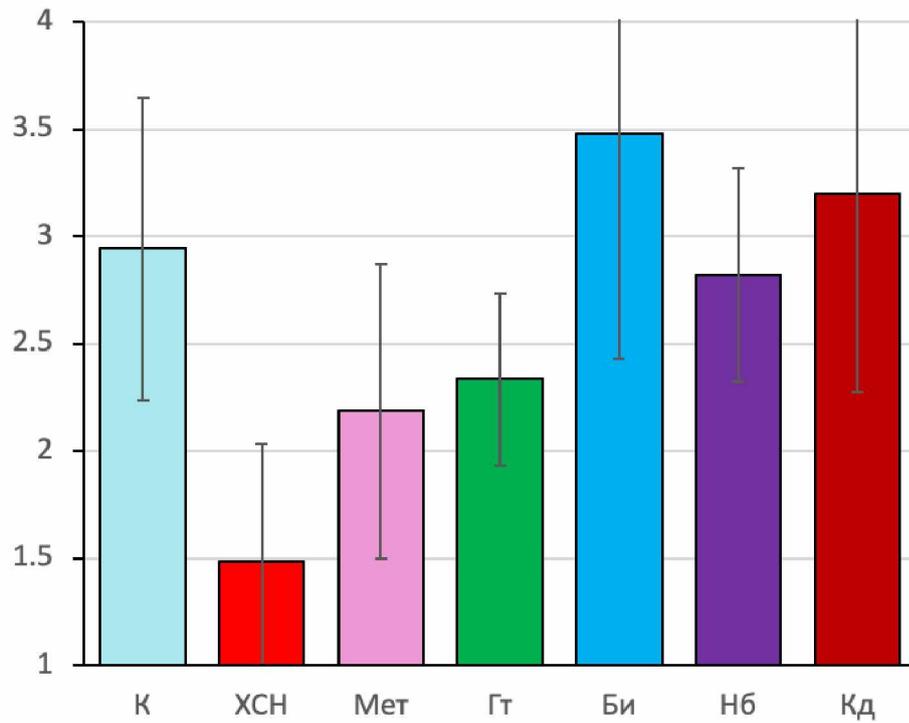


Рисунок 3.9 - Индекс вагосимпатичної взаємодії (LF/HF) при експериментальній терапії ХСН (середнє ± довірчий інтервал).

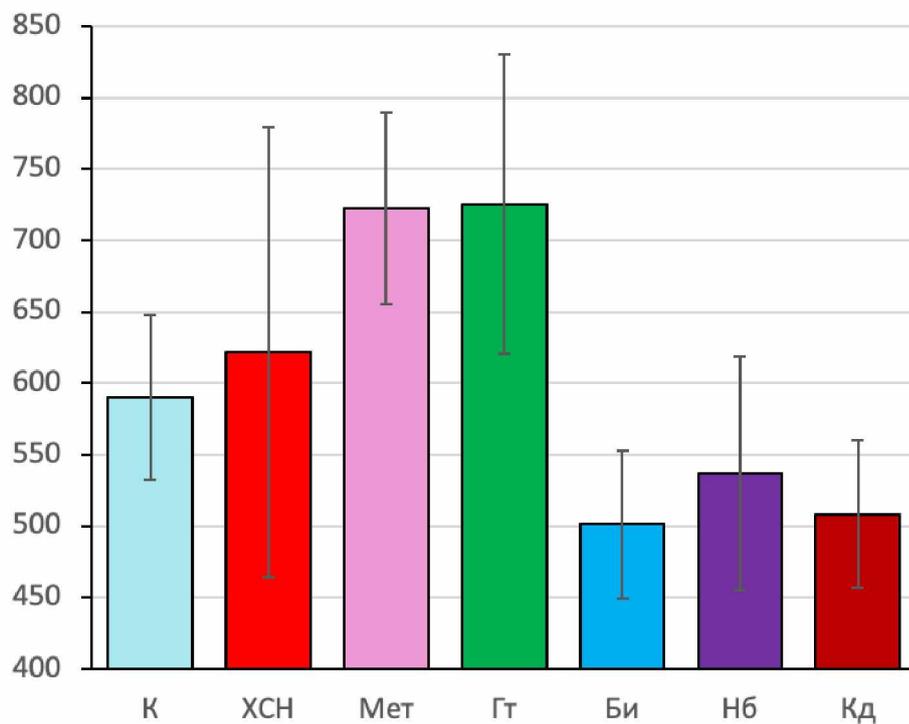


Рисунок 3.10 - Показник активності регуляторних систем (PAPR) при експериментальній терапії ХСН (середнє ± довірчий інтервал).

3.2 Стан нітродоксидергічної системи міокарда під час моделювання доксорубіцин-індукованої хронічної серцевої недостатності та введення β -адrenoблокаторів різних поколінь

Наші дослідження показали, що при моделюванні хронічної серцевої недостатності (ХСН) у цитозольних та мітохондріальних фракціях серця тварин відбувається суттєве гальмування активності загальної NO-синтетази (відповідно на 34,6% та 21%), зниження рівня стабільних метаболітів NO — нітритів (на 30% та 33%) на фоні дефіциту тіолових сполук (на 74,1%). Такі зсуви у системі NO/редукованих тіолів призводять до зниження біодоступності NO та його перетворення у пероксинітрит, про що свідчить підвищення рівня нітротирозину у цитозолі та мітохондріях міокарда (у 4,3 та 3,1 раза відповідно) (таблиця 3.4 та таблиця 3.5). Результати біохімічних досліджень підтвердили дані імуногістохімії (рисунок 1 та рисунок 2) та ферментного імуноаналізу, які виявили зниження густини eNOS-позитивних клітин на 59% ($p < 0,05$) та збільшення густини iNOS-позитивних клітин на 142% ($p < 0,05$) порівняно з аналогічними показниками інтактної групи (таблиця 3.6), а також зниження експресії eNOS у цитозолі міокарда на 65% ($p < 0,05$) і збільшення iNOS у 3,9 раза ($p < 0,05$) (таблиця 3.7).

Наші дані не суперечать результатам інших дослідників, які показали, що при ХСН у щурів спостерігається зниження синтезу NO у стінці аорти, зниження активності eNOS та підвищення активності iNOS у серці. Афіність eNOS до доксорубіцину значно вища, ніж у інших міокардіальних редуктаз; тому доксорубіцин викликає її інгібування як у цитозолі, так і в мітохондріях, що призводить до зменшення утворення NO та збільшення продукції реактивних форм кисню (ROS). Оскільки ендотеліоцити становлять перший бар'єр на шляху проникнення доксорубіцину в міокард, вони піддаються більш високим концентраціям препарату у порівнянні з кардіоміоцитами, що пояснює ранню чутливість коронарних судин до доксорубіцину порівняно з скоротливою функцією міокарда.

Однак збільшення експресії iNOS при ХСН не компенсує загальну активність NO-синтази. Утворений NO швидко перетворюється у цитотоксичний

пероксинітрит, який бере участь у хімічному руйнуванні білкових структур іонних каналів, рецепторів і особливо мітохондрій, про що свідчить більш значне підвищення рівня нітротирозину у мітохондріях серця щурів із ХСН. За допомогою гістоімунологічних досліджень було виявлено зниження густини eNOS-позитивних клітин у міокарді тварин із ХСН та підвищення густини iNOS-позитивних клітин. Ці спостереження свідчать, що формування ХСН після тривалого введення доксорубіцину відбувається на фоні пригнічення експресії eNOS, що має виражений кардіопротекторний ефект, і посилення експресії iNOS, який опосередковано бере участь у програмі апоптозу через активацію нітрузуючого стресу. Подібні зміни підтвержені даними ферментного імуноаналізу (таблиця 3.7). Введення β -адреноблокаторів різних поколінь експериментальним тваринам після формування ХСН продемонструвало такі результати. Найбільш перспективними з огляду на вплив на нітроксидергічну систему міокарда виявилися Гіпертрин і Небіволол, які істотно впливали на більшість визначених параметрів. Карведилол і Бісопролол також мають особливий інтерес. Метопролол не впливав на міокардіальну нітроксидергічну систему у моделі ХСН, викликаній доксорубіцином.

Таким чином, введення Гіпертрину тваринам із експериментальною ХСН призводить до нормалізації активності NO-синтази у цитозолі та мітохондріях міокарда завдяки збільшенню рівня eNOS (підвищення густини eNOS-позитивних клітин на 95,6% та збільшення експресії eNOS у 3 рази порівняно з контрольною групою, $p < 0,05$) (Таблиці 3.4-3.7), що сприяє підвищенню утворення NO (збільшення рівня нітритів на 37% у цитозолі та на 28% у мітохондріях ($p < 0,05$)) (Таблиця 3.7 та Таблиця 3.5). Початок лікування Гіпертрином спричинив нормалізацію експресії iNOS у міокарді (зниження густини iNOS-позитивних клітин на 56% та зниження експресії iNOS на 72% ($p < 0,05$)) (Таблиця 3.6 та Таблиця 3.7). Нормалізація співвідношення між eNOS та iNOS під впливом Гіпертрину призводить до гальмування реакцій нітрузуючого стресу, що проявляється у значному зниженні, порівняно з групою без лікування, рівня нітротирозину на 36% у цитозолі та на 55% у мітохондріях міокарда тварин із ХСН. Іншим важливим механізмом позитивного впливу Гіпертрину на нітроксидергічну систему міокарда є підвищення біодоступності NO. Ця властивість

тісно пов'язана з його антиоксидантною дією — збільшенням рівня редукованих тіолових сполук, молекул транспорту NO, при ХСН. У групі тварин із ХСН, які лікувалися Гіпертрилом, спостерігалось гальмування споживання редукованих тіолів у цитозолі міокарда в реакціях окислювального стресу. У групі Гіпертрилу цей показник був вищим за контролем на 65,4% ($p < 0,05$). Примітно, що концентрація NOx у цитозолі й мітохондріях тварин із ХСН, які отримували Гіпертрил, була вищою за контрольні показники на 37% та 28% ($p < 0,05$) відповідно.

Введення небівололу призвело до схожих за напрямом, але менш виражених ефектів на нітросидергічну систему міокарда. Так, небіволол підвищував активність NO-синтази в цитозолі міокарда щурів із ХСН на 29%, концентрацію eNOS — на 143%, густину eNOS-позитивних клітин у міокарді — на 34,7%, що супроводжувалося збільшенням метаболітів NO на 26% ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою. Небіволол не впливав на показники нітросидергічної системи мітохондрій міокарда. Водночас у небівололу відзначали значний антиоксидантний ефект: препарат знижував рівень нітротирозину у цитозолі та мітохондріях міокарда на 21,6% і 26,4% ($p < 0,05$). Рівень редукованих тіолів у цитозолі міокарда щурів із ХСН під впливом небівололу підвищувався на 33% ($p < 0,05$). Крім того, небіволол нормалізував експресію iNOS у міокарді: концентрація iNOS зменшилася на 51%, а густина iNOS-позитивних клітин — на 26,4%.

Введення карведилолу щурам із ХСН, викликаною доксорубіцином, призводить до значного антиоксидантного ефекту, який перевищує за виразністю ефект небівололу, але поступається Гіпертрилу. У цитозолі та мітохондріях міокарда щурів із ХСН, які приймали карведилол, рівень нітротирозину знизився відповідно на 32% і 35% ($p < 0,05$), а загальна концентрація тіолових груп збільшилася на 42% ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою. Ймовірно, завдяки потужному антиоксидантному ефекту карведилол впливав на окремі показники нітросидергічної системи. За силою впливу на досліджувані параметри NO-системи карведилол поступався Гіпертрилу та небівололу. Введення карведилолу призвело до значного ($p < 0,05$) підвищення концентрації eNOS на 57% та густини eNOS-позитивних клітин, а також до зниження концентрації iNOS на 21% і густини iNOS-

позитивних клітин на 18% у міокарді щурів із ХСН. Карведилол також збільшував рівень метаболітів NO у цитозолі на 26% ($p < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою. Ці властивості карведилолу зумовлені його унікальним фармакологічним профілем, що поєднує β_1 -, β_2 - та α_1 -адреноблокуючу активність з потужним антиоксидантним, протизапальним і мембраностабілізуючим ефектом, що забезпечує покращення функції міокарда і зниження оксидативного стресу при ХСН.

Бісопролол суттєво впливав лише на концентрацію eNOS у міокарді щурів із ХСН. За силою впливу на цей показник він поступався Гіпертрилу, небівололу та карведилолу. Введення метопрололу щурам із ХСН не справляло значущого впливу на досліджувані параметри міокардіальної нітросидергічної системи.

Таблиця 3.4

Вплив досліджених β -адреноблокаторів на активність системи оксиду азоту в цитозольній фракції серцевої тканини тварин із ХСН

Група тварин	NOS, нмоль/хв/мг білка	NO мета- болітів (NOx), мкмоль/л	Поновлені тіоли, ммоль/г белка	Нітро- тирозин, пг/мл
Інтакт (n = 5)	12,7 ± 1,10	5,4 ± 0,38	457,2 ± 27,1	18,2±1,3
ХСН (контроль) (n = 10)	8,3 ± 0,52 ¹	3,8± 0,22 ¹	118,2 ± 10,4 ¹	128,2±14,5 ¹
ХСН+ Гіпертрил, 3,5 мг/кг (n=10)	11,5 ± 0,92*	5,2± 0,31*	195,5 ± 18,1*	61,5± 5,5*
ХСН+Карведилол 50 мг/кг (n=10)	8,7 ± 0,77	4,4 ± 0,11*	168,5 ± 14,2*	87,2±8,2*
ХСН+Небіволол, 10 мг/кг (n=10)	10,7 ± 0,68*	4,8 ± 0,22*	157,3 ± 12,7*	100,5±8,9*
ХСН + Бісопролол, 10 мг/кг (n=10)	7,7 ± 0,82	3,7 ± 0,15	115,3 ± 10,7	110,2±15,7
ХСН + Мето- пролол, 15 мг/кг (n=10)	7,9 ± 0,68	3,9 ± 0,28	119,2 ± 12,5	112,3±

Примітки:

Тут і далі в дужках зазначено кількість тварин, що вижили наприкінці експерименту.

* - зміни достовірні порівняно з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$);

¹ - зміни достовірні порівняно з тваринами інтактної групи ($p < 0,05$)

Таблиця 3.5

Вплив досліджених β -адреноблокаторів на активність системи оксиду азоту в мітохондріальній фракції серцевої тканини тварин із ХСН

Група тварин	NOS, нмоль/хв/мг білка	NO метаболітів (NOx), мкмоль/л	Нітротирозин, пг/мл
Інтакт (n = 5)	3,3 ± 0,2	2,1 ± 0,11	7,98±0,67
ХСН (контроль) (n = 10)	2,6 ± 0,2 ¹	1,4 ± 0,10 ¹	33,7±4,2 ¹
ХСН+ Гіпертрин, 3,5 мг/кг (n=10)	3,2 ± 0,1*	1,8 ± 0,09*	15,3±1,2*
ХСН+Карведилол 50 мг/кг (n=10)	2,4 ± 0,3	1,5 ± 0,12	21,8±4,3*
ХСН+Небіволол, 10 мг/кг (n=10)	2,8 ± 0,1	1,5 ± 0,17	24,7±2,2*
ХСН + Бісопро- лол, 10 мг/кг (n=10)	2,0± 0,4	1,2 ± 0,17	31,3±3,8
ХСН + Метопролол, 15 мг/кг (n=10)	1,6 ± 0,1	1,3 ± 0,14	32,7±4,5

Примітки:

* - зміни достовірні порівняно з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$);

¹ - зміни достовірні порівняно з тваринами інтактної групи ($p < 0,05$)

Таблиця 3.6

Вплив досліджених β -адреноблокаторів на щільність NOS-позитивних клітин у міокарді експериментальних тварин із ХСН

Група тварин	Щільність позитивних клітин eNOS-	Щільність позитивних клітин iNOS-
Інтакт (n = 5)	512,7±38,4	114,6±12,0
ХСН (контроль) (n = 10)	210,5±20,2 ¹	276,3 ± 21,4 ¹
ХСН+ гіпертрин, 3,5 мг/кг (n=10)	412,5±34,2*	122,5 ± 12,2* ¹
ХСН+Карведилол 50 мг/кг (n=10)	248,3±17,2*	203,3 ± 18,2*
ХСН+Небіволол, 10 мг/кг (n=10)	283,7±21,7*	203,8 ± 11,7*
ХСН + Бісопролол, 10 мг/кг (n=10)	229,8±43,2	269,2 ± 18,2
ХСН + Метопролол, 15 мг/кг (n=10)	211,4±22,4	280,2 ± 14,4

Примітки:

* - зміни достовірні порівняно з тваринами контрольної групи (p<0,05);

1 - зміни достовірні порівняно з тваринами інтактної групи (p<0,05)

Таблиця 3.7

Вплив досліджених β -адреноблокаторів на експресію ізоформ NOS у цитозолі міокарда експериментальних тварин із ХСН

Група тварин	iNOS, пг/мл	eNOS, пг/мл
Інтакт (n = 5)	22,4 ± 1,8	55,6 ± 3,7
ХСН (контроль) (n = 10)	87,4 ± 7,4 ¹	19,5 ± 2,3 ¹
ХСН+ Гіпертрин, 3,5 мг/кг (n=10)	24,2 ± 2,3*	58,5 ± 4,2*
ХСН+Карведилол 50 мг/кг (n=10)	68,5 ± 5,4*	30,7 ± 4,7*
ХСН+Небіволол, 10 мг/кг (n=10)	42,8 ± 3,4*	47,5 ± 3,2*
ХСН + Бісопролол, 10 мг/кг (n=10)	75,8 ± 10,3	27,7± 3,7*
ХСН + Метопролол, 15 мг/кг (n=10)	82,0 ± 9,4	17,7± 3,3

Примітки:

* - зміни достовірні порівняно з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$);

¹ - зміни достовірні порівняно з тваринами інтактної групи ($p < 0,05$)

3.3 Показники енергетичного метаболізму міокарда та мітохондріальної дисфункції при моделюванні ХСН (доксорубіцинова модель у щурів) та курсовому введенні β -блокаторів різних поколінь

Біохімічні дослідження виявили порушення енергетичного метаболізму міокарда та енергетичну недостатність у групі тварин із хронічною серцевою недостатністю (ХСН). Зокрема, 14-денне введення доксорубіцину призвело до зниження рівня АТФ у цитозолі міокарда на 50% та у мітохондріях на 55% на 45-й день експерименту. Паралельно зафіксовано зниження вмісту АДФ у цитозолі міокарда щурів з ХСН на 42% на фоні збільшення рівня АМФ на 75,3% (Таблиця 3.8).

Таблиця 3.8

Вміст аденілових нуклеотидів у цитозольній фракції міокарда тварин з експериментальною ХСН.

Група тварин	АТФ, мкмоль/г тканини	АДФ, мкмоль/г тканини	АМФ, мкмоль/ г тканини
Інтакт (n = 5)	3,8 ± 0,21	0,57 ± 0,02	0,154 ± 0,007
ХСН (контроль) (n = 10)	1,9 ± 0,12 ¹	0,33 ± 0,017 ¹	0,27 ± 0,014 ¹
ХСН+ Гіпертрин, 3,5 мг/кг (n=10)	2,7 ± 0,12* ¹	0,41 ± 0,010* ¹	0,169 ± 0,011* ¹
ХСН+Карведилол 50 мг/кг (n=10)	2,2 ± 0,09 ¹	0,36 ± 0,017 ¹	0,25 ± 0,017 ¹
ХСН+Небіволол, 10 мг/кг (n=10)	2,3 ± 0,07 ^{1*}	0,36 ± 0,021 ¹	0,23 ± 0,011* ¹
ХСН + Бісопролол, 10 мг/кг (n=10)	1,85 ± 0,14 ¹	0,35 ± 0,033 ¹	0,26 ± 0,034 ¹
ХСН + Метопролол, 15 мг/кг (n=10)	1,9 ± 0,11 ¹	0,34 ± 0,054 ¹	0,25 ± 0,017 ¹

Примітки:

У дужках зазначена кількість тварин, які вижили наприкінці експерименту.

*- зміни є статистично значущими у порівнянні з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$);

¹ -зміни є статистично значущими у порівнянні з тваринами інтактної групи ($p < 0,05$).

Також було зафіксовано дефіцит малату в цитозольній фракції міокарда на рівні 70% та зниження активності мітохондріальної NAD-залежної малатдегідрогенази (MDH) на 62% (Таблиці 3.9 і 3.10).

Таблиця 3.9

Вміст інтермедіатів енергетичного обміну у цитозолі серця тварин з експериментальною ХСН.

Група тварин	Лактат, мкмоль/ г тканини	Малат, мкмоль/ г тканини	Пируват, мкмоль/ г тканини
Інтакт (n = 5)	5,2 ± 0,31	0,36± 0,02	0,15± 0,01
ХСН (контроль) (n = 10)	12,1 ± 0,87 ¹	0,11± 0,01 ¹	0,071± 0,001 ¹
ХСН+ Гіпертрил, 3,5 мг/кг (n=10)	7,4 ± 0,44* ¹	0,21± 0,01* ¹	0,088± 0,001* ¹
ХСН+Карведилол 50 мг/кг (n=10)	10,2 ± 0,92 ¹	0,12± 0,02	0,072± 0,001 ¹
ХСН+Небіволол, 10 мг/кг (n=10)	8,10± 0,54* ¹	0,14± 0,01* ¹	0,080± 0,001* ¹
ХСН + Бісопролол, 10 мг/кг (n=10)	11,5 ± 0,42 ¹	0,12± 0,01 ¹	0,072± 0,003 ¹
ХСН + Метопролол, 15 мг/кг (n=10)	11,1 ± 1,2	0,12± 0,01 ¹	0,065± 0,002

Примітки:

У дужках зазначена кількість тварин, які вижили наприкінці експерименту.

*- зміни є статистично значущими у порівнянні з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$);

¹ -зміни є статистично значущими у порівнянні з тваринами інтактної групи ($p < 0,05$).

Таблиця 3.10.

Показники енергетичного обміну в мітохондріальній фракції тканини серця тварин з експериментальною ХСН

Група тварин	Лактат, мкмоль/ г тканини	НАД-МДГ, мкмоль/ мг білка/хв	СДГ, нмоль/ мг білка/хв	Відкриття МП, $\Delta E_{540\text{ нм}}$	Мембранний потенціал мітохондрій, (Ψ)	АТФ, мкмоль/ г тканини
Інтакт (n = 5)	1,5 ±0,08	1,71± 0,08	5,5± 0,28	0,052± 0,002	52,1±3,2	2,7 ± 0,12
ХСН (контроль) (n = 10)	2,7 ±0,14 ¹	0,65± 0,04 ¹	1,8± 0,10 ¹	0,63± 0,022	18,2±1,0 ¹	1,2 ± 0,03 ¹
ХСН+ Гіпертрин, 3,5 мг/кг (n=10)	1,7 ±0,15*	1,14± 0,08* ¹	3,1±0,17* ¹	0,31± 0,005* ¹	33,2±2,4* ¹	1,60 ± 0,15* ¹
ХСН+Карведилол 50 мг/кг (n=10)	2,5±0,19 ¹	0,67± 0,01 ¹	2,2± 0,14* ¹	0,44± 0,011* ¹	25,4±1,2* ¹	1,3 ± 0,11 ¹
ХСН+Небіволол, 10 мг/кг(n=10)	2,2 ±0,10* ¹	0,79± 0,04* ¹	2,6±0,11* ¹	0,47± 0,007* ¹	25,7±1,8* ¹	1,42 ± 0,07* ¹
ХСН+Бісопролол, 10 мг/кг(n=10)	2,3±0,18* ¹	0,67± 0,02 ¹	2,0± 0,22 ¹	0,63± 0,015 ¹	18,8±2,7 ¹	1,2 ± 0,25 ¹
ХСН+Метопролол, 15 мг/кг (n=10)	2,5±0,21 ¹	0,68± 0,03 ¹	2,1± 0,19 ¹	0,65± 0,011	19,3±3,0 ¹	1,2 ± 0,10 ¹

Примітки:

У дужках зазначена кількість тварин, які вижили наприкінці експерименту.

*- зміни є статистично значущими у порівнянні з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$);

¹ - зміни є статистично значущими у порівнянні з тваринами інтактної групи ($p < 0,05$).

Курс введення таблеток Гіпертрил щурам із ХСН призвів до зменшення проявів вторинної мітохондріальної дисфункції. Так, у тварин, які отримували курс Гіпертрил, спостерігали зниження відкриття мітохондріальної пори (МП) на 51% ($p < 0,05$), а також збільшення заряду внутрішньої мембрани мітохондрій міокарда на 82% ($p < 0,05$) у порівнянні з групою інтактних тварин (Таблиця 3.10). За цими показниками Гіпертрил перевищував дію як традиційних бета-блокаторів — метопрололу й бісопрололу, так і карведилолу та небівололу.

Біохімічні дослідження міокарда щурів з ХСН дозволили виявити особливості мітохондріопротекторної та антиішемічної дії Гіпертрилу. Зокрема, вміст АТФ у цитозольній та мітохондріальній фракціях у щурів, які отримували Гіпертрил, збільшився на 42% і 33% відповідно ($p < 0,05$). В цитозолі серця спостерігалось підвищення вмісту АДФ на 24% та зниження АМФ на 54% ($p < 0,05$) порівняно з відповідними показниками контрольної групи (Таблиці 3.8–3.10). У цитозольній і мітохондріальній фракціях гомогенату міокарда тварин із інфарктом міокарда під впливом Гіпертрилу зафіксовано зниження лактату на 38,8% і 37% відповідно, що свідчить про зниження активності низькоефективного гліколізу (Таблиця 3.9). Одночасно в мітохондріях міокарда щурів із ХСН, які отримували Гіпертрил, активність СДГ зросла на 72% ($p < 0,05$), а NAD-МДГ — на 75,3% ($p < 0,05$) порівняно з групою інтактних тварин. В цитозольній фракції гомогенату міокарда щурів з ХСН на фоні введення Гіпертрил вміст малату та пірувату значно підвищився на 90% і 24% відповідно.

Позитивні зміни у міокарді тварин під впливом Гіпертрилу свідчать про зниження проявів мітохондріальної дисфункції та активацію компенсаторних цитозольних–мітохондріальних шунтів синтезу АТФ, що зменшує енергетичний дефіцит.

Введення небівололу щурам з ХСН також мало позитивний вплив на енергетичний метаболізм міокарда. Зокрема, небіволол зменшував набухання мітохондрій на 25% ($p < 0,05$) та збільшував заряд мітохондрій на 41% ($p < 0,05$) порівняно з показниками групи інтактних тварин. Концентрація АТФ у цитозолі та мітохондріях міокарда збільшувалась на 21% і 18% відповідно ($p < 0,05$) на фоні

зниження АМФ ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем. Активність СДГ та NAD-МДГ зросла на 44% ($p < 0,05$) та 21,5% ($p < 0,05$) відповідно в мітохондріях міокарда щурів з ХСН порівняно з контролем. Введення небівололу призводило до зниження лактату в цитозолі на 33% і в мітохондріях на 18% ($p < 0,05$) та підвищення малату на 27% і пірувату на 12% ($p < 0,05$) у цитозолі серця порівняно з групою інтактних тварин з ХСН.

Введення карведилолу значно впливало на показники зменшення набухання мітохондрій (на 30%) та збільшення заряду мітохондрій (на 39%) у міокарді щурів з ХСН (Таблиця 3.10). Крім того, карведилол значно підвищував активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) на 15% у мітохондріях щурів з ХСН порівняно з контролем. Втім, введення карведилолу не мало суттєвого впливу на інші досліджені показники енергетичного метаболізму міокарда у щурів з ХСН (Таблиці 3.8–3.10). Традиційні бета-блокатори метопролол і бісопролол не справляли значного впливу на вивчені індекси енергетичного метаболізму у міокарді щурів із ХСН (Таблиці 3.8–3.10). Єдиним помітним ефектом у групі щурів із ХСН, які отримували курс бісопрололу, було зниження рівня лактату у мітохондріальній фракції міокарда на 14% ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3

1. Моделювання ХСН 14-добовим введенням доксорубіцину призводить до типових ішемічних уражень міокарда – формування стійкої систолічної та діастолічної дисфункції, дисрегуляції вегетативної функції серця, вторинної мітохондріальної дисфункції, активації анаеробного гліколізу, енергетичного дефіциту, зниження продукування NO, пригнічення експресії eNOS та підвищення експресії iNOS і нітрозативного стресу.
2. Курсове внутрішньошлункове введення метопрололу сукцинату (15 мг/кг), небівололу (10 мг/кг), карведилолу (50 мг/кг), бісопрололу (10 мг/кг) і, особливо, Гіпертрилу (3,5 мг/кг) протягом 30 діб експериментальним тваринам після моделювання ХСН різного ступеня вираженості зменшувало показники систолічної ($PST < 0,001$) та діастолічної ($PST < 0,001$) дисфункції

міокарда і сприяло відновленню вегетативних механізмів регуляції серцевого ритму ($PST < 0,001$) та збалансованості активності симпатичного ($PST < 0,001$) і парасимпатичного ($PST < 0,001$) відділів вегетативної нервової системи в контролі роботи серця при ХСН.

3. Курсове внутрішньошлункове введення метопрололу сукцинату (15 мг/кг), небівололу (10 мг/кг), карведилолу (50 мг/кг), бісопрололу (10 мг/кг) і, особливо, Гіпертрилу (3,5 мг/кг) протягом 30 діб експериментальним тваринам після моделювання ХСН різного ступеня вираженості призводить до нормалізації активності NOS ($p < 0,05$) у цитозолі та мітохондріях міокарда за рахунок підвищення eNOS (збільшення щільності eNOS-позитивних клітин ($p < 0,05$) і підвищення експресії eNOS ($p < 0,05$)), що таким чином сприяє збільшенню утворення NO (підвищення вмісту нітритів у цитозолі ($p < 0,05$) і мітохондріях ($p < 0,05$) міокарда). Також спостерігається нормалізація експресії iNOS у міокарді (зменшення щільності iNOS-позитивних клітин ($p < 0,05$) і зниження експресії iNOS ($p < 0,05$)), зниження нітротирозину ($p < 0,05$) та підвищення біодоступності NO порівняно з контрольною групою (неліковані тварини).
4. Курсове призначення метопрололу сукцинату (15 мг/кг), небівололу (10 мг/кг), карведилолу (50 мг/кг), бісопрололу (10 мг/кг) і, особливо, Гіпертрилу (3,5 мг/кг) протягом 30 діб експериментальним тваринам після моделювання ХСН різного ступеня вираженості призводило до зменшення проявів вторинної мітохондріальної дисфункції — зменшення відкриття мітохондріальної пори ($p < 0,05$), збільшення заряду внутрішньої мембрани мітохондрій міокарда ($p < 0,05$) на тлі підвищення АТФ і АДФ ($p < 0,05$), зниження лактату ($p < 0,05$), підвищення пірувату, малату та активності СДГ і НАДН-МДГ порівняно з групою нелікованих тварин.
5. За впливом на більшість досліджуваних показників ЕКГ, а також біохімічних, молекулярних та імуногістохімічних показників ураження серця в умовах ХСН Гіпертрил перевершує метопролол, бісопролол, карведилол ($p < 0,05$), що експериментально обґрунтовує створення його лікарської форми — таблеток.

Список публікацій за розділом 3:

1. Belenichev I., Goncharov O., Abramov A., Kucherenko L., Bukhtiyarova N., Makyeyeva L., Ryzhenko V, Semenov D. The state of the myocardial nitrooxidergic system during modelling of doxorubicin-induced chronic heart failure and the administration of β -blockers of various generations // *Farmacia*. - 2024. - Vol. 72, N 5. - P. 1048-1058. - <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.5.7>

2. Goncharov O, Belenichev I, Abramov A, Popazova O, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Pavliuk I (2023) Influence of experimental heart failure therapy with different generations of β -adrenergic blockers on Cardiac Electrical Activity (ECG) and Autonomic Regulation of Heart Rhythm (ARHR). *Pharmacia* 70(4): 1157–1165. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e110924>

3. Belenichev I, Goncharov O, Bukhtiyarova N, Kuchkovskyi O, Ryzhenko V, Makyeyeva L, Oksenysh V, Kamyshnyi O. Beta-Blockers of Different Generations: Features of Influence on the Disturbances of Myocardial Energy Metabolism in Doxorubicin-Induced Chronic Heart Failure in Rats. *Biomedicines*. 2024 Aug 28;12(9):1957. doi: 10.3390/biomedicines12091957

4. Aliyeva O.G., Belenichev I.F., Popazova O.O., Goncharov A.V. THE RELATIONSHIP BETWEEN CEREBRAL AND CARDIAC VASCULAR ENDOTHELIAL DISORDERS IN CARDIAC PATHOLOGY OF ISCHEMIC GENESIS“TISSUE REACTIONS IN THE NORM, EXPERIMENT AND CLINIC – 2025” ALL-UKRAINIAN SCIENTIFIC AND PRACTICAL CONFERENCE WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION DEDICATED TO THE 95TH ANNIVERSARY OF PROFESSOR ANDRIY KOLOMIITSEV May 29–30, 2025 Ukrainian scientific medical youth journal, 2025, Supplement 2 (155).-248-249 <http://mmj.nmuofficial.com>

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА СУЧАСНОГО МЕТОДУ СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТАБЛЕТОК ГІПЕРТРИЛУ МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ТА ОЦІНКА ЇХНЬОЇ НЕШКІДЛИВОСТІ

Нашими дослідженнями, результати яких відображені у розділі 3, показано переваги Гіпертрилу (бромиду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію), що проявляє β_1 -блокуючу дію з НО-міметичним ефектом і демонструє переваги над бета-блокаторами (карведилолом, бісопрололом, метопрололом і небівололом) в умовах експериментальної ХСН.

Для нового потенційного оригінального лікарського препарату, до якого входить бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію у вигляді субстанції вже проведено дослідження фармакологічної активності та токсичності. Результати досліджень показали, що субстанція броміда 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію відноситься до IV класу токсичності (малотоксичні сполуки).

Такі успішні фармакологічні дослідження спонукали до розробки ін'єкційної і таблетованої лікарських форм з діючою речовиною бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію.

Відомо, що препарати для лікування серцево-судинної системи в більшості випадків потрібно застосовувати протягом довготривалого часу, а іноді й усього життя. Більшість препаратів для лікування серцево-судинних захворювань застосовуються у вигляді таблеток.

Це пояснюється значними перевагами таблетованих лікарських форм над іншими, а саме – пероральним прийомом (тобто можливістю пацієнту самостійно приймати препарат без допомоги медичного персоналу, на відміну від парентеральних засобів). До позитивних якостей таблеток також відносять: зручність транспортування та зберігання (у порівнянні з порошками таблетки менше схильні до дії вологи, повітря і світла); точність дозування лікарських речовин, що вводяться в таблетки, особливо в умовах масового виробництва; пролонговану дію лікарських речовин; малий обсяг (портативність); менший

дискомфорт від гіркового або неприємного смаку або запаху лікарської речовини. Саме тому для нової оригінальної сполуки броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію створено таблетовану лікарську форму.

Раніше були проведені доклінічні дослідження броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію як антигіпертензивного препарату, що дало можливість встановити ED_{50} на тваринах і спрогнозувати доцільність його прийому людиною в дозі 20 мг на прийом. Беручи до уваги результати фармакологічних досліджень, науковцями кафедр фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології ЗДМФУ (завідувач кафедри – професор Бєленічев І.Ф.) та фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії (завідувачка – професор Кучеренко Л.І.) було розроблено технологію таблеток бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію із вмістом діючої речовини 20 мг. Діюча речовина – дрібнодисперсний порошок, технологічні властивості якого вказують на можливість отримання таблеток методом прямого пресування. Були проведені морфометричні дослідження субстанції та встановлено розміри часток порошку в діапазоні від 30,6 мкм до 101,5 мкм, середнє значення розміру часток складає 58,4 мкм (рис. 4.1.)

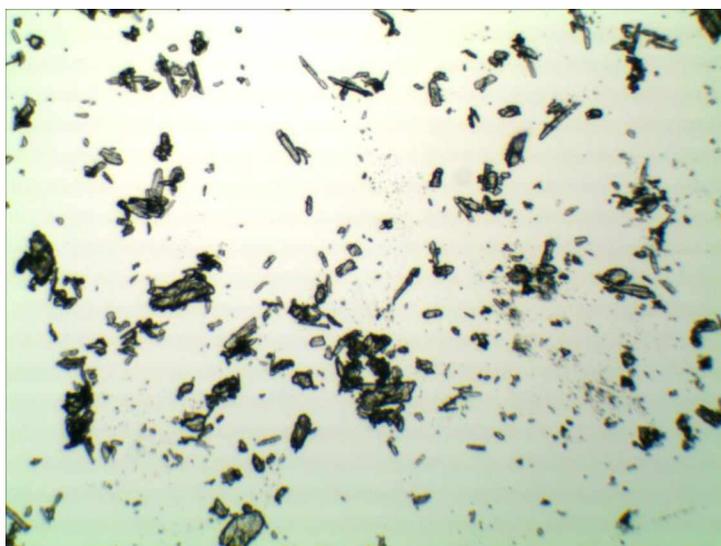


Рисунок 4.1 - Мікроснімок порошку субстанції бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію

Попередньо були проведені дослідження з вибору раціональних ДР з метою отримання таблеток броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію прямим

пресуванням. Досліджено шість груп допоміжних речовин, які володіють різними фізичними та технологічними властивостями (табл. 4.1).

Таблиця 4.1
Допоміжні речовини, які вивчалися при розробці
таблеток броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію

Фактори	Рівні факторів
1	2
<i>A</i> – зразки мікрокристалічної і силікатної целюлози	<i>a</i> ₁ - МКЦ 102 <i>a</i> ₂ - МКЦ 200 <i>a</i> ₃ - МКЦ 12 <i>a</i> ₄ - Prosolv 90 <i>a</i> ₅ - Prosolv 50
<i>B</i> – зразки дрібнодисперсних цукрів	<i>b</i> ₁ - лактоза моногідрат <i>b</i> ₂ - маніт (партек 200) <i>b</i> ₃ - неосорб Р 100 (сорбітол) <i>b</i> ₄ - гранулак 100 <i>b</i> ₅ - целактоза 80
<i>C</i> – розпушувачі	<i>c</i> ₁ - натрій кроскармелоза <i>c</i> ₂ - поліплаздон ХЛ 10 <i>c</i> ₃ - натрій крохмальгліколят <i>c</i> ₄ - натрій карбоксиметилкрохмаль <i>c</i> ₅ - МКЦ бурст
<i>D</i> – кристалічні речовини з розміром часток не менше 0,2 мм	<i>d</i> ₁ - цукор компрі О <i>d</i> ₂ - цукор компрі МЗ <i>d</i> ₃ - цукор компрі S <i>d</i> ₄ - кальцій дигідрофосфат безводний <i>d</i> ₅ - сорбіт
<i>E</i> – ковзні речовини	<i>e</i> ₁ - тальк <i>e</i> ₂ - крохмаль картопляний висушений <i>e</i> ₃ - крохмаль кукурудзяний висушений <i>e</i> ₄ - неусілін УС 2 <i>e</i> ₅ - аеросил 300
<i>F</i> – змащувальні речовини	<i>f</i> ₁ - магнію стеарат <i>f</i> ₂ - кальцію стеарат <i>f</i> ₃ - кислота стеаринова <i>f</i> ₄ - ПЕГ 4000 подрібнений <i>f</i> ₅ - натрію лаурилсульфат

Для створення таблеток броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію методом прямого пресування з 30 допоміжних речовин (зразки мікрокристалічної целюлози, зразки цукрів, зразки розпушувачів, зразки кристалічних речовин, ковзні речовини, змашувальні речовини) було відібрано сім оптимальних (МКЦ 102, Prosolv 90, маніт, натрію кроскармелоза, кальцію дигідрофосфат безводний, неусилін УС 2, кальцію стеарат).

Беручи до уваги результати дослідження якісного та кількісного співвідношення обраних допоміжних речовин, було розроблено оптимальний склад і технологію отримання таблеток бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію методом прямого пресування. Також було розроблено технологічну схему виробництва таблеток бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію, яка апробована на заводі ЗАТ «Лекхім» (м. Харків).

Беручи до уваги результати дослідження якісного та кількісного співвідношення обраних допоміжних речовин, проведених під керівництвом професора Мазура І.А., та професора Кучеренко Л.І., було розроблено оптимальний склад і технологію отримання таблеток броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію методом прямого пресування. Розроблено технологічну схему виробництва таблеток, яка апробована на заводі ЗАТ «Лекхім» (м. Харків). Склад таблеток броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію наведено в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

Склад таблеток броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію

Речовина	Вміст, г	Вміст, %
Бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію	0,020	10
МКЦ 102, Prosolv 90	0,082	41
Маніт	0,040	20
Натрію кроскармелоза	0,010	5
Кальцію дигідрофосфат безводний	0,040	20
Неусилін УС 2	0,006	3
Кальцію стеарат	0,0020	1

Середня маса	0,2000	
--------------	--------	--

На наступних етапах для створеного лікарського препарату постала необхідність розробки методик контролю якості.

4.1 Розробка методу стандартизації таблеток гіпертрилу методом високоефективної рідинної хроматографії

Для таблетованої лікарської форми броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію раніше було розроблено і валідовано спектрофотометричний метод кількісного визначення діючої речовини, який було розроблено проф. Кучеренко Л.І. та к.фарм.н. Парнюк Н.В. Але ми зацікавились можливістю удосконалити та модернізувати стандартизацію таблеток броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію. Взяли до уваги, що на сьогодні для визначення діючих речовин у готових лікарських формах найчастіше використовують метод ВЕРХ, який дозволяє одночасно ідентифікувати і кількісно визначити діючу речовину в лікарській формі. Також метод ВЕРХ має високу відтворюваність і точність, забезпечує визначення навіть дуже низьких концентрацій досліджуваних речовин, що є критично важливим при контролі якості лікарських засобів. Саме тому для виконання поставленої мети було обрано метод ВЕРХ.

У ході роботи ми використали 6 серій таблеток, діюча речовина – бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію, які виготовлено в лабораторних умовах. В якості робочого стандартного зразка використали стандартизовану субстанцію броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію вмістом 99,95% виробництва Державного підприємства «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України.

Хроматографічні дослідження проводили на базі лабораторії фізико-хімічного контролю ВТК, ДП "Завод хімічних реактивів" (м. Харків) (State Plant for Chemical Reagents Scientific and Technological Complex "Institute for Single Crystals"), сумісно з Людмилою Дудник.

Першим етапом розробки методики було дослідження хроматографічної поведінки діючої речовини броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазоліа, в результаті підібрано елюент і колонка, за допомогою якої в певних умовах можливо провести одночасну ідентифікацію та кількісне визначення.

Таким чином, для кількісного визначення броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазоліа в таблетованій лікарській формі було запропоновано використовувати наступні умови:

- колонка сталева розміром 4,6 мм×250 мм ZorbaxSB-C18 з розміром часток 5 мкм, або аналогічна;
- склад рухомої фази програмують згідно даних в таблиці 4.3;
- швидкість рухомої фази – 0,8 мл/хв.;
- температура колонки – 30°C;
- довжина хвилі реєстрації – 210 нм.

Таблиця 4.3

Склад рухомої фази

Час (хв.)	Вміст рухомої фази А	Вміст рухомої фази Б
0 – 5	100	0
5 – 15	100 – 0	0 – 100
15 – 25	0	100
25 – 30	0 – 100	100 – 0
30 – 35	100	0

Приготування рухомої фази А. 490,0 мл фосфатного буферного розчину рН 2,5 поміщають у мірну колбу місткістю 500,0 мл і доводять об'єм розчину ацетонітрилом Р до мітки. Розчин фільтрують через мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм.

Приготування рухомої фази Б. 300,0 мл фосфатного буферного розчину рН 2,5 поміщають у мірну колбу місткістю 500,0 мл і доводять об'єм розчину

ацетонітрилом *P* до мітки. Розчин фільтрують через мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм.

Перевірка придатності хроматографічної системи.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються наступні умови:

- ефективність хроматографічної системи, розрахована за піком бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію з хроматограм розчину порівняння 2, має бути не менше 3000 теоретичних тарілок;

- коефіцієнт симетрії основного піка, розрахований по піку бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію з хроматограм розчину порівняння 2 повинен бути не більше 2,0;

- відносне стандартне відхилення, розраховане по піку бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію з хроматограм розчину порівняння 2 повинно бути не більше 2,0 %.

Приготування фосфатного буферного розчину рН 2,5. 2,04 г натрію дигідрофосфату *P* та 1,0 г натрію октилсульфонату розчиняють у 1000,0 мл води *P* і додають, при безпосередньому перемішуванні, кислоту фосфорну *P* до одержання розчину з рН (2,5 \pm 0,1).

Досліджуваний розчин. Близько 100 мг розтертих таблеток або таблеткової маси (точна наважка) поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину водою *P* до мітки і перемішують. Отриманий розчин фільтрують через паперовий фільтр (синя стрічка), першу порцію фільтрату відкидають.

Розчин порівняння (стандартний розчин). Близько 10,0 мг стандартного зразка (точна наважка) броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють в 70,0 мл води *P* і доводять об'єм розчину до мітки тим же розчинником. Розчин використовують свіжоприготованим.

По 50 мкл випробовуваного розчину і 50 мкл розчину порівняння поперемінно хроматографують на рідинному хроматографі з УФ-детектором, отримуючи достатню кількість хроматограм для кожного з розчинів, в умовах,

наведених вище. Хроматограми досліджуваного робочого розчину (6 проб) та розчину порівняння наведено в рис. 4.2.

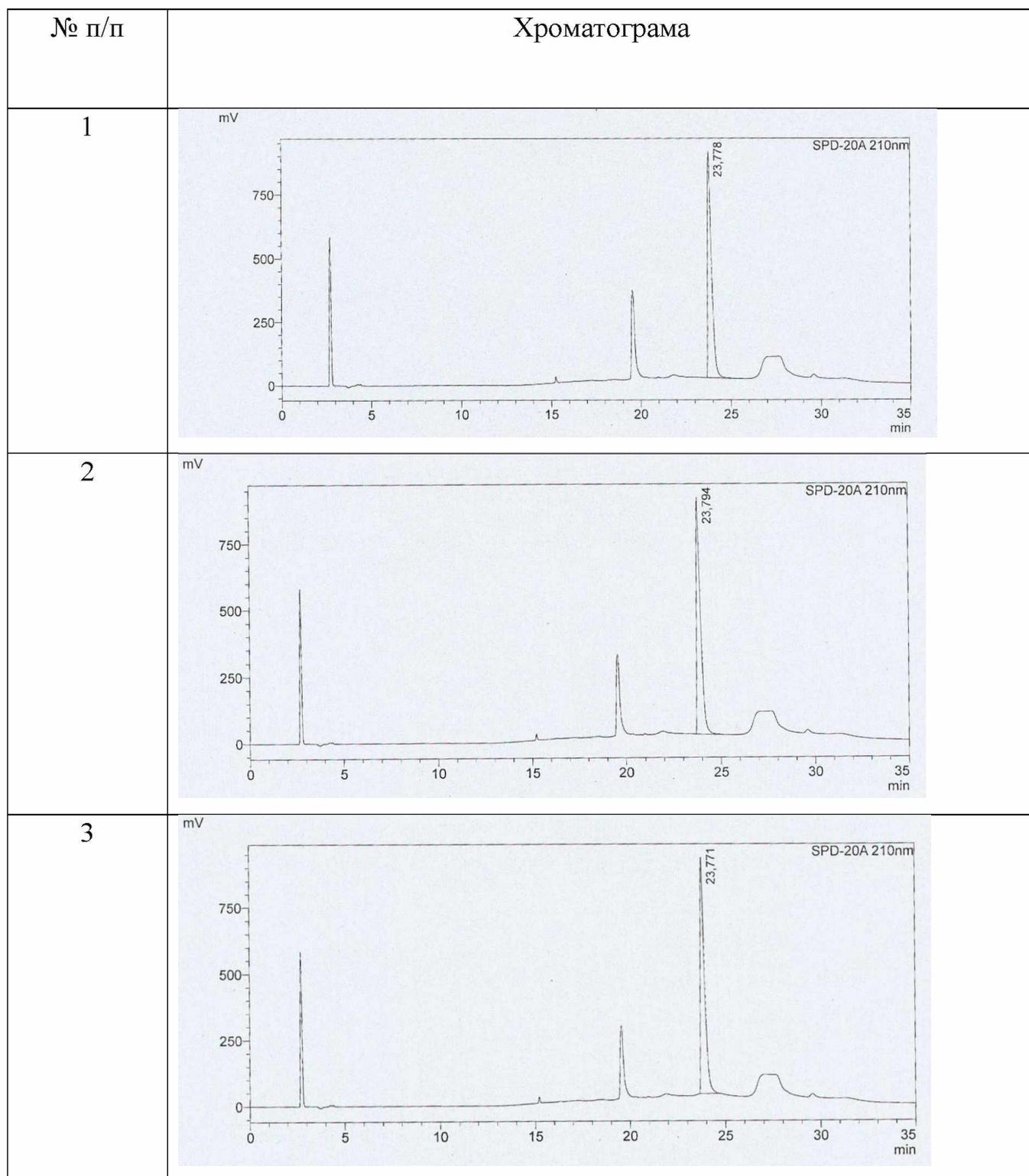
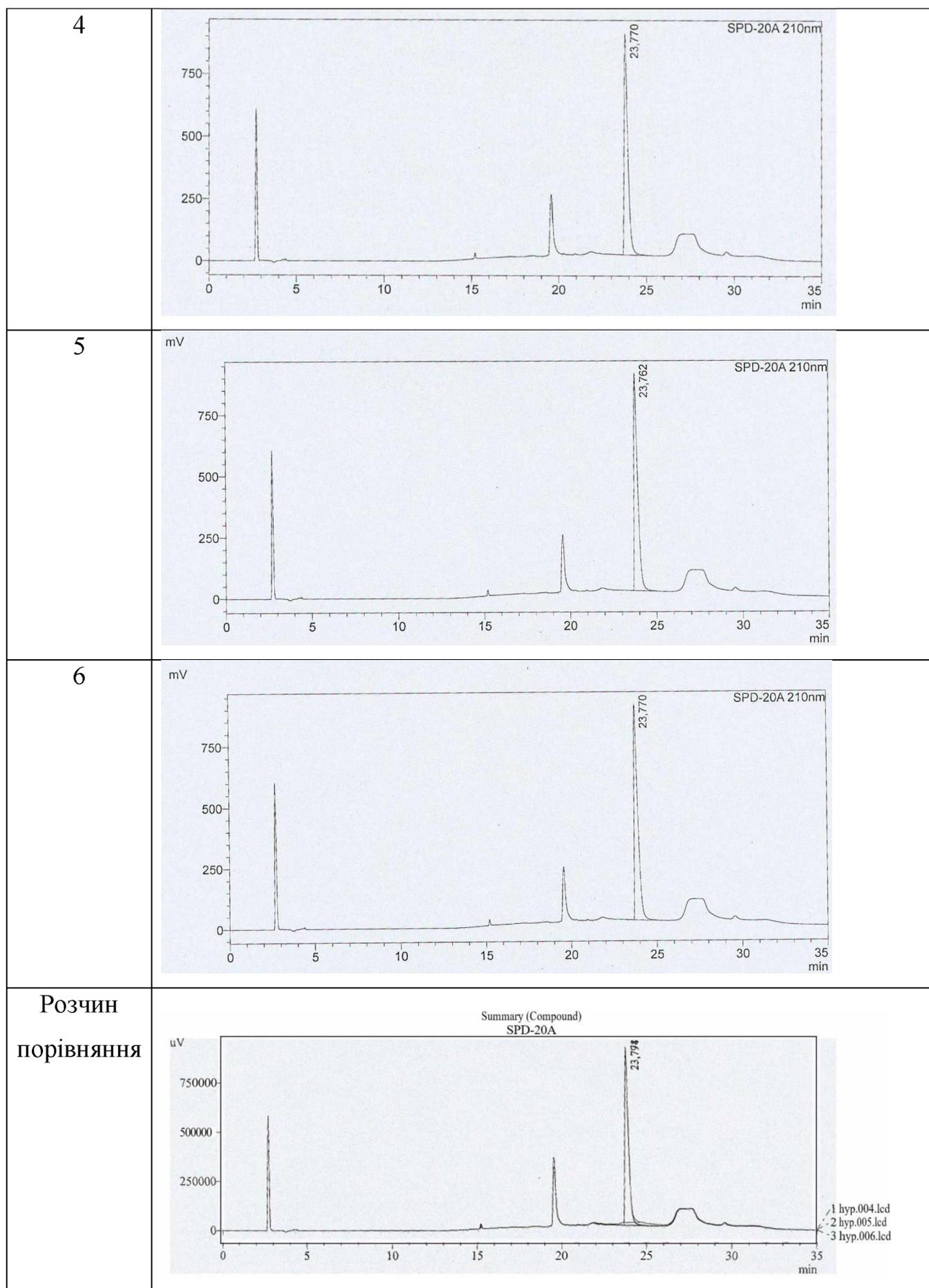


Рисунок 4.2 - Хроматограми, отримані в результаті дослідження 1 серії таблеток броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолія



Вміст бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію (X) в одній таблетці, в мг, розраховують за формулою:

$$X = \frac{S_x \cdot m_0 \cdot 100 \cdot m_{\text{табл}} \cdot P}{S_0 \cdot m_x \cdot 100 \cdot 100} = \frac{S_x \cdot m_0 \cdot m_{\text{табл}} \cdot P}{S_0 \cdot m_x \cdot 100}$$

де:

S – середнє значення площ піка бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

S_0 – середнє значення площ піка бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію, розраховане з хроматограм розчину порівняння 2;

m_0 – маса наважки стандартного зразку бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію, в мг;

m_x – маса наважки, мг

$m_{\text{табл}}$ – середня маса таблетки, мг

P – вміст основної речовини в стандартному зразку бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію, у відсотках.

Вміст броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію (X) в одній таблетці має бути в межах від 18,5 мг до 21,5 мг, рахуючи на середню масу таблетки 200 мг.

Результати проведених досліджень кількісного вмісту діючої речовини в таблетованій лікарській формі наведено в таблиці 4.4.

Таблиця 4.4.

Результати кількісного визначення броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію в таблетках 1 серії методом високоефективної рідинної хроматографії

№ п/п	Бромід 1-(β фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію			
	Площа піка	Середня площа піка	Знайдено, мг	Статистичні показники
1	13037125	13037021	19,92	$\bar{x} = 19,975$ $S^2 = 0,00283$ $S = 0,053197744$ $\Delta x = 0,0532088$
	13036250			
	13037688			
2	13112356	13112185	20,03	
	13112032			
	13112167			
3	13125425	13125952	20,05	

Таблиця 4.4 (продовження)

Результати кількісного визначення броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазоліа в таблетках 1 серії методом високоефективної рідинної хроматографії

	13126058			
	13126373			
4	13073258	13073034	19,97	
	13072586			
	13073258			
5	13050854	13052247	19,94	
	13053127			
	13052760			
6	13056325	13055634	19,94	
	13055128			
	13055449			
PC3	13092450	13091720		
	13090523			
	13092187			

Як видно з даних в таблиці 4.4, в результаті досліджень і проведених розрахунків виявили вміст діючої речовини в 1 серії таблеток знаходиться в межах від 19,92 до 20,05 мг з розрахунку на 1 таблетку. За вище вказаною розробленою методикою в подальшому проаналізували усі приготовані в лабораторних умовах серії (6 серій) таблеток броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазоліа. Отримані результати лежать в межах від 18,93 до 20,90 мг, що відповідає вимогам ДФУ щодо вмісту діючої речовини в таблетках із вмістом діючої речовини 20 мг у розрахунку на одну таблетку.

У ході роботи розроблено методику кількісного визначення броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазоліа в таблетках методом ВЕРХ. Розроблену методику планується використовувати при постадійному контролі якості таблетованої лікарської форми з діючою речовиною броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазоліа. В подальшому після проведення валідації розроблену методику кількісного визначення Гипертилу (броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-

1,2,4-триазолія) в таблетках планується запропонувати заводу-виробнику для включення до методик контролю якості на розроблений лікарський засіб.

4.2 Визначення гострої токсичності таблеткової маси Гіпертрилу при внутрішньошлунковому введенні щурам

Результати наших досліджень, представлені у таблиці 4.5 свідчать про те, що одноразове внутрішньошлункове введення таблеткової маси Гіпертрилу (в перерахунку на АФІ) в дозі 500 мг/кг не викликало загибелі жодної тварини. При введенні Гіпертрилу у дозі 600 мг/кг загинули 2 щури протягом 36 годин, а 4 залишались живими. При дозі 700 мг/кг протягом цього часу загинуло 3 тварини з 6. Введення таблеткової маси Гіпертрилу у дозі 800 мг/кг спричинило загибель 5 тварин у нічний час на 1-й день спостереження. Одноразове внутрішньошлункове введення Гіпертрилу викликало 100% загибель тварин протягом 12 годин у дозі 900 мг/кг.

Таблиця 4.5

Результати дослідження з визначення гострої токсичності таблеткової маси Гіпертрилу при одноразовому внутрішньошлунковому введенні білим нелінійним щурам протягом 2-тижневого спостереження

Доза, мг/кг (№ групи)	500 (1)	600 (2)	700 (3)	800 (4)	900 (5)
Вижило	6	4	3	1	0
Померло	0	2	3	5	6

$$LD_{50} = 900 - \frac{1300}{6} = 683,4 \pm 53 \text{ мг/кг}$$

Спостереження за тваринами, що отримували проміжні дози таблеткової маси Гіпертрил, дозволили нам визначити LD_{50} . Картина гострого отруєння у тварин, які отримали токсичну дозу таблеткової маси Гіпертрил, характеризувалась

частою дефекацією, сечовипусканням, підвищеною тривожністю, а потім загальмованістю, зниженням орієнтовно-дослідницької активності (лише поодинокі горизонтальні рухи), підсмикуванням задніх лапок, подальшим падінням на бік при переміщенні, патологічним диханням за типом Чейн-Стокса та загибеллю тварин від паралічу дихального центру. У тварин, які отримали проміжні дози таблеткової маси Гіпертрил і вижили, протягом 4-7 годин після введення сполуки спостерігалось пригнічення дихання, роботи серця, орієнтовно-дослідницької активності та спонтанне підсмикування м'язів кінцівок.

Таблиця 4.6

Динаміка змін маси тіла у щурів після одноразової внутрішньошлункового введення таблетованої маси Гіпертрилу $M \pm m$

Групи тварин	первинний стан (г)	7-а доба, (г)	14-а доба, (г)
Таблетована маса Гіпертрилу (n=14)	$180,8 \pm 6,88$	$183,3 \pm 6,15$	$188,3 \pm 4,94$

Примітка: % від первинний стану.

Вищеописані симптоми зникали на 2-3 добу, але пригнічення дослідницької активності зберігалось. Встановлено, що динаміка зміни маси тіла щурів при цьому знаходилась у межах фізіологічної норми (табл. 4.6). Таким чином, можна зробити висновок, що таблеткова маса Гіпертрил при внутрішньошлунковому введенні належить до IV класу токсичності (малотоксичні сполуки).

При анатомічному розтині загиблих щурів із усіх груп, яким внутрішньошлунково вводили таблеткову масу Гіпертрил, спостерігалось виражене повнокров'я судин очеревини, легені займали всю плевральну порожнину, були еластичними; стінки бронхів не потовщені. Печінка була повнокровна, паренхіма — червоно-коричневого кольору, капсула не напружена, краї печінки заокруглені. Слизова оболонка шлунка рельєфна, ерозій, виразок і набряків не виявлено. Портальні тракти набрякли, повнокров'я центральних

міждолькових вен. Головний мозок без видимих змін, дрібні крововиливи, судини мозочка та стовбура розширені, повнокровні. Вилочкова залоза конусоподібна, м'яка, сіро-рожева. Шлунок розтягнутий і переповнений білуватим вмістом. Стіни шлунка атоничні, пілоричний сфінктер спазмований. При розтині шлунка по малій кривизні та в пілоричному відділі виявлено світлий за кольором вміст. У вмісті шлунка знайдено згустки крові. Посилений судинний малюнок шлунка. Слизова оболонка шлунка блідо-рожевого кольору. Спостерігаються дрібні точкові крововиливи. Дванадцятипала кишка розтягнута і атонична. Тонка кишка наповнена вмістом, низхідна ободова кишка роздута. Нирки темно-червоні, щільні, наднирники без змін. Серце звичайного розміру, м'язові стінки щільні, пружні. У серці загиблих тварин кровоносні судини повнокровні.

За результатами дослідження гострої токсичності таблеток Гіпертрил при внутрішньошлунковому введенні щурам препарат можна віднести до IV класу токсичності (малотоксичні речовини).

4.3 Аналіз кумулятивних властивостей таблеткової маси Гіпертрил

Орієнтовну мінімальну інформацію можна отримати в гострих дослідах шляхом визначення індексу кумуляції. Для цього реєстрували летальність протягом 14 днів після одноразового введення 6 щурам. Загибель тварин не спостерігали протягом цього періоду. Таким чином, індекс кумуляції:

$$I_k = 1 - LD_{50(14)} / LD_{50(1)} = 0.$$

Отриманий індекс кумуляції свідчить про ступінь безпеки при хронічних отруєннях і належить до класу практично нетоксичних речовин. Тобто досліджуваний препарат не має кумулятивних властивостей.

Коефіцієнт кумуляції визначали шляхом щоденного, повторного внутрішньочеревного введення 6 білим щурам 1/6 від LD_{50} — 50,0 мг/кг протягом 3 місяців. Усі тварини при цьому залишилися живі. Загальна кількість введеного препарату склала 4500 мг/кг. Підставляючи необхідні значення у відповідну

формулу, коефіцієнт кумуляції дорівнює 7,5. Коефіцієнт кумуляції більше 5 вказує на відносно слабо виражені кумулятивні властивості препарату.

Отже, таблеткова маса Гіпертрил належить до категорії слабо кумулюючих речовин.

4.4 Оцінка шкірно-подразнюючої дії

Наші дослідження показали (табл. 4.7), що одноразова апплікація 1% суспензії таблеткової маси Гіпертрилу не завдає подразнюючої дії шкірі тварин. На стриженій, позбавленій шерсті шкірі не виявлено ознак запалення — почервоніння, ушкоджень, висипу. Загальна поведінка дослідних тварин — рухливість, апетит, стан шерстяного покриву — не відрізнялася від такої у інтактних щурів.

Таблиця 4.7

Дослідження впливу 1% суспензії таблеткової маси Гіпертрилу при нанесенні на шкіру у білим щурам

Препарат	Шкіра (1-14 дні)		Загальна поведінка (1-14 доба)
	Почервоніння	Шкода	
1% розчин Гіпертрилу	0	0	Відхилень немає

Отримані дані дозволяють зробити висновок, що 1% суспензія таблетованої маси Гіпертрилу не надає шкірноподразнюючої дії на неушкоджену шкіру білих щурів.

4.5 Вивчення алергенних властивостей 1% суспензії таблеткової маси Гіпертрил

Дослідження показало відсутність реакції за шкалою оцінки шкірних проб. Цей експеримент дозволив виявити безпеку препарату в плані розвитку неалергічного контактного дерматиту.

Таблиця 4.8

Результати дослідження алергенної активності 1% суспензії маси таблеток Гіпертріл за шкалою оцінки шкірних проб аплікацій на 4 тиждень спостереження (20 застосувань)

Групи n=10	Позначення реакції	Умовні позначення	Опис реакції
Таблеткована маса Гіпертрилу	негативна	-	Зміни шкіри відсутні
Контроль	негативна	-	Зміни шкіри відсутні

Дослідження сенсibiliзуючої дії проводили для оцінки активності 1% суспензії таблеткової маси Гіпертрилу шляхом 20 повторних накожних аплікацій на ділянку бокової поверхні тулуба 10 тварин. Перше тестування проводили після 10 аплікацій розчину 1% суспензії таблеткової маси Гіпертрилу, алергії не було виявлено, подальше нанесення речовини також не змінило картину.

4.6 Кон'юнктивальна проба

Кон'юнктивальна проба є дуже чутливим тестом і в ряді випадків дозволяє виявити реакцію тварин на 1% суспензію таблеткової маси Гіпертрил при слабких або від'ємних шкірних тестах. Для постановки проби 1 краплю 1% суспензії таблеткової маси Гіпертрилу вводили очною піпеткою з витягнутим тонким кінцем під верхню повіку піддослідним білим щурам, у друге око (контрольне) вводили 1 краплю води. Реакції враховували через 15 хвилин (швидка реакція) і через 24-48 годин (гіперчутливість уповільненого типу), оцінювали за відповідною шкалою. Після введення 1% суспензії таблеткової маси Гіпертрил на протязі всього строку спостереження тварин видимих реакцій не спостерігалось.

Таблиця 4.9

Оцінка алергенних властивостей 1% суспензії маси таблеток Гіпертрилу на білих щурах у тестовій реакції кон'юнктиви

№	Час дослідження						Діаметр еритеми
	15 хв		24 год		48 год		
	Контроль	Таблетки Гіпертрил	Контроль	Таблетки Гіпертрил	Контроль	Таблетки Гіпертрил	
	Оцінка в балах						
1.	0	0	0	0	0	0	0
2.	0	0	0	0	0	0	0
3.	0	0	0	0	0	0	0
4.	0	0	0	0	0	0	0
5.	0	0	0	0	0	0	0

Примітка: 0 – немає видимої реакції

Таким чином, досліджуваний препарат - таблетки Гіпертрил — алергенними властивостями не володіє.

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4

1. Розроблено сучасну методику кількісного визначення Гіпертрилу в таблетках методом ВЕРХ відповідно до вимог Державної Фармакопеї України. Після валідації розроблену методику кількісного визначення Гіпертрилу (бромиду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію) в таблетках планується запропонувати заводу-виробнику для включення до методик контролю якості на розроблений лікарський засіб.
2. Результати токсикологічних досліджень показали, що таблетки Гіпертрилу при внутрішньошлунковому введенні щурам препарат можна віднести до IV класу токсичності (малотоксичні речовини).
3. Таблетована форма Гіпертрилу належить до категорії слабо кумулюючих речовин.
4. Таблетки Гіпертрилу не виявляють місцево-подразнювальної, шкірно-подразнювальної дії та не викликають алергічних реакцій.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Початок нинішнього тисячоліття ознаменувався значним поширенням серцево-судинних захворювань, які посіли 2-3 місце в структурі смертності промислово розвинених країн. Найбільш грізним ускладненням, смертність від якого коливається від 10% до 50% у хворих з серцево-судинною патологією, є хронічна серцева недостатність. ХСН є однією з актуальних проблем сучасної кардіології у всьому світі через високу поширеність, неухильне зростання числа нових випадків захворювання у всіх країнах, частих повторних госпіталізацій, незадовільної якості лікування, високий рівень інвалідності та смертності хворих, збільшення витрат на лікування. Дані світової статистики невтішні: в даний час поширеність клінічно вираженої хронічної серцевої недостатності в загальній популяції - не менше 1,8-2,0%; серед осіб старше 65 років частота поширеності ХСН зростає до 6-10% і декомпенсація стає найчастішою причиною госпіталізації літніх хворих. Число хворих з безсимптомною дисфункцією лівого шлуночка не менше ніж в 4 рази перевищує число пацієнтів з клінічно вираженою ХСН [1-5]. За минулі 15 років число госпіталізацій з діагнозом ХСН потроїлося, а за 40 років збільшилося в 6 разів. Прогноз при хронічній серцевій недостатності залишається вкрай серйозним незалежно від її етіології. За даними Nolan J протягом 5 років після постановки діагнозу помирає 75% чоловіків і 62% жінок. Ризик раптової смерті при наявності ХСН в 5 разів вище, ніж у загальній популяції. Синдром ХСН може ускладнювати перебіг практично всіх захворювань серцево-судинної системи [7-12]. Але головними причинами хронічної серцевої недостатності, які складають більше половини всіх випадків, є, за даними Фремінгемського дослідження, ішемічна хвороба серця (по 40% у чоловіків і жінок) і артеріальна гіпертензія (37% у жінок і 30% у чоловіків) або поєднання цих захворювань. Нещодавно завершене епідеміологічне дослідження Euro Heart Survey HF показало, що в Європі до 68% випадків ХСН обумовлено ІХС, 53% пов'язані з артеріальною гіпертонією, 39%

розвиваються після перенесеного гострого інфаркту міокарда. Аналіз епідеміологічного дослідження ЕПОХА-О-ХСН виявив важливу відмінну рису східно-європейської популяції щодо етіології ХСН. Незалежно від того, лікується хворий в стаціонарі або в поліклініці, майже в 80% випадків причиною розвитку хронічної серцевої недостатності або асоційованим з ХСН захворюванням у нього є артеріальна гіпертензія. ІХС посідає друге місце (67%), інфаркт міокарда - третє (у 13% пацієнтів поліклініки та 19% - стаціонару). Потім у напрямку спадання: цукровий діабет, ревматичні вади серця і дилатаційна кардіоміопатія. Настільки виражена перевага артеріальної гіпертензії в європейській популяції хворих з ХСН, ймовірно, являється відображенням загальної неблагополучної ситуації з розповсюдженням і лікуванням артеріальної гіпертензії у країнах пострадянського простору. Згідно з рекомендаціями Європейського товариства кардіологів важливими компонентами комплексної терапії серцевої недостатності, особливо після перенесеного інфаркту міокарда, є діуретики, інгібітори АПФ і β -адреноблокатори. Найбільш доцільним вважається застосування блокаторів останнього покоління. Незважаючи на численні дослідження, фундаментальні механізми, відповідальні за розвиток і прогресування ХСН, досі повністю не вивчені [2-10]. За останні кілька десятиліть клінічні та експериментальні дослідження надали вагомі докази того, що окисний стрес, який визначається як надмірне утворення АФК відносно антиоксидантного захисту, посилюється при ХСН [210-220]. Надлишок активних форм NO та кисню (АФК) спричиняє клітинну дисфункцію, пероксидне окислення білків і ліпідів, пошкодження ДНК та може призвести до необоротних уражень клітин і їх загибелі, що залучені до широкого спектра патологічних серцево-судинних захворювань. Важливість окисного стресу дедалі більше виявляється у патофізіологічному механізмі ремоделювання серця, відповідального за розвиток і прогресування ХСН [230-238]. Зокрема, АФК можуть безпосередньо порушувати скоротливу функцію, модифікуючи білки, центральні для сполучення збудження та скорочення. Більше того, активні форми NO та кисню активують широкий спектр сигнальних кіназ гіпертрофії та факторів транскрипції і опосередковують апоптоз. Вони також стимулюють проліферацію серцевих

фіброblastів та активують матриксні металопротеїнази, що призводить до ремоделювання позаклітинного матриксу. Ці клітинні події беруть участь у розвитку та прогресуванні неадаптивного ремоделювання міокарда та недостатності [228-241]. В останнє десятиліття в терапії серцевої недостатності стали активно застосовуватися кардіоселективні β_1 -адреноблокатори, які знімають надлишкову симпатичну стимуляцію міокарда, десенсибілізуючі β_1 -адренорецептори міокарда, впливають на релаксацію шлуночків і внутрішньосерцеву гемодинаміку, зменшують перевантаження кардіоміоцитів кальцієм, знижують потребу серця в кисні, інгібують перекисне окислення ліпідів і стабілізують клітинні мембрани, мають антиаритмічну дію. Одним із β блокаторів, ефективність якого доведена в численних дослідженнях, є метопролол. Також кращим вважається застосування «гібридного» (a,b) адреноблокатора останнього покоління - карведилолу. Широке застосування в лікуванні гіпертонічної хвороби і ХСН знайшов кардіоселективний β -адреноблокатор небіволол, який надає сприятливу дію на внутрішньосерцеву і регіональну гемодинаміку, нормалізує кисневий режим міокарда, надає вазодилатаційний ефект, знижує загальний периферичний опір судин, зменшує навантаження на серце [18-236360-370]. Дослідженнями останніх років виявлено роль нітроксидергічної системи, а саме дефіциту NO, в прогресуванні ХСН. Вивчається можливість фармакологічної корекції порушень системи NO міокарда при ХСН. Препарати ряду кардіоселективних адреноблокаторів (карведилол, атенолол, бісопролол, небіволол) малоефективні в цьому відношенні і вимагають додаткового комбінування в умовах деяких форм хронічної серцевої недостатності і артеріальної гіпертензії. Крім того вони володіють помірною кардіопротективною активністю. Виявлені у β -адреноблокаторів побічні реакції також обмежують їх застосування в клініці [377-380]. У цьому ключі, розробка нових препаратів з селективною β_1 -блокуючою дією і визначення вибору різних форм цих препаратів у комплексній терапії ХСН становить науковий інтерес. На кафедрах фармацевтичної хімії і фармакології Запорізького державного медичного інституту, а потім у НВО «Фарматрон», у результаті багаторічного вивчення

кардіопротективної, протиішемичної, антиоксидантної та фібринолітичної активності в ряді похідних 4-аміно-1,2,4-триазолу було виділено сполуку, похідне 4-аміно-1,2,4-триазолу (робоча назва Гіпертріл) з високою шуканою активністю. Згодом у Гіпертріла була виявлена висока антиадренергічна, антиангінальна, антигіпертензивна, антиглаукомна, утеротонічна активність. Були проведені численні експериментальні дослідження антиангінальної та антигіпертензивної дії субстанції і розчину «Гіпертріл» при внутрішньочеревному і внутрішньовенному введенні щурам і кроликам [24, 420-423]. β -адреноблокатори з NO-міметичним ефектом становлять особливий інтерес для лікування ХСН. Це пов'язано з тим, що розвиток ХСН супроводжується порушеннями нагнітальної функції серця, базального тону судин, зниженням перфузії та обміну в тканинах, а також змінами нейрогуморальної регуляції кровообігу як з боку центральних, так і периферичних механізмів [321,411]. У розвитку невідповідності кровопостачання тканин їхнім метаболічним потребам при ХСН важливу роль відіграє ендотеліальна дисфункція, за якої порушується баланс вазоактивних молекул, особливо NO та ендотеліну-1, на тлі змін експресії ізоформ NOS. NO залучений до багатокomпонентної відповіді клітин і тканин організму при ХСН. На сьогодні отримано докази значущості NO в ініціюванні апоптозу та ролі апоптозу в розвитку і прогресуванні ХСН [148-152]. Водночас залишаються суперечливими дані щодо змін продукції NO при ХСН. Практично немає відомостей про вплив різних класів β -адреноблокаторів на окремі функціональні ланки системи NO при ХСН. Викладене вище спонукає до проведення порівняльної оцінки впливу β -блокаторів різних поколінь на показники системи NO при ХСН. Відомо, що ХСН супроводжується дисфункцією мітохондрій і стійкими порушеннями енергетичного метаболізму міокарда, що призводять до дефіциту макроергічних сполук, підвищеного утворення АФК, оксидативного стресу та апоптозу. Порушення метаболізму міокарда можна розглядати як ланку патогенезу ХСН, а також як чинник її прогресування. Кардіальні ефекти традиційних β -блокаторів і, особливо, β -блокаторів з додатковими властивостями передбачають можливість впливу цих препаратів на енергетичний обмін міокарда. Однак результати

досліджень є малочисельними та демонструють неоднозначний вплив β -блокаторів на енергетичний метаболізм залежно від класу препарату. Так, пропранолол (анаприлін), неселективний β -блокатор, призводить до порушень енергетичного метаболізму міокарда за рахунок негативного впливу на мітохондрії (пригнічення II комплексу дихального ланцюга, колапс мембранного потенціалу мітохондрій). У той же час тимолол чинить міто-протекторну дію та покращує метаболізм, безпосередньо пов'язаний з активністю мітохондрій міокарда [190-192]. Отримано дані щодо впливу на енергетичний метаболізм β -блокатора з додатковими (антиоксидантними) властивостями — карведилолу, зокрема, його дії на ферментні мітохондріальні комплекси та продукцію АФК [194-198]. Спираючись на викладене вище, можна окреслити основний напрям проведених досліджень, який, на нашу думку, дасть змогу сформувавши теоретичний фундамент для більш чіткого уявлення про можливі та потенційні механізми дії β -блокаторів різних поколінь на енергетичний обмін, що, ймовірно, дозволить вирішити окремі практичні питання, пов'язані з лікуванням ХСН.

Нашими дослідженнями встановлено, що β -адреноблокатори (карведилол, бісопролол, метопролол, небіволол), які досліджувалися у цій роботі, є основними препаратами стандартної терапії серцевої недостатності [424], вони продемонстрували позитивний вплив на параметри ЕКГ та автономну регуляцію серця після моделювання ХСН доксорубіцином. Отримані дані не суперечать різним доклінічним і клінічним дослідженням, але не дають відповіді на питання, які інші механізми, крім β -блокади, залучені в кардіопротекції у цих β -адреноблокаторів [425, 426]. У лікуванні ХСН застосовується β_1 -адреноблокатор метопролол, який позитивно впливає на внутрішньосерцеву та регіональну гемодинаміку, нормалізує міокардіальний режим кисню і зменшує навантаження на серце. Високоселективний β_1 -адреноблокатор бісопролол покращує фракцію викиду лівого шлуночка і знижує смертність при ХСН [427]. Проте метопролол і бісопролол є неефективними і потребують додаткової комбінації у деяких формах ХСН. Метопролол і бісопролол, як β -адреноблокатори без антиоксидантних та метаболітотропних властивостей, не забезпечували суттєвої кардіопротекції, як це

було з карведилолом чи небівололом [428]. Відомо, що карведилол і небіволол завдяки додатковим метаболічним, антиоксидантним та вазодилататорним механізмам мають певні переваги у кардіопротекції над «класичними» β -адреноблокаторами [429]. Антиапоптичні механізми карведилолу також відомі і пов'язані з його антиоксидантною активністю та регуляцією рівня АОС [430], що також позитивно впливає на скоротливу функцію міокарда при ХСН і прогресування ХСН. Позитивний вплив карведилолу на основні показники центральної гемодинаміки, що є передумовою для профілактики постінфарктного ремоделювання, описаний. Небіволол — β -адреноблокатор з NO-міметичним ефектом, який проявляє периферичний вазодилатуючий ефект, знижуючи як перед-, так і постнавантаження на серце, є особливо цікавим з точки зору лікування ХСН. Антиоксидантна, антиапоптична дія небівололу пов'язується з його позитивним впливом на рівні NO та біодоступність цього месенджера, який відіграє роль не лише в регуляції серцевого м'яза в нормі та патології, а й бере участь в апоптозі, антиоксидантній системі кардіоміоцитів, регуляції експресії захисних білків, компенсаторних енергетичних шатунів [431].

Численні дослідження показали, що ХСН супроводжується значними порушеннями міокардіальної нітросидергічної системи. Динаміка кінцевих метаболітів NO при ХСН свідчить, що для ендотеліальної дисфункції на фоні серцево-судинної патології характерне зниження рівня нітритів у крові та сечі, що вказує на пригнічення генерації NO, пов'язане з інгібуванням гена ендотеліальної NO-синтетази, браком кофакторів синтезу NO, зниженням кількості L-аргініну та основного кофактора NOS — тетрагідроapterину, окисненням ліпопротеїнів дуже низької щільності, підвищенням місцевої концентрації пероксинітриту у судинній стінці, зниженням антиоксидантного захисту, збільшенням ендогенних інгібіторів NO [432]. Оскільки NO є важливим медіатором вазодилатації, його дефіцит відіграє ключову роль у розвитку артеріальної гіпертензії, порушенні артеріального тону, зниженні коронарного резерву, гіпертрофії лівого шлуночка та формуванні діастолічної дисфункції лівого шлуночка. Було виявлено зміни в системі ендогенного оксиду азоту у пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю.

Кардіоміоцити експресують два типи синтаз оксиду азоту (NOS): eNOS і iNOS. Активність eNOS регулюється через стан скоротливості міокарда, тоді як iNOS індукується цитокінами. При ХСН під впливом активних форм кисню зменшується експресія eNOS і концентрація необхідних кофакторів NOS, що призводить до дефіциту NO [433].

Інтерлейкін-1 β (IL-1 β), фактор некрозу пухлини α (TNF- α) та інтерферон (INF) стимулюють синтез оксиду азоту (NO) у кардіоміоцитах шляхом індукції iNOS при дефіциті eNOS і активації окислювального стресу з утворенням цитотоксичних форм NO. Цитотоксичні форми NO мають прямий токсичний вплив на міокард, активують процеси інтерстиціального росту та фіброзу, що посилює негативний інотропний вплив NO на міокард і спричиняє геометричне ремоделювання серця [434]. При подальшому збільшенні експресії iNOS зростає цитокін-залежне вироблення NO, що призводить до зниження скоротливої здатності серця. Перевід фенотипу фібробластів у міофібробласти зумовлений експресією трансформуючого фактора росту бета-1 (TGF- β 1), експресія якого регулюється активними формами кисню (АФК) та NO, зокрема пероксинітридом, і пов'язана з початком експресії альфа-актиніну (α -SMA) та десміну гладких м'язів [435]. Отримано дані щодо кореляції між експресією TGF- β 1, активністю iNOS та NADPH-оксидази [436]. Тому створення препаратів, що стимулюють синтез NO у пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю, є цілком обґрунтованим. Ряд досліджень останніх років показали, що з одного боку, β -адреноблокатори позитивно впливають на частоту виникнення серйозних ускладнень (включно з загальною та серцево-судинною смертністю) у хворих на ХСН, а з іншого — існують переконливі свідчення позитивного впливу деяких β -адреноблокаторів на синтез NO у пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями [437]. Механізм такого впливу препарату Гіпертрил на параметри ЕКГ у щурів із ХСН, імовірно, пов'язаний не тільки з його дією на β ₁-адренорецептори, а й із додатковими, раніше виявленими механізмами — антиоксидантним, антиішемічним та NO-міметичним [438]. NO-міметичні механізми включають посилення продукції NO через експресію eNOS та збільшення його біодоступності [431]. Існує припущення, що

Гіпертрин може покращувати біоелектричні властивості міокарда при ХСН завдяки позитивному впливу на морфофункціональні індекси кардіоміоцитів та інгібуванню апоптозу [439]. Також можна припустити, що покращення скоротливої функції серця при ХСН при введенні Гіпертрину може бути пов'язане з поліпшенням міокардіального енергетичного метаболізму та зменшенням мітохондріальної дисфункції. Проте все це потребує додаткової верифікації.

Багато численні дослідження показали, що ХСН супроводжується значними порушеннями в нітродоксидергічній системі міокарда. Динаміка кінцевих метаболітів оксиду азоту (NO) при ХСН свідчить, що пригнічення його утворення є типовим проявом ендотеліальної дисфункції, пов'язаної з серцево-судинною патологією. Це пригнічення зумовлюється інгібуванням гена ендотеліальної NO-синтази, браком кофакторів для синтезу NO, зниженням рівня L-аргініну та основного кофактора NOS — тетрагідробіоптерину, окисненням ліпопротеїнів дуже низької щільності, підвищенням місцевої концентрації пероксинітриту у стінці судин, зниженням антиоксидантного захисту та збільшенням рівня ендогенних інгібіторів NO [444].

Оскільки NO є ключовим медіатором вазодилатації, його дефіцит може призвести до низки патологічних станів, зокрема артеріальної гіпертензії, порушення тону судин, зниження коронарного резерву, гіпертрофії лівого шлуночка та розвитку діастолічної дисфункції. Модифікації ендогенної NO-системи виявлені у пацієнтів із ХСН. Ізоформи NO-синтаз (NOS), що експресуються кардіоміоцитами, — це eNOS та iNOS. При цьому iNOS активується під впливом цитокінів, тоді як активність eNOS контролюється скоротливим станом міокарда. Дефіцит NO при ХСН пов'язаний зі зниженням експресії eNOS під впливом АФК та зменшенням концентрації необхідних кофакторів для NO-синтази [453].

Численні дослідження свідчать, що iNOS, IL-1 β , TNF- α та IFN сприяють утворенню NO у кардіоміоцитах. Проте деградація NO у міокарді та судинній стінці посилюється внаслідок пригнічення експресії eNOS і розвитку оксидативного стресу, оскільки він перетворюється під дією АФК у пероксинітрит, що підтверджується підвищенням рівня нітротирозину [73].

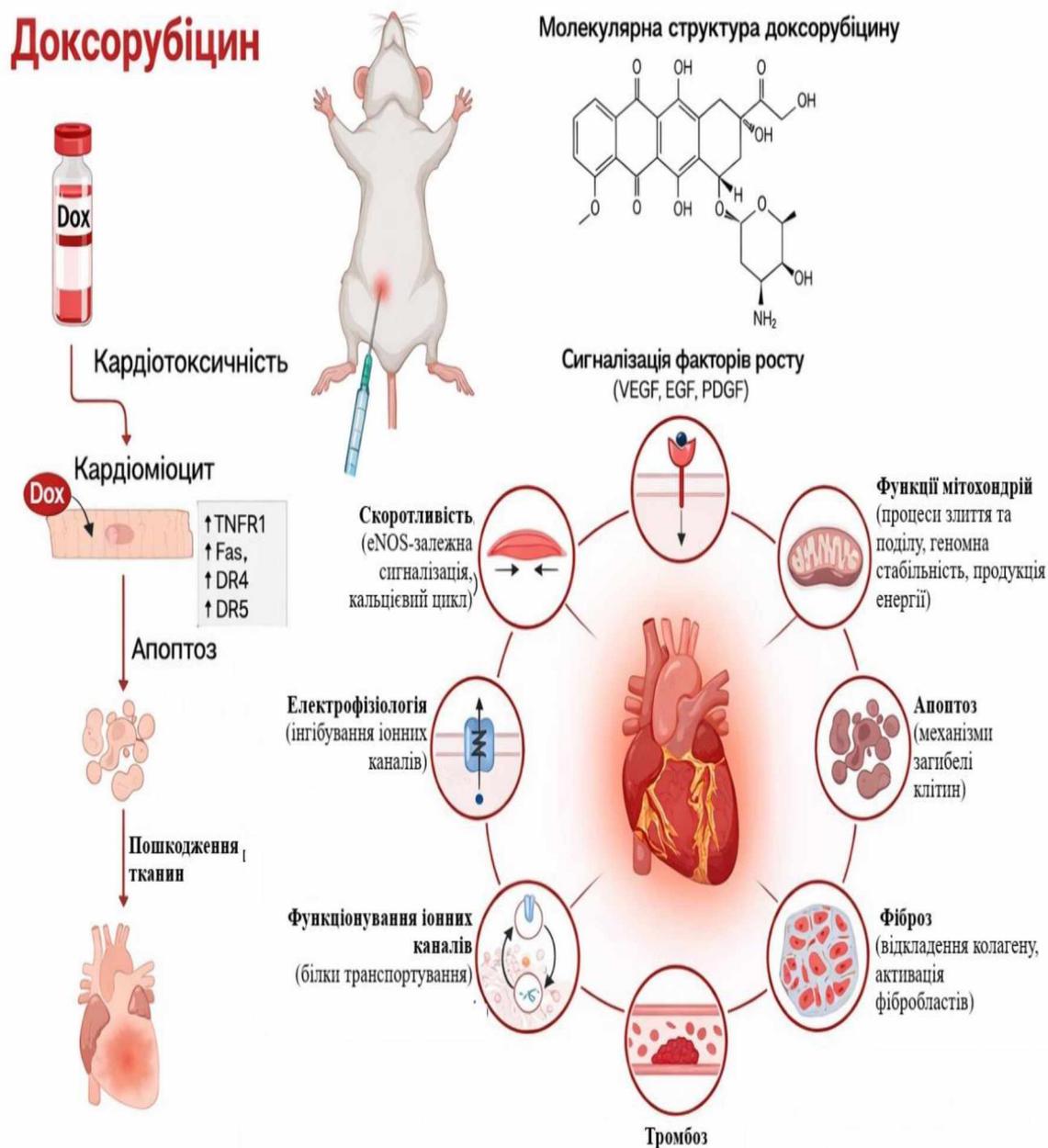


Рисунок 5.1 - Молекулярні та біохімічні механізми формування кардіоміопатії при доксорубіциновій ХСН.

Дослідження також показали, що одним із головних негативних наслідків ішемії міокарда є втрата NO-опосередкованих ефектів, таких як пригнічення активації моноцитів за рахунок так званих молекул адгезії, зменшення агрегації тромбоцитів та пригнічення проліферації клітин. Явище імунно-запальної активації значною мірою реалізується саме через останній механізм. В основі цього феномену лежать різноспрямовані зміни експресії двох ізоформ NO-синтази —

ендотеліальної (знижується, як зазначено вище) та індукованої (підвищується). Ізоформа iNOS, на відміну від eNOS, не потребує Ca^{2+} і кальмодуліну для своєї активації та продукує NO у концентраціях, які значно перевищують ті, що утворюються під впливом eNOS. Крім того, на відміну від eNOS, iNOS експресується лише за патологічних умов — у відповідь на активацію прозапальними цитокінами та АФК [412, 455].

Активний синтез iNOS є ключовим чинником гіперпродукції TNF- α та інших прозапальних цитокінів (за принципом «порочного кола»), посиленого утворення вільних радикалів, що супроводжується пошкодженням і апоптозом клітин-мішеней у тканинах. Цитотоксичні форми NO безпосередньо чинять ушкоджувальну дію на міокард, одночасно ініціюючи процеси інтерстиціального росту та фіброзоутворення. Це спричиняє посилення негативного інотропного ефекту NO на міокард і сприяє геометричному ремоделюванню серця. Подальша надекспресія iNOS призводить до зростання цитокін-залежного синтезу NO та зниження скоротливої здатності серцевого м'яза. Трансформуючий фактор росту β_1 (TGF- β_1) відіграє ключову роль у трансформації фібробластів у міофібробласти. АФК та NO, зокрема пероксинітрит, регулюють експресію TGF- β_1 , що пов'язують із початком експресії α -актиніну гладких м'язів (α -SMA) і десміну [458].

Отримано інформацію щодо взаємозв'язку між експресією TGF- β_1 , NADPH-оксидазою та активністю iNOS [443]. Міофібробласти виконують важливі фізіологічні функції при ушкодженні тканин і їх загоєнні. Збільшення кількості міофібробластів спостерігається під час різних фіброзних та склеротичних процесів у серці. У клінічній практиці при декомпенсованій хронічній серцевій недостатності (ХСН) відзначається підвищення загальної активності NO-синтаз (NOS) та збільшення рівня нітритів у крові [450].

Отже, особам із ХСН доцільно приймати препарати, що стимулюють утворення NO. У поєднанні з базовою терапією, яка включає антиоксиданти, модулюючі системи глутатіону, антагоністи, модулюючі рецептори ангіотензину та статини, існують докази сприятливого впливу на нітродергічну систему та ендотеліальну функцію при діабеті, гіпертензії та толерантності до нітратів [444].

У пацієнтів із ХСН у кількох нещодавніх дослідженнях було показано, що β -блокатори знижують частоту серйозних ускладнень (включаючи загальну та серцево-судинну смертність). Проте дослідження щодо впливу окремих β -блокаторів на синтез NO у пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями тривають [445, 368].

З огляду на останні дані, варто зазначити наступне. Результати наших досліджень щодо впливу β -адреноблокаторів на нітроксидергічну систему міокарда при доксорубіциновій моделі ХСН узгоджуються з існуючими численними експериментальними роботами. Зокрема, було показано, що карведилол здатний підвищувати експресію eNOS під час кадмієвої кардіотоксичності та нормалізувати співвідношення eNOS/iNOS при ішемії/реперфузії печінки [456]. Цей ефект зумовлений антиоксидантною дією препарату [447]. Інше дослідження встановило, що карведилол підвищує утворення NO за рахунок впливу на P2Y пуринові рецептори клубочкових ендотеліальних клітин. При цьому ефективність карведилолу була порівнянною з небівололом [449].

Багато авторів пов'язують метаболіторопні, ендотеліотропні ефекти карведилолу при артеріальній гіпертензії, цукровому діабеті 2 типу, гіпертиреозі та ХСН з його антиоксидантним механізмом дії (у більшій мірі як інгібітора ліпідної пероксидації і меншою мірою як радикаловловлювача). При цьому потужність антиоксидантного ефекту карведилолу значно перевищує ефекти метопрололу та бісопрололу [412, 441, 442, 457]. Дані щодо впливу бісопрололу на систему NO обмежені і суперечливі. Існують докази ендотеліопротекторної активності бісопрололу та підвищення синтезу NO при цукровому діабеті. Втім, за силою цього ефекту він суттєво поступається небівололу [73]. Існують також дані, що бісопролол не має такого ефекту [440].

Небіволол наразі є єдиним достатньо вивченим β -блокатором з NO-міметичним ефектом. Він модулює експресію eNOS, що призводить до підвищення продукції NO без спричинення оксидативного стресу. Особливо важливо при лікуванні пацієнтів із ХСН [443], що небіволол нормалізує співвідношення eNOS/iNOS та обмежує оксидативний стрес під час ішемії/репресії [448].

Небіволол проявляє NO-залежну ендотеліопротекторну активність у курців, а також пацієнтів із артеріальною гіпертензією та ішемічною хворобою серця. Він стимулює ендотеліальне утворення аденозинтрифосфату (АТФ), підвищує рівень кальцію в ендотелії через P2Y-рецептори і сприяє кальцій-залежній активації eNOS. Небіволол інгібує оксидативну інактивацію eNOS та знижує рівень циркулюючої диметиларгініну, що є інгібітором eNOS. Крім того, небіволол має антиоксидантні властивості і зменшує вивільнення супероксиду і пероксинітриду ендотелієм. Він також може інгібувати утворення активних форм кисню (ROS) енергогенеруючими системами мітохондрій [452].

Виявлений у цьому дослідженні вплив Гіпертрилу на нітроксидергічну систему міокарда при доксорубіциново-індукованій ХСН також підтверджується дослідженнями на щурах із спонтанною гіпертензією. Додатковий позитивний ефект Гіпертрилу на систему NO на фоні його β -адреноблокуючої дії призводить не лише до нормалізації артеріального тиску, але й до покращення метаболізму міокарда та пригнічення оксидативного стресу у щурів зі спонтанною гіпертензією [431, 451]. Вперше отримано дані щодо впливу Гіпертрилу на активність eNOS у крові щурів за умови доксорубіциново-індукованої ХСН [424].

Вплив Гіпертрилу на систему NO у щурів із доксорубіциново-індукованою ХСН призводить до покращення морфофункціональних характеристик кардіоміоцитів [439] і найвиразнішого поліпшення біоелектричної активності серця порівняно з карведилолом, небівололом, метопрололом та бісопрололом [446]. Крім того, вплив Гіпертрилу на експресію eNOS може бути пов'язаний із його дією на тіол-дисульфідну систему та підвищенням рівня відновлених тіолів, що було виявлено у дослідженні. Відомо, що дефіцит проміжних продуктів глутатіону у цій системі може сприяти зниженню функції eNOS [454].

Сполуки, що підвищують рівень SH-груп (наприклад, ацетилцистеїн), призводять до нормалізації метилювання ДНК у промоторі eNOS [27]. Ми вважаємо, що позитивна модуляція експресії eNOS Гіпертрилом, підтверджена імуноензимними методами та імуногістохімією, базується на його антиоксидантній дії. Було встановлено, що 1,2,4-триазольні похідні є радикаловловлювачами

активних форм кисню (ROS) та пероксинітриту [73]. Відповідно до концепції «kindling radicals» або гіпотези «багаття», ROS і пероксинітрит є активними механізмами роз'єднання eNOS [444].

Антиоксидантна модуляція експресії eNOS у серцево-судинній патології є перспективною. Цільовими механізмами такої модуляції можуть бути окисне виснаження тетрагідробіоптерину, окисне модифікування цинк-сіркового комплексу димера eNOS, дефіцит глутатіону, ROS-залежне окислення залишків цистеїну та фосфорилування Thr495/Tyr657, АФК-залежне підвищення асиметричного диметиларгініну [73, 444].

У ході дослідження було продемонстровано вплив β -адреноблокаторів на активність нітродергічної системи міокарда у доксорубіциновій моделі ХСН. Найвиразніший ефект спостерігався у небівололу та, особливо, Гіпертрилу. Карведилол мав менш виражений вплив, а бісопролол проявляв досить слабку дію на систему NO. Метопролол не впливав на систему NO у досліджуваній моделі ХСН.

Препарати можна ранжувати за ефективністю у такій послідовності: Гіпертрил > небіволол > карведилол > бісопролол. На нашу думку, вплив досліджених β -адреноблокаторів на систему NO обумовлений їх антиоксидантною дією, а саме здатністю регулювати утворення АФК та пероксинітриту, а не пригнічувати процеси перекисного окислення ліпідів. Оскільки АФК можуть призводити до оксидативної інактивації eNOS, це знижує біодоступність NO та SH/АФК-залежну експресію eNOS [27, 73, 444,].

Отримані результати узгоджуються із загальноприйнятими уявленнями щодо порушень енергозабезпечення міокарда в умовах ішемії [460]. Виявлені зміни концентрації малату та активності NAD-МДГ у міокарді щурів із ХСН свідчать про можливе пригнічення роботи малат-аспартатного шунта транспорту відновлених еквівалентів до мітохондрій [461, 462] і формування вторинної мітохондріальної дисфункції. Серед причин виникнення мітохондріальної дисфункції при ХСН відзначають оксидативний стрес, порушення біосинтезу NO, утворення його цитотоксичних похідних та розвиток нітрозуючого стресу [52, 101, 463].

На сьогодні відомо, що основними проявами мітохондріальної дисфункції є зниження рівня АТФ у клітині, підвищення рівня лактату та зменшення концентрації пірувату, активація механізмів клітинної загибелі та посилене утворення мітохондріями активних форм кисню [464]. Найбільш повно вивчено вплив порушення синтезу АТФ у мітохондріях на функціональну активність міокарда [465]. Встановлено, що при зниженні вмісту АТФ у мітохондріях і цитозолі міокарда на 10–20% активність усіх енергозалежних процесів зменшується на 80%. Наслідками дефіциту АТФ є пригнічення роботи іонних насосів, порушення іонного гомеостазу та, відповідно, скоротливої функції серця [466].

Пригнічення процесів енергопродукції в мітохондріях кардіоміоцитів супроводжується ослабленням ліпідного β -окиснення, що призводить до порушення ліпідного гомеостазу в клітині та накопичення ацил-КоА тіоефірів, ацилкарнітинів, церамідів і тригліцеридів, які сприяють розвитку гіпертрофії міокарда при ХСН [467, 468].

Під впливом АФК, утворених у мітохондріях, відбувається посилення відкриття мітохондріальних пор, експресії та вивільнення протеїнів із проапоптозною активністю у цитозоль. Відкриття пор зумовлене окисненням тіольних груп цистеїн-залежної ділянки білка внутрішньої мембрани мітохондрій (АТФ/АДФ-антипортера) цитотоксичними похідними NO, що перетворює його на проникний неспецифічний канал — пору [51, 80].

Мітохондріально-генеровані АФК також беруть участь у передачі внутрішньоклітинних сигналів від рецепторів ендотеліну, TGF- β_1 , PDGF, AT-II, FGF-2 тощо. Крім того, АФК здатні змінювати активність різних транскрипційних факторів, зокрема NF- κ B, AP-1 та проапоптозного білка p66Shc. У цілому, підвищене утворення АФК, впливаючи на описані вище внутрішньоклітинні сигнальні механізми, може сприяти активації запального процесу в серцевій тканині та розвитку гіпертрофічних і фібротичних змін [469, 470].

Аналізуючи отримані результати біохімічних досліджень енергетичного метаболізму міокарда при експериментальній ХСН та після введення Гіпертрилу, можна зробити висновок, що пусковим механізмом антишемічної дії цього

препарату є його вплив на дисфункцію мітохондрій кардіоміоцитів. Ймовірно, Гіпертрин, зменшуючи ушкоджувальний вплив АФК і вільних радикалів на SH-групи цистеїн-залежної ділянки білка внутрішньої мембрани мітохондрій, запобігає відкриттю мітохондріальної пори та підтримує функціональну активність мітохондрій, що, у свою чергу, покращує енергетичний метаболізм міокарда в умовах ішемії [80].

Це положення підтверджується й нашими попередніми дослідженнями, які показали, що Гіпертрин, на відміну від метопрололу, бісопрололу, карведилолу та небівололу, знижує прояви систолічної та діастолічної дисфункції, сприяє відновленню автономних механізмів регуляції серцевого ритму та зменшенню амплітуди сегмента ST ($p < 0,05$). У поєднанні з відновленням амплітуди зубця R це свідчить про збереження високої працездатності кардіоміоцитів при доксорубіциново-індукованій ХСН [446].

Механізм такого впливу Гіпертрину на параметри енергетичного метаболізму у щурів з ХСН, імовірно, пов'язаний не лише з його β_1 -адреноблокуючою активністю, але й реалізується через додаткові раніше встановлені механізми — антиоксидантний і NO-міметичний. Обґрунтованість таких припущень підтверджується низкою досліджень, у яких показано, що у хворих із мітохондріальними порушеннями спостерігається дефіцит NO, тоді як застосування NO-міметиків покращує мітохондріальну функцію та енергетичний метаболізм [471, 472].

Карведилол — антагоніст β -адренорецепторів із потужною антиоксидантною активністю — забезпечує високий ступінь кардіопротекції в різних експериментальних моделях ішемічного ураження серця. Отримано дані про вплив карведилолу на мітохондріальні біоенергетичні функції та утворення АФК. Встановлено, що карведилол здатний знижувати утворення H_2O_2 , підвищувати рівень відновленого глутатіону та відновлювати мітохондріальне дихання завдяки своєму антиоксидантному ефекту [473].

Карведилол проявляє властивості пастки для АФК, а також пригнічує їх генерацію в мітохондріях за рахунок так званого «м'якого роз'єднання» дихального

ланцюга і незначного зниження потенціалу мітохондріальної мембрани; він здатний безпосередньо захищати ультраструктуру мітохондрій і зменшувати Ca^{2+} -перевантаження, однак не впливає на показники мітохондріального дихання після семитижневого введення доксорубіцину [474, 475].

Показано, що прямі міопротекторні властивості карведилолу зумовлені його здатністю пригнічувати утворення АФК у реакції ксантинооксидази в мітохондріях та підвищувати активність цитозольної Cu,Zn-SOD , мітохондріальної Mn-SOD і каталази [475, 476]. Також встановлено, що «антиоксидантні» концентрації карведилолу та його метаболіту VM-910228 не впливають на параметри мітохондріального дихання [474]. В окремих дослідженнях показано, що карведилол, завдяки ефекту часткового роз'єднання мітохондріальних процесів, може проявляти прооксидантні властивості [459].

Отримані результати, які свідчать про відсутність достовірного впливу метопрололу на енергетичний метаболізм міокарда, узгоджуються з даними інших дослідників. Так, було показано, що цей селективний β -блокатор, призначений для лікування ХСН [15], не покращує ультраструктуру мітохондрій після введення доксорубіцину, не знижує інтенсивність процесів пероксидації та не зменшує ступінь Ca^{2+} -перевантаження мітохондрій [477-479]. Встановлено, що метопролол послаблює постінфарктне структурне ремоделювання міокарда без супутнього покращення енергетичного метаболізму у щурів із ХСН [480].

Бісопролол став першим β -блокатором, який продемонстрував клінічну ефективність при серцевій недостатності [481]. Наші результати підтвердили відсутність чітко вираженого впливу бісопрололу на енергетичний метаболізм міокарда при ХСН (за винятком впливу на активність ЛДГ), що узгоджується з результатами інших досліджень [482]. Показано, що кардіопротекторний ефект бісопрололу не пов'язаний з оптимізацією енергетичного метаболізму, а зумовлений іншими молекулярними механізмами [483]. Також доведено, що бісопролол може інгібувати мітохондріальне дихання та синтез АТФ у пухлинних клітинах [484].

Було встановлено, що блокада серцевих β_1 -рецепторів традиційними β -адреноблокаторами через сигнальний шлях РКА/сАМР пригнічує ядерно-кодований мітохондріальний білок IF1 і гальмує окисне фосфорилування в мітохондріях міокарда [484].

Небіволол є β -блокатором останнього покоління з додатковими метаболіторопними властивостями - NO-міметичними та антиоксидантними — і активно застосовується у терапії артеріальної гіпертензії та ХСН [485]. Наразі відсутні повні дані про його вплив на енергетичний метаболізм міокарда при ХСН, тому порівняння наших результатів із результатами інших дослідників є складним. Відомо, що небіволлол є ефективним у нейтралізації АФК, здатний захищати мембрани мітохондрій, впливати на різні механізми мітоапоптозу, підвищувати рівень АТФ, креатинфосфату та нормалізувати співвідношення [лактат]/[піруват]. При цьому ефект на енергетичний метаболізм не пов'язаний безпосередньо з його NO-міметичною активністю [486-487].

Разом з тим наявні дані, які демонструють залучення небіволлолу до посилення процесів мітохондріальної дисфункції у пухлинних клітинах [484, 488], тоді як інші дослідження не підтверджують прямого негативного впливу небіволлолу на мітохондрії непухлинних клітин, що свідчить про його високу селективність і відсутність антимітотичної токсичності [484, 489]. Таким чином, проведені дослідження встановили неоднозначний вплив бета-блокаторів на енергетичний метаболізм міокарда у моделі ХСН, індукованої доксорубіцином. Традиційні бета-блокатори другого покоління (метопролол та бісопролол) не впливали на досліджувані показники енергетичного метаболізму, а бета-блокатори третього покоління з додатковими властивостями — карведилол, а особливо небіволлол та Гіпертрин — покращували енергетичний метаболізм міокарда. Використання цих препаратів, і особливо Гіпертрину, у ХСН призводило до збільшення вмісту АТФ і АДФ на фоні зниження АМФ та лактату з одночасним підвищенням активності СДГ, NAD-МДГ та концентрації малату в різних фракціях гомогенату міокарда щурів з ХСН. Бета-блокатори з додатковими властивостями, та особливо Гіпертрин, знижували відкриття мітохондріальної пори і збільшували заряд внутрішньої

мембрани мітохондрій міокарда. Виявлені факти свідчать про можливий вплив небівололу і Гіпертрилу на окремі ланки енергетичного метаболізму міокарда (активацію компенсаторних енергетичних шунтів за ішемічних умов), а також про можливий мітохондріопротекторний ефект. Отримані результати сприятимуть розширенню уявлень щодо впливу бета-блокаторів різних поколінь, які застосовують для лікування серцево-судинних захворювань, на енергетичний метаболізм та будуть експериментальним обґрунтуванням практичного вибору цих препаратів у комплексній терапії ХСН. Отримані результати продемонстрували беззаперечну перевагу нової оригінальної молекули (Гіпертрил) над базовими β -адреноблокаторами (Метопрололом, Небівололом, Карведилолом та Бісопрололом) та експериментально обґрунтовують подальше глибоке дослідження з метою створення на її основі препарату у вигляді таблеток для лікування хронічної серцевої недостатності

ВИСНОВКИ

1. Курсове внутрішньошлункове введення метопрололу сукцинату (15 мг/кг), небівололу (10 мг/кг), карведилолу (50 мг/кг), бісопрололу (10 мг/кг) та Гіпертрилу (3,5 мг/кг) протягом 30 діб експериментальним тваринам після моделювання ХСН різного ступеня вираженості покращувало показники ЕКГ. Найбільш активним був Гіпертрил, введення якого призводило до зменшення ЧСС на 20% (PST<0,001), підвищення амплітуди зубця Т на 30% (PST<0,001), нормалізації тривалості зубця Р, комплексу QRS, інтервалу TP (PST>0,05) до значень інтактних тварин, вкорочення сегмента PQ на 40% (PST<0,001), а також до трикратного підвищення спектральної потужності серцевого ритму TPW (PST<0,001), зниження у 2,6 раза (PST<0,001) стрес-індексу SI, підвищення потужності симпатичної (LF) і парасимпатичної (HF) регуляції ВРСР до показників інтактних тварин, що свідчило про зменшення систолічної та діастолічної дисфункції міокарда і відновлення вегетативних механізмів регуляції серцевого ритму при ХСН.
2. Курсове внутрішньошлункове введення тваринам з експериментальною ХСН метопрололу сукцинату, небівололу, карведилолу, бісопрололу та гіпертрилу різного ступеня вираженості призводить до нормалізації активності нітродергічної системи міокарда. Найбільш ефективним було призначення гіпертрилу, який підвищував активність NOS (p<0,05) у цитозолі на 38,5% і в мітохондріях на 23% за рахунок зростання eNOS (підвищення щільності eNOS-позитивних клітин на 95,6% (p<0,05) і трикратне підвищення експресії eNOS (p<0,05)), збільшуючи таким чином утворення NO (підвищення вмісту нітритів у цитозолі на 37% (p<0,05) і в мітохондріях на 28% (p<0,05)) міокарда, а також сприяв нормалізації експресії iNOS у міокарді (зменшення щільності iNOS-позитивних клітин на 56% (p<0,05) і зниження експресії iNOS на 72% (p<0,05) порівняно з групою контролю.
3. Курсове внутрішньошлункове введення тваринам з експериментальною ХСН метопрололу сукцинату, небівололу, карведилолу, бісопрололу та гіпертрилу

різного ступеня вираженості призводить до гальмування нітрозативного стресу та підвищення антиоксидантного захисту міокарда. Найвищу антиоксидантну активність проявляв гіпертрил, який знижував рівень нітротирозину на 36% у цитозолі ($p < 0,05$) і на 55% у мітохондріях міокарда та підвищував вміст відновлених тіолів на 65,4% ($p < 0,05$) у цитозолі міокарда порівняно з контрольною групою (неліковані тварини).

4. Курсове внутрішньошлункове введення тваринам з експериментальною ХСН метопрололу сукцинату, небівололу, карведилолу, бісопрололу та гіпертрилу різного ступеня вираженості призводить до зменшення проявів вторинної мітохондріальної дисфункції та нормалізації енергетичного метаболізму міокарда. Найвищу активність проявляв гіпертрил: зменшував відкривання мітохондріальної пори на 51% ($p < 0,05$), підвищував заряд внутрішньої мембрани мітохондрій міокарда на 82% ($p < 0,05$) на тлі збільшення в цитозолі міокарда рівня АТФ на 42% і АДФ на 24% ($p < 0,05$), знижував вміст лактату на 38,8% ($p < 0,05$), підвищував рівень пірувату на 24%, малату на 90% ($p < 0,05$), а також активність СДГ на 72% ($p < 0,05$) і НАДН-МДГ на 75,3% ($p < 0,05$) порівняно з групою нелікованих тварин.
5. За впливом на більшість досліджуваних показників ЕКГ, а також біохімічні, молекулярні та імуногістохімічні показники ушкодження серця в умовах ХСН Гіпертрил перевищує метопролол, бісопролол та карведилол ($p < 0,05$), що експериментально обґрунтовує створення його лікарської форми – таблеток
6. Розроблено новий сучасний метод стандартизації таблеток Гіпертрил. Таблетки Гіпертрил належать до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) при внутрішньошлунковому введенні, не виявляють кумулятивної, місцево-подразнювальної, шкірно-подразнювальної та алергізуючої дії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Gaziano TA, Bitton A, Anand S, Abrahams-Gessel S, Murphy A. Growing epidemic of coronary heart disease in low- and middle-income countries. *Curr Probl Cardiol.* 2010 Feb;35(2):72-115. <https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2009.10.002>
2. Vaduganathan M, Mensah GA, Turco JV, Fuster V, Roth GA. The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk: A Compass for Future Health. *J Am Coll Cardiol.* 2022 Dec 20;80(25):2361-2371. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2022.11.005>
3. Savarese G, Becher PM, Lund LH, Seferovic P, Rosano GMC, Coats AJS. Global burden of heart failure: a comprehensive and updated review of epidemiology. *Cardiovasc Res.* 2023 Jan 18;118(17):3272-3287. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvac013>
4. Erratum in: *Cardiovasc Res.* 2023 Jun 13;119(6):1453. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvad026>
5. Nicola Luigi Bragazzi, Wen Zhong, Jingxian Shu, Arsalan Abu Much, Dor Lotan, Avishay Grupper, Arwa Younis, Haijiang Dai, Burden of heart failure and underlying causes in 195 countries and territories from 1990 to 2017, *European Journal of Preventive Cardiology*, Volume 28, Issue 15, December 2021, Pages 1682–1690, <https://doi.org/10.1093/eurjpc/zwaa147>
6. Sapna F, Raveena F, Chandio M, Bai K, Sayyar M, Varrassi G, Khatri M, Kumar S, Mohamad T. Advancements in Heart Failure Management: A Comprehensive Narrative Review of Emerging Therapies. *Cureus.* 2023 Oct 4;15(10):e46486. <https://doi.org/10.7759/cureus.46486>
7. Ramani GV, Uber PA, Mehra MR. Chronic heart failure: contemporary diagnosis and management. *Mayo Clin Proc.* 2010 Feb;85(2):180-95. <https://doi.org/10.4065/mcp.2009.0494>
8. MacDonald MR, Tay WT, Teng TK, Anand I, Ling LH, Yap J, Tromp J, Wander GS, Naik A, Ngarmukos T, Siswanto BB, Hung CL, Richards AM, Lam CSP; Regional Variation of Mortality in Heart Failure With Reduced and Preserved Ejection Fraction

- Across Asia: Outcomes in the ASIAN-HF Registry. *J Am Heart Assoc.* 2020 Jan 7;9(1):e012199. <https://doi.org/10.1161/JAHA.119.012199>
9. Epub 2019 Dec 19. Erratum in: *J Am Heart Assoc.* 2020 Mar 3;9(5):e014512. <https://doi.org/10.1161/JAHA.119.014512>
10. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GMC, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J.* 2016 Jul 14;37(27):2129-2200. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw128>
11. Epub 2016 May 20. Erratum in: *Eur Heart J.* 2018 Mar 7;39(10):860. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw383>
12. Writing Committee Members; ACC/AHA Joint Committee Members. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure. *J Card Fail.* 2022 May;28(5):e1-e167. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2022.02.010>
13. Berliner D, Hänselmann A, Bauersachs J. The Treatment of Heart Failure with Reduced Ejection Fraction. *Dtsch Arztebl Int.* 2020 May 22;117(21):376-386. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2020.0376>
14. van der Horst IC, Voors AA, van Veldhuisen DJ. Treatment of heart failure with ACE inhibitors and beta-blockers: what is next? Aldosterone receptor antagonists? *Clin Res Cardiol.* 2007 Apr;96(4):193-5. <https://doi.org/10.1007/s00392-007-0487-y>
15. Dézsi CA, Szentes V. The Real Role of β -Blockers in Daily Cardiovascular Therapy. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2017 Oct;17(5):361-373. <https://doi.org/10.1007/s40256-017-0221-8>
16. Egan BM, Basile J, Chilton RJ, Cohen JD. Cardioprotection: the role of beta-blocker therapy. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2005 Jul;7(7):409-16. <https://doi.org/10.1111/j.1524-6175.2005.04486.x>

17. Bangalore S, Wild D, Parkar S, Kucin M, Messerli FH. Beta-blockers for primary prevention of heart failure in patients with hypertension insights from a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2008 Sep 23;52(13):1062-72. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.05.057>
18. do Vale GT, Ceron CS, Gonzaga NA, Simplicio JA, Padovan JC. Three Generations of β -blockers: History, Class Differences and Clinical Applicability. *Curr Hypertens Rev.* 2019;15(1):22-31. <https://doi.org/10.2174/1573402114666180918102735>
19. Fisker FY, Grimm D, Wehland M. Third-generation beta-adrenoceptor antagonists in the treatment of hypertension and heart failure. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2015 Jul;117(1):5-14. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12396>
20. Oliver E, Mayor F Jr, D'Ocon P. Beta-blockers: Historical Perspective and Mechanisms of Action. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2019 Oct;72(10):853-862. English, Spanish. <https://doi.org/10.1016/j.rec.2019.04.006>
21. Belsey J, Savelieva I, Mugelli A, Camm AJ. Relative efficacy of antianginal drugs used as add-on therapy in patients with stable angina: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Prev Cardiol.* 2015 Jul;22(7):837-48. <https://doi.org/10.1177/2047487314533217>
22. Galderisi M, D'Errico A. Beta-blockers and coronary flow reserve: the impotence of a vasodilatory action. *Drugs* 2008;68:579-90. <https://doi.org/10.2165/00003495-200868050-00002>
23. Fongemie J, Felix-Getzik E. A review of nebivolol pharmacology and clinical evidence. *Drugs* 2015;75:1349-71. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0435-5>
24. Mazur I, Belenichev I, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Puzyrenko A, Khromylova O, Bidnenko O, Gorchakova N. Antihypertensive and cardioprotective effects of new compound 1-(β -phenylethyl)-4-amino-1,2,4-triazolium bromide (Hypertril). *Eur J Pharmacol.* 2019 Jun 15;853:336-344. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.04.013>
25. Liu M, Lv J, Pan Z, Wang D, Zhao L, Guo X. Mitochondrial dysfunction in heart failure and its therapeutic implications. *Front Cardiovasc Med.* 2022 Aug 24;9:945142. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.945142>

26. Zhou B, Tian R. Mitochondrial dysfunction in pathophysiology of heart failure. *J Clin Invest*. 2018 Aug 31;128(9):3716-3726. <https://doi.org/10.1172/JCI120849>
27. Zuchi C, Tritto I, Carluccio E, Mattei C, Cattadori G, Ambrosio G. Role of endothelial dysfunction in heart failure. *Heart Fail Rev*. 2020 Jan;25(1):21-30. <https://doi.org/10.1007/s10741-019-09881-3>
28. Schwinger RHG. Pathophysiology of heart failure. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2021 Feb;11(1):263-276. <https://doi.org/10.21037/cdt-20-302>
29. Shahim B, Kapelios CJ, Savarese G, Lund LH. Global Public Health Burden of Heart Failure: An Updated Review. *Card Fail Rev*. 2023 Jul 27;9:e11. <https://doi.org/10.15420/cfr.2023.05>
30. Ran, J., Zhou, P., Wang, J. *et al*. Global, regional, and national burden of heart failure and its underlying causes, 1990–2021: results from the global burden of disease study 2021. *Biomark Res* 13, 16 (2025). <https://doi.org/10.1186/s40364-025-00728-8>
31. Montalto, M.; D’Ignazio, F.; Camilli, S.; Di Francesco, S.; Fedele, M.; Landi, F.; Gallo, A. Heart Failure in Older Patients: An Update. *J. Clin. Med*. 2025, 14, 1982. <https://doi.org/10.3390/jcm14061982>
32. Savarese G, Lund LH. Global Public Health Burden of Heart Failure. *Card Fail Rev*. 2017 Apr;3(1):7-11. <https://doi.org/10.15420/cfr.2016:25:2>
33. Sapna F, Raveena F, Chandio M, Bai K, Sayyar M, Varrassi G, Khatri M, Kumar S, Mohamad T. Advancements in Heart Failure Management: A Comprehensive Narrative Review of Emerging Therapies. *Cureus*. 2023 Oct 4;15(10):e46486. <https://doi.org/10.7759/cureus.46486>
34. Feng J, Zhang Y, Zhang J. Epidemiology and Burden of Heart Failure in Asia. *JACC Asia*. 2024 Mar 19;4(4):249-264. <https://doi.org/10.1016/j.jacasi.2024.01.013>
35. Bozkurt B, Ahmad T, Alexander KM, Baker WL, Bosak K, Brethett K, Fonarow GC, Heidenreich P, Ho JE, Hsieh E, Ibrahim NE, Jones LM, Khan SS, Khazanie P, Koelling T, Krumholz HM, Khush KK, Lee C, Morris AA, Page RL 2nd, Pandey A, Piano MR, Stehlik J, Stevenson LW, Teerlink JR, Vaduganathan M, Ziaeian B; Writing Committee Members. Heart Failure Epidemiology and Outcomes Statistics: A Report of the Heart

Failure Society of America. *J Card Fail.* 2023 Oct;29(10):1412-1451. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2023.07.006>

36. Saloni Dattani (2025) - “Death rates from cardiovascular disease have fallen dramatically — what were the breakthroughs behind this?” Published online at OurWorldinData.org. Retrieved from: <https://ourworldindata.org/cardiovascular-deaths-decline> [Online Resource]

37. Metra M, Dinatolo E, Dasseni N. The New Heart Failure Association Definition of Advanced Heart Failure. *Card Fail Rev.* 2019 Feb;5(1):5-8. <https://doi.org/10.15420/cfr.2018.43.1>

38. Guaricci AI, Sturdà F, Russo R, Basile P, Baggiano A, Mushtaq S, Fusini L, Fazzari F, Bertandino F, Monitillo F, Carella MC, Simonini M, Pontone G, Ciccone MM, Grandaliano G, Vezzoli G, Pesce F. Assessment and management of heart failure in patients with chronic kidney disease. *Heart Fail Rev.* 2024 Mar;29(2):379-394. <https://doi.org/10.1007/s10741-023-10346-x>

39. Teerlink JR, Alburikan K, Metra M, Rodgers JE. Acute decompensated heart failure update. *Curr Cardiol Rev.* 2015;11(1):53-62. <https://doi.org/10.2174/1573403x09666131117174414>

40. Shams P, Malik A, Chhabra L. Heart Failure (Congestive Heart Failure) [Updated 2025 Feb 26]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430873>

41. Wenxuan Hong, Yuwen Zhu, Mengwen Qi, Xiaoyan Wang, Mingming Fang, The dioxygenase TET2 regulates pathological cardiac hypertrophy, *Life Sciences*, 379, (123915), (2025). <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2025.123915>

42. Yong, J., Tao, J., Wang, K. *et al.* Post-myocardial Infarction Cardiac Remodeling: Multidimensional Mechanisms and Clinical Prospects of Stem Cell Therapy. *Stem Cell Rev and Rep* **21**, 1369–1427 (2025). <https://doi.org/10.1007/s12015-025-10888-7>

43. Haque ZK, Wang DZ. How cardiomyocytes sense pathophysiological stresses for cardiac remodeling. *Cell Mol Life Sci.* 2017 Mar;74(6):983-1000. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2373-0>

44. Singh RK 4th, Meshram RJ, Tiwari A. A Review of the Mechanism of Action of Drugs Used in Congestive Heart Failure in Pediatrics. *Cureus*. 2023 Jan 16;15(1):e33811. <https://doi.org/10.7759/cureus.33811>
45. Ciuca-Pană, M.-A.; Boulmpou, A.; Ileri, C.; Manzi, G.; Golino, M.; Ostojic, M.; Galimzhanov, A.; Busnatu, S.; Mega, S.; Perone, F. Chronic Heart Failure and Coronary Artery Disease: Pharmacological Treatment and Cardiac Rehabilitation. *Medicina* **2025**, *61*, 211. <https://doi.org/10.3390/medicina61020211>
46. Chawla HV, Singh N, Singh SB. The Association Between Oxidative Stress and the Progression of Heart Failure: A Systematic Review. *Cureus*. 2024 Mar 1;16(3):e55313. <https://doi.org/10.7759/cureus.55313>
47. Wróbel-Nowicka K, Wojciechowska C, Jacheć W, Zalewska M, Romuk E. The Role of Oxidative Stress and Inflammatory Parameters in Heart Failure. *Medicina (Kaunas)*. 2024 May 2;60(5):760. <https://doi.org/10.3390/medicina60050760>
48. Del Re DP, Amgalan D, Linkermann A, Liu Q, Kitsis RN. Fundamental Mechanisms of Regulated Cell Death and Implications for Heart Disease. *Physiol Rev*. 2019 Oct 1;99(4):1765-1817. <https://doi.org/10.1152/physrev.00022.2018>
49. Jan R, Chaudhry GE. Understanding Apoptosis and Apoptotic Pathways Targeted Cancer Therapeutics. *Adv Pharm Bull*. 2019 Jun;9(2):205-218. <https://doi.org/10.15171/apb.2019.024>
50. Zhang Z, Zhao X, Zhang X, Wan S, An P, Zhu Y, Luo Y, Luo J. Mitochondrial cardiovascular diseases: molecular mechanisms, multi-omics exploration and therapeutic strategies. *J Adv Res*. 2025 Jul 16:S2090-1232(25)00546-6. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2025.07.021>
51. Belenichev I, Aliyeva O, Popazova O, Bukhtiyarova N. Molecular and biochemical mechanisms of diabetic encephalopathy. *Acta Biochim Pol*. 2023 Nov 22;70(4):751-760. https://doi.org/10.18388/abp.2020_6953
52. Kamenshchuk, A.; Belenichev, I.; Oksenysh, V.; Kamyshnyi, O. Combined Pharmacological Modulation of Translational and Transcriptional Activity Signaling Pathways as a Promising Therapeutic Approach in Children with Myocardial Changes. *Biomolecules* **2024**, *14*, 477. <https://doi.org/10.3390/biom14040477>

53. Rosca MG, Hoppel CL. Mitochondrial dysfunction in heart failure. *Heart Fail Rev*. 2013 Sep;18(5):607-22. <https://doi.org/10.1007/s10741-012-9340-0>; Paraskevaidis, I.; Kourek, C.; Farmakis, D.; Tsougos, E. Mitochondrial Dysfunction in Cardiac Disease: The Fort Fell. *Biomolecules* **2024**, *14*, 1534. <https://doi.org/10.3390/biom14121534>
54. Siasos G, Tsigkou V, Kosmopoulos M, Theodosiadis D, Simantiris S, Tagkou NM, Tsimpiktsioglou A, Stampouloglou PK, Oikonomou E, Mourouzis K, Philippou A, Vavuranakis M, Stefanadis C, Tousoulis D, Papavassiliou AG. Mitochondria and cardiovascular diseases-from pathophysiology to treatment. *Ann Transl Med*. 2018 Jun;6(12):256. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.06.21>
55. Knowlton AA, Chen L, Malik ZA. Heart failure and mitochondrial dysfunction: the role of mitochondrial fission/fusion abnormalities and new therapeutic strategies. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2014 Mar;63(3):196-206. <https://doi.org/10.1097/01.fjc.0000432861.55968.a6>
56. Liu H, Wang S, Wang J, Guo X, Song Y, Fu K, Gao Z, Liu D, He W, Yang LL. Energy metabolism in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2025 Feb 18;10(1):69. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02141-x>
57. PMID: 39966374; PMCID: PMC11836267; Valero T. Mitochondrial biogenesis: pharmacological approaches. *Curr Pharm Des*. 2014;20(35):5507-9. <https://doi.org/10.2174/138161282035140911142118>
58. Qian X, Zai Z, Tao Y, Lv H, Hao M, Zhang L, Zhang X, Xu Y, Zhang Y, Chen F. Acidosis regulates immune progression in rheumatoid arthritis by promoting the expression of cytokines and co-stimulatory molecules in synovial fibroblasts. *Mol Med*. 2025 Apr 15;31(1):136. <https://doi.org/10.1186/s10020-025-01181-x>
59. Sisková Z, Mahad DJ, Pudney C, Campbell G, Cadogan M, Asuni A, O'Connor V, Perry VH. Morphological and functional abnormalities in mitochondria associated with synaptic degeneration in prion disease. *Am J Pathol*. 2010 Sep;177(3):1411-21. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.091037>
60. Khan T, Waseem R, Zehra Z, Aiman A, Bhardwaj P, Ansari J, Hassan MI, Islam A. Mitochondrial Dysfunction: Pathophysiology and Mitochondria-Targeted Drug Delivery

- Approaches. Pharmaceutics. 2022 Nov 30;14(12):2657. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122657>
61. Lopaschuk GD, Karwi QG, Tian R, Wende AR, Abel ED. Cardiac Energy Metabolism in Heart Failure. *Circ Res.* 2021 May 14;128(10):1487-1513. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318241>
62. Sun Q, Karwi QG, Wong N, Lopaschuk GD. Advances in myocardial energy metabolism: metabolic remodelling in heart failure and beyond. *Cardiovasc Res.* 2024 Dec 14;120(16):1996-2016. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvae231>
63. Lopaschuk GD. Metabolic Modulators in Heart Disease: Past, Present, and Future. *Can J Cardiol.* 2017 Jul;33(7):838-849. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2016.12.013>
64. Baddam S, Tubben RE. Lactic Acidosis. [Updated 2025 Apr 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470202>
65. Adamo L, Nassif ME, Novak E, LaRue SJ, Mann DL. Prevalence of lactic acidaemia in patients with advanced heart failure and depressed cardiac output. *Eur J Heart Fail.* 2017 Aug;19(8):1027-1033. <https://doi.org/10.1002/ejhf.628>
66. Gajewski, P.; Wilk, M.M.; Aleksandrowicz, K.; Ponikowska, B.; Zymlński, R. Lactate in Heart Failure. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, *26*, 6810. <https://doi.org/10.3390/ijms26146810>
67. Mathew, R, Fernando, S, Hu, K. et al. Optimal Perfusion Targets in Cardiogenic Shock. *JACC Adv.* 2022 Jun, 1 (2). <https://doi.org/10.1016/j.jacadv.2022.100034>
68. Ouyang, J., Wang, H. & Huang, J. The role of lactate in cardiovascular diseases. *Cell Commun Signal* **21**, 317 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01350-7>
69. Roy R, Wilcox J, Webb AJ, O'Gallagher K. Dysfunctional and Dysregulated Nitric Oxide Synthases in Cardiovascular Disease: Mechanisms and Therapeutic Potential. *Int J Mol Sci.* 2023 Oct 15;24(20):15200. <https://doi.org/10.3390/ijms242015200>
70. Tengan CH, Moraes CT. NO control of mitochondrial function in normal and transformed cells. *Biochim Biophys Acta Bioenerg.* 2017 Aug;1858(8):573-581. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2017.02.009>

71. Rodrigues, G., Godinho, R., Kiyomoto, B. *et al.* Integrated analysis of the involvement of nitric oxide synthesis in mitochondrial proliferation, mitochondrial deficiency and apoptosis in skeletal muscle fibres. *Sci Rep* **6**, 20780 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep20780>
72. Fujii, J.; Homma, T.; Osaki, T. Superoxide Radicals in the Execution of Cell Death. *Antioxidants* **2022**, *11*, 501. <https://doi.org/10.3390/antiox11030501>
73. Belenichev I. F., Bak P. G., Popazova O. O., Bukhtiyarova N. V., Yadlovsy O. E. Nitric oxide-dependent mechanism of endothelial dysfunction formation is a promising target link for pharmacological management *Biopolym. Cell.* 2022; 38(3):145-157. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A79>
74. Chandimali, N., Bak, S.G., Park, E.H. *et al.* Free radicals and their impact on health and antioxidant defenses: a review. *Cell Death Discov.* **11**, 19 (2025). <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02278-8>
75. Pall ML. The NO/ONOO-cycle as the central cause of heart failure. *Int J Mol Sci.* 2013 Nov 13;14(11):22274-330. <https://doi.org/10.3390/ijms141122274>
76. Tengan CH, Rodrigues GS, Godinho RO. Nitric oxide in skeletal muscle: role on mitochondrial biogenesis and function. *Int J Mol Sci.* 2012 Dec 14;13(12):17160-84. <https://doi.org/10.3390/ijms131217160>
77. PMID: 23242154; PMCID: PMC3546744. ;Lacza Z, Pankotai E, Busija DW. Mitochondrial nitric oxide synthase: current concepts and controversies. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2009 Jan 1;14(12):4436-43. <https://doi.org/10.2741/3539>
78. D'Oria R, Schipani R, Leonardini A, Natalicchio A, Perrini S, Cignarelli A, Laviola L, Giorgino F. The Role of Oxidative Stress in Cardiac Disease: From Physiological Response to Injury Factor. *Oxid Med Cell Longev.* 2020 May 14;2020:5732956. <https://doi.org/10.1155/2020/5732956>
79. Naranjan S. Dhalla, Adel B. Elmoselhi, Tomoji Hata, Naoki Makino, Status of myocardial antioxidants in ischemia–reperfusion injury, *Cardiovascular Research*, Volume 47, Issue 3, August 2000, Pages 446–456, [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(00\)00078-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(00)00078-X)

80. Belenichev I, Popazova O, Bukhtiyarova N, Savchenko D, Oksenyich V, Kamyshnyi O. Modulating Nitric Oxide: Implications for Cytotoxicity and Cytoprotection. *Antioxidants* (Basel). 2024 Apr 23;13(5):504. <https://doi.org/10.3390/antiox13050504>
81. Liu, C.-J.; Wang, L.-K.; Tsai, F.-M. The Application and Molecular Mechanisms of Mitochondria-Targeted Antioxidants in Chemotherapy-Induced Cardiac Injury. *Curr. Issues Mol. Biol.* **2025**, *47*, 176. <https://doi.org/10.3390/cimb47030176>
82. Ioannidis, I., Volk, T., de Groot, H. (1996). Cytotoxicity of Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide. In: Snyder, R., *et al.* Biological Reactive Intermediates V. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 387. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9480-9_4
83. Yamamoto T, Maruyama W, Kato Y, Yi H, Shamoto-Nagai M, Tanaka M, Sato Y, Naoi M. Selective nitration of mitochondrial complex I by peroxynitrite: involvement in mitochondria dysfunction and cell death of dopaminergic SH-SY5Y cells. *J Neural Transm* (Vienna). 2002;109(1):1-13. <https://doi.org/10.1007/s702-002-8232-1>
84. Mantle D, Hargreaves IP. Coenzyme Q10 and Autoimmune Disorders: An Overview. *Int J Mol Sci.* 2024 Apr 22;25(8):4576. <https://doi.org/10.3390/ijms25084576>
85. Pall, M.L. The NO/ONOO-Cycle as the Central Cause of Heart Failure. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 22274-22330. <https://doi.org/10.3390/ijms141122274>
86. Katori T, Donzelli S, Tocchetti CG, Miranda KM, Cormaci G, Thomas DD, Ketner EA, Lee MJ, Mancardi D, Wink DA, Kass DA, Paolocci N. Peroxynitrite and myocardial contractility: in vivo versus in vitro effects. *Free Radic Biol Med.* 2006 Nov 15;41(10):1606-18. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.08.023>
87. Boyman L, Williams GS, Khananshvil D, Sekler I, Lederer WJ. NCLX: the mitochondrial sodium calcium exchanger. *J Mol Cell Cardiol.* 2013 Jun;59:205-13. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2013.03.012>
88. Matuz-Mares, D.; González-Andrade, M.; Araiza-Villanueva, M.G.; Vilchis-Landeros, M.M.; Vázquez-Meza, H. Mitochondrial Calcium: Effects of Its Imbalance in Disease. *Antioxidants* **2022**, *11*, 801. <https://doi.org/10.3390/antiox1105080>

89. Romero-Garcia S, Prado-Garcia H. Mitochondrial calcium: Transport and modulation of cellular processes in homeostasis and cancer (Review). *Int J Oncol*. 2019 Apr;54(4):1155-1167. <https://doi.org/10.3892/ijo.2019.4696>
90. Goje ID, Goje GI, Ordodi VL, Ciobotaru VG, Ivan VS, Buzaş R, Tunea O, Bojin F, Lighezan DF. Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity and the Emerging Role of SGLT2 Inhibitors: From Glycemic Control to Cardio-Oncology. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2025 May 3;18(5):681. <https://doi.org/10.3390/ph18050681>
91. Lalu MM, Wang W, Schulz R. Peroxynitrite in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Heart Fail Rev*. 2002 Oct;7(4):359-69. <https://doi.org/10.1023/a:1020766502316>
92. Ahmad R. Peroxynitrite induced cytotoxicity and detection in cardiovascular, neurodegenerative and inflammatory disorders. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2022 Nov-Dec;16(6):1-2 PMC9682874 PMID: [36475029](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36475029/)
93. Balderas E, Lee SHJ, Rai NK, Mollinedo DM, Duron HE, Chaudhuri D. Mitochondrial Calcium Regulation of Cardiac Metabolism in Health and Disease. *Physiology (Bethesda)*. 2024 Sep 1;39(5):0. <https://doi.org/10.1152/physiol.00014.2024>
94. Xinxin Z, Pan H, Qiao L. Research progress of connexin 43 in cardiovascular diseases. *Front Cardiovasc Med*. 2025 Aug 22;12:1650548. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2025.1650548>
95. Cohen HM, Gottschalk B, Choya-Foces C, Chathoff A, Wilkinson A, Garbincius JF, Johnson A, Stevens TL, Howe JE, Megill E, Ngo J, Tomar D, Snyder NW, Graier WF, Elrod JW. MICU proteins facilitate Ca²⁺-dependent mitochondrial metabolon formation to regulate cellular energetics - independent of MCU. *Res Sq [Preprint]*. 2025 Jun 26:rs.3.rs-6346822. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-6346822/v1>
96. Metwally E, Sanchez Solano A, Lavanderos B, Yamasaki E, Thakore P, McClenaghan C, Rios N, Radi R, Feng Earley Y, Nichols CG, Earley S. Mitochondrial Ca²⁺-coupled generation of reactive oxygen species, peroxynitrite formation, and endothelial dysfunction in Cantú syndrome. *JCI Insight*. 2024 Aug 1;9(17):e176212. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.176212>
97. Ahmad M, Wolberg A, Kahwaji CI. Biochemistry, Electron Transport Chain. [Updated 2023 Sep 4]. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls

- Publishing; 2025 Jan-. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526105>
98. Joubert, F.; Puff, N. Mitochondrial Cristae Architecture and Functions: Lessons from Minimal Model Systems. *Membranes* **2021**, *11*, 465. <https://doi.org/10.3390/membranes11070465>).
99. Brown, D., Perry, J., Allen, M. *et al.* Mitochondrial function as a therapeutic target in heart failure. *Nat Rev Cardiol* **14**, 238–250 (2017). <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2016.203>
100. Ng SM, Neubauer S, Rider OJ. Myocardial Metabolism in Heart Failure. *Curr Heart Fail Rep.* 2023 Feb;20(1):63-75. <https://doi.org/10.1007/s11897-023-00589-y>
101. Gallo, G.; Rubattu, S.; Volpe, M. Mitochondrial Dysfunction in Heart Failure: From Pathophysiological Mechanisms to Therapeutic Opportunities. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 2667. <https://doi.org/10.3390/ijms25052667>
102. Scaini G, Andrews T, Lima CNC, Benevenuto D, Streck EL, Quevedo J. Mitochondrial dysfunction as a critical event in the pathophysiology of bipolar disorder. *Mitochondrion.* 2021 Mar;57:23-36. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2020.12.002>
103. Stamerra CA, Di Giosia P, Giorgini P, Ferri C, Sukhorukov VN, Sahebkar A. Mitochondrial Dysfunction and Cardiovascular Disease: Pathophysiology and Emerging Therapies. *Oxid Med Cell Longev.* 2022 Aug 2;2022:9530007. <https://doi.org/10.1155/2022/9530007>
104. Retraction in: *Oxid Med Cell Longev.* 2024 Jan 9;2024:9785792. <https://doi.org/10.1155/2024/9785792>
105. Pliouta, L.; Lampsas, S.; Kountouri, A.; Korakas, E.; Thymis, J.; Kassi, E.; Oikonomou, E.; Ikonomidis, I.; Lambadiari, V. Mitochondrial Dysfunction in the Development and Progression of Cardiometabolic Diseases: A Narrative Review. *J. Clin. Med.* **2025**, *14*, 3706. <https://doi.org/10.3390/jcm14113706>
106. Yang, H.-M. Mitochondrial Dysfunction in Cardiovascular Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, *26*, 1917. <https://doi.org/10.3390/ijms26051917>
107. Belenichev IF, Aliyeva OG, Popazova OO, Bukhtiyarova NV. Involvement of heat shock proteins HSP70 in the mechanisms of endogenous neuroprotection: the prospect of

- using HSP70 modulators. *Front Cell Neurosci.* 2023 Apr 17;17:1131683. <https://doi.org/10.3389/fncel.2023.1131683>
108. Chu Q, Gu X, Zheng Q, Wang J, Zhu H. Mitochondrial Mechanisms of Apoptosis and Necroptosis in Liver Diseases. *Anal Cell Pathol (Amst).* 2021 Nov 11;2021:8900122. <https://doi.org/10.1155/2021/8900122>
109. Rao VK, Carlson EA, Yan SS. Mitochondrial permeability transition pore is a potential drug target for neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Aug;1842(8):1267-72. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.09.003>
110. Bernardi P, Di Lisa F. The mitochondrial permeability transition pore: molecular nature and role as a target in cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol.* 2015 Jan;78:100-6. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.09.023>
111. Endlicher, R.; Drahotka, Z.; Štefková, K.; Červinková, Z.; Kučera, O. The Mitochondrial Permeability Transition Pore—Current Knowledge of Its Structure, Function, and Regulation, and Optimized Methods for Evaluating Its Functional State. *Cells* **2023**, *12*, 1273. <https://doi.org/10.3390/cells12091273>
112. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiol Rev.* 2014 Jul;94(3):909-50. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2013>
113. Xu X, Pang Y, Fan X. Mitochondria in oxidative stress, inflammation and aging: from mechanisms to therapeutic advances. *Signal Transduct Target Ther.* 2025 Jun 11;10(1):190. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02253-4>
114. Kuznetsov, A.V.; Margreiter, R.; Ausserlechner, M.J.; Hagenbuchner, J. The Complex Interplay between Mitochondria, ROS and Entire Cellular Metabolism. *Antioxidants* **2022**, *11*, 1995. <https://doi.org/10.3390/antiox11101995>
115. Ruiz-Meana M, Abellán A, Miró-Casas E, Garcia-Dorado D. Opening of mitochondrial permeability transition pore induces hypercontracture in Ca²⁺ overloaded cardiac myocytes. *Basic Res Cardiol.* 2007 Nov;102(6):542-52. <https://doi.org/10.1007/s00395-007-0675-y>

116. Wang J, He J, Fan Y, Xu F, Liu Q, He R, Yan R. Extensive mitochondrial proteome disturbance occurs during the early stages of acute myocardial ischemia. *Exp Ther Med*. 2022 Jan;23(1):85. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.11008>
117. Reina-Couto M, Pereira-Terra P, Quelhas-Santos J, Silva-Pereira C, Albino-Teixeira A, Sousa T. Inflammation in Human Heart Failure: Major Mediators and Therapeutic Targets. *Front Physiol*. 2021 Oct 11;12:746494. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.746494>
118. Hoffmann RF, Jonker MR, Brandenburg SM, de Bruin HG, Ten Hacken NHT, van Oosterhout AJM, Heijink IH. Mitochondrial dysfunction increases pro-inflammatory cytokine production and impairs repair and corticosteroid responsiveness in lung epithelium. *Sci Rep*. 2019 Oct 21;9(1):15047. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51517-x>
119. Burlaka BS, Belenichev IF, Ryzhenko OI, Ryzhenko VP, Aliyeva OG, Makyeyeva LV, Popazova OO, Bak PG (2021) The effect of intranasal administration of an IL-1 β antagonist (RAIL) on the state of the nitroxydergic system of the brain during modeling of acute cerebrovascular accident. *Pharmacia* 68(3): 665-670. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.68.e71243>
120. Dmytriieva, O. O., Bielenichev, I. F., Samura, I. B., & Salnykov, V. I. (2025). Some aspects of the therapeutic effect of dental gel with IL-1 β antagonist in experimental chronic generalized periodontitis. *Modern Medical Technology*, 17(2), 124–131. <https://doi.org/10.14739/mmt.2025.2.322333>
121. Eitner A, Müller S, König C, Wilharm A, Raab R, Hofmann GO, Kamradt T, Schaible HG. Inhibition of Inducible Nitric Oxide Synthase Prevents IL-1 β -Induced Mitochondrial Dysfunction in Human Chondrocytes. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 1;22(5):2477. <https://doi.org/10.3390/ijms22052477>
122. Magnani ND, Marchini T, Calabró V, Alvarez S and Evelson P (2020) Role of Mitochondria in the Redox Signaling Network and Its Outcomes in High Impact Inflammatory Syndromes. *Front. Endocrinol*. 11:568305. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.568305>

123. Grandi E, Navedo MF, Saucerman JJ, Bers DM, Chiamvimonvat N, Dixon RE, Dobrev D, Gomez AM, Harraz OF, Hegyi B, Jones DK, Krogh-Madsen T, Murfee WL, Nystoriak MA, Posnack NG, Ripplinger CM, Veeraraghavan R, Weinberg S. Diversity of cells and signals in the cardiovascular system. *J Physiol*. 2023 Jul;601(13):2547-2592. <https://doi.org/10.1113/JP284011>
124. Luan, Y., Zhu, X., Jiao, Y. *et al.* Cardiac cell senescence: molecular mechanisms, key proteins and therapeutic targets. *Cell Death Discov*. **10**, 78 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01792-5>
125. Correia M, Santos F, da Silva Ferreira R, Ferreira R, Bernardes de Jesus B, Nóbrega-Pereira S. Metabolic Determinants in Cardiomyocyte Function and Heart Regenerative Strategies. *Metabolites*. 2022 May 31;12(6):500. <https://doi.org/10.3390/metabo12060500>
126. Doenst T, Nguyen TD, Abel ED. Cardiac metabolism in heart failure: implications beyond ATP production. *Circ Res*. 2013 Aug 30;113(6):709-24. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.300376>
127. Fitzgerald G, Soro-Arnaiz I, De Bock K. The Warburg Effect in Endothelial Cells and its Potential as an Anti-angiogenic Target in Cancer. *Front Cell Dev Biol*. 2018 Sep 11;6:100. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00100>
128. Kaczara P, Czyzyska-Cichon I, Kus E, Kurpinska A, Olkowicz M, Wojnar-Lason K, Pacia MZ, Lytvynenko O, Baes M, Chlopicki S. Liver sinusoidal endothelial cells rely on oxidative phosphorylation but avoid processing long-chain fatty acids in their mitochondria. *Cell Mol Biol Lett*. 2024 May 9;29(1):67. <https://doi.org/10.1186/s11658-024-00584-8>
129. Doenst T, Nguyen TD, Abel ED. Cardiac metabolism in heart failure: implications beyond ATP production. *Circ Res*. 2013 Aug 30;113(6):709-24. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.300376>
130. Qu K, Yan F, Qin X, Zhang K, He W, Dong M, Wu G. Mitochondrial dysfunction in vascular endothelial cells and its role in atherosclerosis. *Front Physiol*. 2022 Dec 20;13:1084604. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1084604>

131. Caja S, Enríquez JA. Mitochondria in endothelial cells: Sensors and integrators of environmental cues. *Redox Biol.* 2017 Aug;12:821-827. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.04.021>
132. Da Dalt L, Cabodevilla AG, Goldberg IJ, Norata GD. Cardiac lipid metabolism, mitochondrial function, and heart failure. *Cardiovasc Res.* 2023 Aug 19;119(10):1905-1914. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvad100>
133. Liu K, Yang Y, Yang JH. Underlying mechanisms of ketotherapy in heart failure: current evidence for clinical implementations. *Front Pharmacol.* 2024 Oct 24;15:1463381. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1463381>
134. Kaluba, F.C., Rogers, T.J., Jeong, YJ. *et al.* An alternative route for β -hydroxybutyrate metabolism supports cytosolic acetyl-CoA synthesis in cancer cells. *Nat Metab* (2025). <https://doi.org/10.1038/s42255-025-01366-y>
135. Horton JL, Davidson MT, Kurishima C, Vega RB, Powers JC, Matsuura TR, Petucci C, Lewandowski ED, Crawford PA, Muoio DM, Recchia FA, Kelly DP. The failing heart utilizes 3-hydroxybutyrate as a metabolic stress defense. *JCI Insight.* 2019 Feb 21;4(4):e124079. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.124079>
136. Puchalska P, Crawford PA. Multi-dimensional Roles of Ketone Bodies in Fuel Metabolism, Signaling, and Therapeutics. *Cell Metab.* 2017 Feb 7;25(2):262-284. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.12.022>
137. Schugar RC, Moll AR, André d'Avignon D, Weinheimer CJ, Kovacs A, Crawford PA. Cardiomyocyte-specific deficiency of ketone body metabolism promotes accelerated pathological remodeling. *Mol Metab.* 2014 Aug 13;3(7):754-69. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2014.07.010>
138. Sun H, He J, Ru Y, Yin S, Xie Y, Yin L, Wei H, Wu L, Liu S. Monitoring succinyl-CoA:3-oxoacid CoA transferase nitration in mitochondria using monoclonal antibodies. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011 Nov 18;415(2):239-44. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.10.014>
139. Ng SM, Neubauer S, Rider OJ. Myocardial Metabolism in Heart Failure. *Curr Heart Fail Rep.* 2023 Feb;20(1):63-75. <https://doi.org/10.1007/s11897-023-00589-y>

140. Yang, H.-M. Mitochondrial Dysfunction in Cardiovascular Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, *26*, 1917. <https://doi.org/10.3390/ijms26051917>
141. Paraskevaidis, I.; Kourek, C.; Farmakis, D.; Tsougos, E. Heart Failure: A Deficiency of Energy—A Path Yet to Discover and Walk. *Biomedicines* **2024**, *12*, 2589. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12112589>
142. Liu VW, Huang PL. Cardiovascular roles of nitric oxide: a review of insights from nitric oxide synthase gene disrupted mice. *Cardiovasc Res.* 2008 Jan;77(1):19-29. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2007.06.024>
143. Andrabi SM, Sharma NS, Karan A, Shahriar SMS, Cordon B, Ma B, Xie J. Nitric Oxide: Physiological Functions, Delivery, and Biomedical Applications. *Adv Sci (Weinh)*. 2023 Oct;10(30):e2303259. <https://doi.org/10.1002/advs.202303259>
144. Pagliaro P, Weber NC, Femminò S, Alloatti G, Penna C. Gasotransmitters and noble gases in cardioprotection: unraveling molecular pathways for future therapeutic strategies. *Basic Res Cardiol.* 2024 Aug;119(4):509-544. <https://doi.org/10.1007/s00395-024-01061-1>
145. Mondal A, Paul S, De P. Recent Advancements in Polymeric *N*-Nitrosamine-Based Nitric Oxide (NO) Donors and their Therapeutic Applications. *Biomacromolecules*. 2024 Sep 9;25(9):5592-5608. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.4c00685>
146. Cyr AR, Huckaby LV, Shiva SS, Zuckerbraun BS. Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. *Crit Care Clin.* 2020 Apr;36(2):307-321. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2019.12.009>
147. Gaynullina DK, Tarasova OS, Shvetsova AA, Borzykh AA, Schubert R. The Effects of Acidosis on eNOS in the Systemic Vasculature: A Focus on Early Postnatal Ontogenesis. *Int J Mol Sci.* 2022 May 26;23(11):5987. <https://doi.org/10.3390/ijms23115987>
148. Tran N, Garcia T, Aniq M, Ali S, Ally A, Nauli SM. Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) and the Cardiovascular System: in Physiology and in Disease States. *Am J Biomed Sci Res.* 2022;15(2):153-177. Epub 2022 Jan 4. PMID: 35072089

149. Drera A, Rodella L, Brangi E, Riccardi M, Vizzardi E. Endothelial Dysfunction in Heart Failure: What Is Its Role? *J Clin Med*. 2024 Apr 25;13(9):2534. <https://doi.org/10.3390/jcm13092534>
150. Gutterman DD, Chabowski DS, Kadlec AO, Durand MJ, Freed JK, Ait-Aissa K, Beyer AM. The Human Microcirculation: Regulation of Flow and Beyond. *Circ Res*. 2016 Jan 8;118(1):157-72. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.305364>
151. Grizelj I, Cavka A, Bian JT, Szczurek M, Robinson A, Shinde S, Nguyen V, Braunschweig C, Wang E, Drenjancevic I, Phillips SA. Reduced flow-and acetylcholine-induced dilations in visceral compared to subcutaneous adipose arterioles in human morbid obesity. *Microcirculation*. 2015 Jan;22(1):44-53. <https://doi.org/10.1111/micc.12164>
152. Sabe SA, Feng J, Sellke FW, Abid MR. Mechanisms and clinical implications of endothelium-dependent vasomotor dysfunction in coronary microvasculature. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2022 May 1;322(5):H819-H841. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00603.2021>
153. Azzam ZS, Kinaneh S, Bahouth F, Ismael-Badarneh R, Khoury E and Abassi Z (2017) Involvement of Cytokines in the Pathogenesis of Salt and Water Imbalance in Congestive Heart Failure. *Front. Immunol.* 8:716. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00716>
154. Roman-Pepine D, Serban AM, Capras RD, Cismaru CM, Filip AG. A Comprehensive Review: Unraveling the Role of Inflammation in the Etiology of Heart Failure. *Heart Fail Rev*. 2025 Sep;30(5):931-954. <https://doi.org/10.1007/s10741-025-10519-w>
155. Charoenpanichkit C, Little WC, Mandapaka S, Dall'Armellina E, Morgan TM, Hamilton CA, Hundley WG. Impaired left ventricular stroke volume reserve during clinical dobutamine stress predicts future episodes of pulmonary edema. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Feb 15;57(7):839-48. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.10.019>
156. Drera, A.; Rodella, L.; Brangi, E.; Riccardi, M.; Vizzardi, E. Endothelial Dysfunction in Heart Failure: What Is Its Role? *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 2534. <https://doi.org/10.3390/jcm13092534>

157. Bernatova I. Endothelial dysfunction in experimental models of arterial hypertension: cause or consequence? *Biomed Res Int.* 2014;2014:598271. <https://doi.org/10.1155/2014/598271>
158. Myszko, M.; Bychowski, J.; Skrzydlewska, E.; Łuczaj, W. The Dual Role of Oxidative Stress in Atherosclerosis and Coronary Artery Disease: Pathological Mechanisms and Diagnostic Potential. *Antioxidants* **2025**, *14*, 275. <https://doi.org/10.3390/antiox14030275>
159. Mongirdienė, A.; Skrodenis, L.; Varoneckaitė, L.; Mierkytė, G.; Gerulis, J. Reactive Oxygen Species Induced Pathways in Heart Failure Pathogenesis and Potential Therapeutic Strategies. *Biomedicines* **2022**, *10*, 602. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030602>
160. Miller KN, Clark JP, Anderson RM. Mitochondrial regulator PGC-1 α -Modulating the modulator. *Curr Opin Endocr Metab Res.* 2019 Mar;5:37-44. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2019.02.002>
161. Pettersson-Klein AT, Izadi M, Ferreira DMS, Cervenka I, Correia JC, Martinez-Redondo V, Southern M, Cameron M, Kamenecka T, Agudelo LZ, Porsmyr-Palmertz M, Martens U, Lundgren B, Otrocka M, Jenmalm-Jensen A, Griffin PR, Ruas JL. Small molecule PGC-1 α 1 protein stabilizers induce adipocyte Ucp1 expression and uncoupled mitochondrial respiration. *Mol Metab.* 2018 Mar;9:28-42. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.01.017>
162. Zong, Y., Li, H., Liao, P. *et al.* Mitochondrial dysfunction: mechanisms and advances in therapy. *Sig Transduct Target Ther* **9**, 124 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01839-8>
163. Abu Shelbayeh O, Arroum T, Morris S, Busch KB. PGC-1 α Is a Master Regulator of Mitochondrial Lifecycle and ROS Stress Response. *Antioxidants (Basel)*. 2023 May 10;12(5):1075. <https://doi.org/10.3390/antiox12051075>
164. Atici AE, Crother TR, Noval Rivas M. Mitochondrial quality control in health and cardiovascular diseases. *Front Cell Dev Biol.* 2023 Nov 6;11:1290046. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1290046>

165. Labbé, P.; Thorin, E.; Thorin-Trescases, N. The Dual Role of NOX4 in Cardiovascular Diseases: Driver of Oxidative Stress and Mediator of Adaptive Remodeling. *Antioxidants* **2025**, *14*, 1137. <https://doi.org/10.3390/antiox14091137>
166. Kowalczyk, P.; Krych, S.; Kramkowski, K.; Jęczmyk, A.; Hrapkowicz, T. Effect of Oxidative Stress on Mitochondrial Damage and Repair in Heart Disease and Ischemic Events. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 12467. <https://doi.org/10.3390/ijms252212467>
167. Xu, X., Pang, Y. & Fan, X. Mitochondria in oxidative stress, inflammation and aging: from mechanisms to therapeutic advances. *Sig Transduct Target Ther* **10**, 190 (2025). <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02253-4>
168. Sawyer DB. Oxidative stress in heart failure: what are we missing? *Am J Med Sci.* 2011 Aug;342(2):120-4. <https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e3182249fcd>
169. Mongirdienė A, Skrodenis L, Varoneckaitė L, Mierkytė G, Gerulis J. Reactive Oxygen Species Induced Pathways in Heart Failure Pathogenesis and Potential Therapeutic Strategies. *Biomedicines.* 2022 Mar 3;10(3):602. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030602>
170. Jiang XY, Chen Q, Chen XY, Sun QY, Jing F, Zhang HQ, Xu J, Li XH, Guan QB. Superoxide dismutases: marker in predicting reduced left ventricular ejection fraction in patients with type 2 diabetes and acute coronary syndrome. *BMC Cardiovasc Disord.* 2024 Apr 3;24(1):191. <https://doi.org/10.1186/s12872-024-03867-2>
171. Bodnar P, Mazurkiewicz M, Chwalba T, Romuk E, Ciszek-Chwalba A, Jacheć W, Wojciechowska C. The Impact of Pharmacotherapy for Heart Failure on Oxidative Stress-Role of New Drugs, Flozins. *Biomedicines.* 2023 Aug 9;11(8):2236. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11082236>
172. Kibel A, Lukinac AM, Dambic V, Juric I, Selthofer-Relatic K. Oxidative Stress in Ischemic Heart Disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2020 Dec 28;2020:6627144. <https://doi.org/10.1155/2020/6627144>
173. Martínez MC, Andriantsitohaina R. Reactive nitrogen species: molecular mechanisms and potential significance in health and disease. *Antioxid Redox Signal.* 2009 Mar;11(3):669-702. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1993>

174. Wilmes V, Kur IM, Weigert A, Verhoff MA, Gradhand E, Kauferstein S. iNOS expressing macrophages co-localize with nitrotyrosine staining after myocardial infarction in humans. *Front Cardiovasc Med.* 2023 Mar 30;10:1104019. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1104019>
175. Nigam, M.; Punia, B.; Dimri, D.B.; Mishra, A.P.; Radu, A.-F.; Bungau, G. Reactive Oxygen Species: A Double-Edged Sword in the Modulation of Cancer Signaling Pathway Dynamics. *Cells* **2025**, *14*, 1207. <https://doi.org/10.3390/cells14151207>
176. Halliwell B , Adhikary A , Dingfelder M , Dizdaroglu M . Hydroxyl radical is a significant player in oxidative DNA damage in vivo. *Chem Soc Rev.* 2021 Aug 7;50(15):8355-8360. <https://doi.org/10.1039/d1cs00044f>
177. Onyango AN. Endogenous Generation of Singlet Oxygen and Ozone in Human and Animal Tissues: Mechanisms, Biological Significance, and Influence of Dietary Components. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:2398573. <https://doi.org/10.1155/2016/2398573>.
178. Bulua AC, Simon A, Maddipati R, Pelletier M, Park H, Kim KY, Sack MN, Kastner DL, Siegel RM. Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS). *J Exp Med.* 2011 Mar 14;208(3):519-33. <https://doi.org/10.1084/jem.20102049>
179. Valgimigli L. Lipid Peroxidation and Antioxidant Protection. *Biomolecules.* 2023 Aug 24;13(9):1291. <https://doi.org/10.3390/biom13091291>
180. Dragoev, S.G. Lipid Peroxidation in Muscle Foods: Impact on Quality, Safety and Human Health. *Foods* **2024**, *13*, 797. <https://doi.org/10.3390/foods13050797>
181. Andrés CMC, Pérez de la Lastra JM, Juan CA, Plou FJ, Pérez-Lebeña E. Hypochlorous Acid Chemistry in Mammalian Cells-Influence on Infection and Role in Various Pathologies. *Int J Mol Sci.* 2022 Sep 14;23(18):10735. <https://doi.org/10.3390/ijms231810735>
182. Hawkins CL, Pattison DI, Davies MJ. Hypochlorite-induced oxidation of amino acids, peptides and proteins. *Amino Acids.* 2003 Dec;25(3-4):259-74. <https://doi.org/10.1007/s00726-003-0016-x>

183. Moris D, Spartalis M, Spartalis E, Karachaliou GS, Karaolani GI, Tsourouflis G, Tsilimigras DI, Tzatzaki E, Theocharis S. The role of reactive oxygen species in the pathophysiology of cardiovascular diseases and the clinical significance of myocardial redox. *Ann Transl Med.* 2017 Aug;5(16):326. <https://doi.org/10.21037/atm.2017.06.27>
184. Panth N, Paudel KR, Parajuli K. Reactive Oxygen Species: A Key Hallmark of Cardiovascular Disease. *Adv Med.* 2016;2016:9152732. <https://doi.org/10.1155/2016/9152732>
185. Caturano, A.; Rocco, M.; Tagliaferri, G.; Piacevole, A.; Nilo, D.; Di Lorenzo, G.; Iadicicco, I.; Donnarumma, M.; Galiero, R.; Acierno, C.; et al. Oxidative Stress and Cardiovascular Complications in Type 2 Diabetes: From Pathophysiology to Lifestyle Modifications. *Antioxidants* **2025**, *14*, 72. <https://doi.org/10.3390/antiox14010072>
186. Vendrov AE, Lozhkin A, Hayami T, Levin J, Silveira Fernandes Chamon J, Abdel-Latif A, Runge MS, Madamanchi NR. Mitochondrial dysfunction and metabolic reprogramming induce macrophage pro-inflammatory phenotype switch and atherosclerosis progression in aging. *Front Immunol.* 2024 Jun 21;15:1410832. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1410832>
187. Vendrov AE, Xiao H, Lozhkin A, Hayami T, Hu G, Brody MJ, Sadoshima J, Zhang YY, Runge MS, Madamanchi NR. Cardiomyocyte NOX4 regulates resident macrophage-mediated inflammation and diastolic dysfunction in stress cardiomyopathy. *Redox Biol.* 2023 Nov;67:102937. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102937>
188. Dubey N, Chaturvedi G, Singh S, Chauhan A, Panchbhai P, Narang R, Parakh N, Goyal A, Yadav HN. Beyond conventional therapy: NOX4 as a promising target in cardiomyopathy. *Mol Biol Rep.* 2025 Jul 11;52(1):704. <https://doi.org/10.1007/s11033-025-10818-3>
189. Alves JV, da Costa RM, Awata WMC, Bruder-Nascimento A, Singh S, Tostes RC, Bruder-Nascimento T. NADPH oxidase 4-derived hydrogen peroxide counterbalances testosterone-induced endothelial dysfunction and migration. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2024 Jul 1;327(1):E1-E12. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00365.2023>

190. Aranda-Rivera, A.K.; Cruz-Gregorio, A.; Arancibia-Hernández, Y.L.; Hernández-Cruz, E.Y.; Pedraza-Chaverri, J. RONS and Oxidative Stress: An Overview of Basic Concepts. *Oxygen* **2022**, *2*, 437-478. <https://doi.org/10.3390/oxygen2040030>
191. Szekeres, F.L.M., Walum, E., Wikström, P. *et al.* A small molecule inhibitor of Nox2 and Nox4 improves contractile function after ischemia–reperfusion in the mouse heart. *Sci Rep* **11**, 11970 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91575-8>
192. Bao, Y.; Hu, C.; Wang, B.; Liu, X.; Wu, Q.; Xu, D.; Shi, Z.; Sun, C. Mitochondrial Reverse Electron Transport: Mechanisms, Pathophysiological Roles, and Therapeutic Potential. *Biology* **2025**, *14*, 1140. <https://doi.org/10.3390/biology14091140>
193. Zablocki D, Sadoshima J. Angiotensin II and oxidative stress in the failing heart. *Antioxid Redox Signal.* 2013 Oct 1;19(10):1095-109. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4588>
194. Liu S, Liu J, Wang Y, Deng F, Deng Z. Oxidative Stress: Signaling Pathways, Biological Functions, and Disease. *MedComm* (2020). 2025 Jul 1;6(7):e70268. <https://doi.org/10.1002/mco2.70268>
195. Wen, H., Deng, H., Li, B. *et al.* Mitochondrial diseases: from molecular mechanisms to therapeutic advances. *Sig Transduct Target Ther* **10**, 9 (2025). <https://doi.org/10.1038/s41392-024-02044-3>
196. Gray SP, Shah AM, Smyrnias I. NADPH oxidase 4 and its role in the cardiovascular system. *Vasc Biol.* 2019 Jul 11;1(1):H59-H66. <https://doi.org/10.1530/VB-19-0014>
197. Mondragon RR, Wang S, Stevenson MD, Lozhkin A, Vendrov AE, Isom LL, Runge MS, Madamanchi NR. NOX4-driven mitochondrial oxidative stress in aging promotes myocardial remodeling and increases susceptibility to ventricular tachyarrhythmia. *Free Radic Biol Med.* 2025 Aug 1;235:294-305. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2025.04.046>
198. Qu Z, Meng H, Guo L, Xiao Z, Pan Y, Shuai W, Huang H. USP38 stabilizes NOX4 and activates CaMKII to enhance ventricular arrhythmias susceptibility in CKD mice. *Free Radic Biol Med.* 2025 Sep;237:344-356. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2025.06.005>

199. Sorescu D, Griendling KK. Reactive oxygen species, mitochondria, and NAD(P)H oxidases in the development and progression of heart failure. *Congest Heart Fail*. 2002 May-Jun;8(3):132-40. <https://doi.org/10.1111/j.1527-5299.2002.00717.x>
200. Dong H, Ming S, Fang J, Li Y, Liu L. Icariin ameliorates angiotensin II-induced cerebrovascular remodeling by inhibiting Nox2-containing NADPH oxidase activation. *Hum Cell*. 2019 Jan;32(1):22-30. <https://doi.org/10.1007/s13577-018-0220-3>
201. Qin S, Xiang M, Gao L, Cheng X, Zhang D. Uric acid is a biomarker for heart failure, but not therapeutic target: result from a comprehensive meta-analysis. *ESC Heart Fail*. 2024 Feb;11(1):78-90. <https://doi.org/10.1002/ehf2.14535>
202. Mitsubayashi T, Suita K, Ohnuki Y, Ishikawa M, Ito A, Matsuo I, Miyamoto G, Abe M, Morii A, Mototani Y, Nariyama M, Matsubara R, Hayakawa Y, Okumura S. Xanthine oxidase inhibitor allopurinol preserves cardiac function after experimental malocclusion induced by occlusal disharmony in mice. *J Physiol Sci*. 2025 Jul;75(2):100029. <https://doi.org/10.1016/j.jphys.2025.100029>
203. Kumrić M, Borovac JA, Kurir TT, Božić J. Clinical Implications of Uric Acid in Heart Failure: A Comprehensive Review. *Life (Basel)*. 2021 Jan 14;11(1):53. <https://doi.org/10.3390/life11010053>
204. Givertz MM, Mann DL, Lee KL, Ibarra JC, Velazquez EJ, Hernandez AF, Mascette AM, Braunwald E. Xanthine oxidase inhibition for hyperuricemic heart failure patients: design and rationale of the EXACT-HF study. *Circ Heart Fail*. 2013 Jul;6(4):862-8. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000394>
205. Deis T, Rossing K, Ersbøll MK, Wolsk E, Gustafsson F. Uric acid in advanced heart failure: relation to central haemodynamics and outcome. *Open Heart*. 2022 Nov;9(2):e002092. <https://doi.org/10.1136/openhrt-2022-002092>
206. Packer M. Uric Acid Is a Biomarker of Oxidative Stress in the Failing Heart: Lessons Learned from Trials With Allopurinol and SGLT2 Inhibitors. *J Card Fail*. 2020 Nov;26(11):977-984. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2020.08.015>
207. Gotsman I, Keren A, Lotan C, Zwas DR. Changes in uric acid levels and allopurinol use in chronic heart failure: association with improved survival. *J Card Fail*. 2012 Sep;18(9):694-701. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2012.06.528>

208. Panda P, Verma HK, Lakkakula S, Merchant N, Kadir F, Rahman S, Jeffree MS, Lakkakula BVKS, Rao PV. Biomarkers of Oxidative Stress Tethered to Cardiovascular Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2022 Jun 24;2022:9154295. <https://doi.org/10.1155/2022/9154295>
209. Szelest M, Walczak K, Plech T. A New Insight into the Potential Role of Tryptophan-Derived AhR Ligands in Skin Physiological and Pathological Processes. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 22;22(3):1104. <https://doi.org/10.3390/ijms22031104>
210. Schirone L, Forte M, Palmerio S, Yee D, Nocella C, Angelini F, Pagano F, Schiavon S, Bordin A, Carrizzo A, Vecchione C, Valenti V, Chimenti I, De Falco E, Sciarretta S, Frati G. A Review of the Molecular Mechanisms Underlying the Development and Progression of Cardiac Remodeling. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:3920195. <https://doi.org/10.1155/2017/3920195>
211. Streicher JM, Kamei K, Ishikawa TO, Herschman H, Wang Y. Compensatory hypertrophy induced by ventricular cardiomyocyte-specific COX-2 expression in mice. *J Mol Cell Cardiol*. 2010 Jul;49(1):88-94. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2010.01.021>
212. Zhao Y, Zheng Q, Gao H, Cao M, Wang H, Chang R, Zeng C. Celecoxib alleviates pathological cardiac hypertrophy and fibrosis via M1-like macrophage infiltration in neonatal mice. *iScience*. 2021 Feb 25;24(3):102233. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102233>
213. Ghosh S, Das CK, Uddin S, Stripp ST, Engelbrecht V, Winkler M, Leimkühler S, Brocks C, Duan J, Schäfer LV, Happe T. Protein Dynamics Affect O₂-Stability of Group B [FeFe]-Hydrogenase from *Thermosediminibacter oceani*. *J Am Chem Soc*. 2025 May 7;147(18):15170-15180. <https://doi.org/10.1021/jacs.4c18483>
214. Vana, F., Szabo, Z., Masarik, M. *et al.* The interplay of transition metals in ferroptosis and pyroptosis. *Cell Div* **19**, 24 (2024). <https://doi.org/10.1186/s13008-024-00127-9>
215. Kumar S, Saxena J, Srivastava VK, Kaushik S, Singh H, Abo-El-Sooud K, Abdel-Daim MM, Jyoti A, Saluja R. The Interplay of Oxidative Stress and ROS Scavenging: Antioxidants as a Therapeutic Potential in Sepsis. *Vaccines (Basel)*. 2022 Sep 20;10(10):1575. <https://doi.org/10.3390/vaccines10101575>

216. Fatima Shad, K., & Kanti Das, T. (2023). Introductory Chapter: Role of Fenton and Haber-Weiss Reaction in Epilepsy. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.108727>
217. Savarese G, von Haehling S, Butler J, Cleland JGF, Ponikowski P, Anker SD. Iron deficiency and cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2023 Jan 1;44(1):14-27. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac569>
218. Erratum in: *Eur Heart J*. 2023 May 7;44(18):1607. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad043>
219. Becher PM, Schrage B, Benson L, Fudim M, Corovic Cabrera C, Dahlström U, Rosano GMC, Jankowska EA, Anker SD, Lund LH, Savarese G. Phenotyping heart failure patients for iron deficiency and use of intravenous iron therapy: data from the Swedish Heart Failure Registry. *Eur J Heart Fail*. 2021 Nov;23(11):1844-1854. <https://doi.org/10.1002/ejhf.2338>
220. Epub 2021 Sep 14. Erratum in: *Eur J Heart Fail*. 2022 Apr;24(4):732. <https://doi.org/10.1002/ejhf.2472>
221. Lakhal-Littleton S. Mechanisms of cardiac iron homeostasis and their importance to heart function. *Free Radic Biol Med*. 2019 Mar;133:234-237. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.08.010>
222. Abe C, Miyazawa T, Miyazawa T. Current Use of Fenton Reaction in Drugs and Food. *Molecules*. 2022 Aug 25;27(17):5451. <https://doi.org/10.3390/molecules27175451>
223. Martin, R.C., Lisi, D. Iron Deficiency in Heart Failure: Characteristics and Treatment. *Curr Geri Rep* **10**, 196–205 (2021). <https://doi.org/10.1007/s13670-021-00370-w>
224. Cheng R , Li G , Fan L , Jiang J , Zhao Y . Therapeutic iminoboronate-based polymersomes with a Cu(ii)-mediated Fenton reaction-enhanced ROS-response. *Chem Commun (Camb)*. 2020 Oct 18;56(81):12246-12249. <https://doi.org/10.1039/d0cc03607>
225. Wang YM, Feng LS, Xu A, Ma XH, Zhang MT, Zhang J. Copper ions: The invisible killer of cardiovascular disease (Review). Epub 2024 Sep 20, *Mol Med Rep*. 2024 Nov;30(5):210. <https://doi.org/10.3892/mmr.2024.13334>

226. Anderson EJ, Efird JT, Kiser AC, Crane PB, O'Neal WT, Ferguson TB, Alwair H, Carter K, Williams JM, Gehi AK, Kypson AP. Plasma Catecholamine Levels on the Morning of Surgery Predict Post-Operative Atrial Fibrillation. *JACC Clin Electrophysiol.* 2017 Dec 11;3(12):1456-1465. <https://doi.org/10.1016/j.jacep.2017.01.014>
227. Anderson EJ, Efird JT, Davies SW, O'Neal WT, Darden TM, Thayne KA, Katunga LA, Kindell LC, Ferguson TB, Anderson CA, Chitwood WR, Koutlas TC, Williams JM, Rodriguez E, Kypson AP. Monoamine oxidase is a major determinant of redox balance in human atrial myocardium and is associated with postoperative atrial fibrillation. *J Am Heart Assoc.* 2014 Feb 26;3(1):e000713. <https://doi.org/10.1161/JAHA.113.000713>
228. Deshwal S, Di Sante M, Di Lisa F, Kaludercic N. Emerging role of monoamine oxidase as a therapeutic target for cardiovascular disease. *Curr Opin Pharmacol.* 2017 Apr;33:64-69. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2017.04.003>
229. Byrne NJ, Rajasekaran NS, Abel ED, Bugger H. Therapeutic potential of targeting oxidative stress in diabetic cardiomyopathy. *Free Radic Biol Med.* 2021 Jun;169:317-342. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.03.046>
230. Mongirdienė A, Skrodenis L, Varoneckaitė L, Mierkytė G, Gerulis J. Reactive Oxygen Species Induced Pathways in Heart Failure Pathogenesis and Potential Therapeutic Strategies. *Biomedicines.* 2022 Mar 3;10(3):602. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030602>
231. Mongirdienė A, Liuizė A, Karčiauskaitė D, Mazgelytė E, Liekis A, Sadauskienė I. Relationship between Oxidative Stress and Left Ventricle Markers in Patients with Chronic Heart Failure. *Cells.* 2023 Mar 4;12(5):803. <https://doi.org/10.3390/cells12050803>
232. Huuskonen C, Hämäläinen M, Paavonen T, Moilanen E, Mennander A. Monoamine oxidase A inhibition protects the myocardium after experimental acute volume overload. *Anatol J Cardiol.* 2019 Jan;21(1):39-45. <https://doi.org/10.14744/AnatolJCardiol.2018.37336>
233. Mongirdienė A, Skrodenis L, Varoneckaitė L, Mierkytė G, Gerulis J. Reactive Oxygen Species Induced Pathways in Heart Failure Pathogenesis and Potential

- Therapeutic Strategies. Biomedicines. 2022 Mar 3;10(3):602. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030602>
234. Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:1245049. <https://doi.org/10.1155/2016/1245049>
235. Jomova K, Raptova R, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K, Valko M. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol*. 2023 Oct;97(10):2499-2574. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9>
236. Jomova K, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K, Valko M. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. *Arch Toxicol*. 2024 May;98(5):1323-1367. <https://doi.org/10.1007/s00204-024-03696-4>
237. Koskenkorva-Frank TS, Weiss G, Koppenol WH, Burckhardt S. The complex interplay of iron metabolism, reactive oxygen species, and reactive nitrogen species: insights into the potential of various iron therapies to induce oxidative and nitrosative stress. *Free Radic Biol Med*. 2013 Dec;65:1174-1194. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.09.001>
238. Rosa AC, Corsi D, Cavi N, Bruni N, Dosio F. Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses. *Molecules*. 2021 Mar 25;26(7):1844. <https://doi.org/10.3390/molecules26071844>
239. Liu, T.; Shang, J.; Chen, Q. Superoxide Dismutases in Immune Regulation and Infectious Diseases. *Antioxidants* **2025**, *14*, 809. <https://doi.org/10.3390/antiox14070809>
240. Altshuler PJ, Schiazza AR, Luo L, Helmers MR, Chhay B, Han JJ, Hu R, Herbst DA, Tsourkas A, Cheng Z, Atluri P. Superoxide Dismutase-Loaded Nanoparticles Attenuate Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury and Protect Against Chronic Adverse Ventricular Remodeling. *Adv Ther (Weinh)*. 2021 Jun;4(6):2100036. <https://doi.org/10.1002/adtp.202100036>
241. Bo Zhao, Jianjun Peng, Ce Chen, Yongyan Fan, Kai Zhang, Yang Zhang, Xin Huang Innovative engineering of superoxide dismutase for enhanced cardioprotective

biocatalysis in myocardial ischemia-reperfusion injury Volume 286, January 2025, 137656 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137656>

242. Han D, Wang F, Shen D. Nanomedicines as Guardians of the Heart: Unleashing the Power of Antioxidants to Alleviate Myocardial Ischemic Injury. *Theranostics*. 2024 Aug 26;14(13):5336-5370. <https://doi.org/10.7150/thno.99961>

243. Zheng M, Liu Y, Zhang G, Yang Z, Xu W, Chen Q. The Applications and Mechanisms of Superoxide Dismutase in Medicine, Food, and Cosmetics. *Antioxidants (Basel)*. 2023 Aug 27;12(9):1675. <https://doi.org/10.3390/antiox12091675>

244. Romuk E, Jacheć W, Kozielska-Nowalany E, Birkner E, Zemła-Woszek A, Wojciechowska C. Superoxide dismutase activity as a predictor of adverse outcomes in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy. *Cell Stress Chaperones*. 2019 May;24(3):661-673. <https://doi.org/10.1007/s12192-019-00991-3>

245. Epub 2019 May 1. Erratum in: *Cell Stress Chaperones*. 2019 Jul;24(4):851-855. <https://doi.org/10.1007/s12192-019-01011-0>

246. Szyller J, Antoniak R, Wadowska K, Bil-Lula I, Hrymniak B, Banasiak W, Jagielski D. Redox imbalance in patients with heart failure and ICD/CRT-D intervention. Can it be an underappreciated and overlooked arrhythmogenic factor? A first preliminary clinical study. *Front Physiol*. 2023 Nov 8;14:1289587. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1289587>

247. Smyła-Gruca, W.; Szczurek-Wasilewicz, W.; Skrzypek, M.; Karmański, A.; Romuk, E.; Jurkiewicz, M.; Gąsior, M.; Szygula-Jurkiewicz, B. Ceruloplasmin, Catalase and Creatinine Concentrations Are Independently Associated with All-Cause Mortality in Patients with Advanced Heart Failure. *Biomedicines* **2024**, *12*, 662. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12030662>

248. Pushpakumar S, Ren L, Juin SK, Majumder S, Kulkarni R, Sen U. Methylation-dependent antioxidant-redox imbalance regulates hypertensive kidney injury in aging. *Redox Biol*. 2020 Oct;37:101754. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101754>

249. Thiarlen Marinho da Luz, Rafaela Ribeiro de Brito, Ariane Guimarães, Aline Sueli de Lima Rodrigues, Guilherme Malafaia, Systemic toxicity in mammals dermally exposed to field-collected weathered oil fragments from the largest South Atlantic spill:

Experimental evidence from a realistic exposure scenario, *Marine Pollution Bulletin*, 222, (118611), (2026). <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.118611>

250. Stolwijk JM, Stefely JA, Veling MT, van 't Erve TJ, Wagner BA, Raife TJ, Buettner GR. Red blood cells contain enzymatically active GPx4 whose abundance anticorrelates with hemolysis during blood bank storage. *Redox Biol.* 2021 Oct;46:102073. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102073>

251. Petronek MS, Stolwijk JM, Murray SD, Steinbach EJ, Zakharia Y, Buettner GR, Spitz DR, Allen BG. Utilization of redox modulating small molecules that selectively act as pro-oxidants in cancer cells to open a therapeutic window for improving cancer therapy. *Redox Biol.* 2021 Jun;42:101864. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101864>

252. Yadav VK, Choudhary N, Gacem A, Verma RK, Abul Hasan M, Tarique Imam M, Almalki ZS, Yadav KK, Park HK, Ghosh T, Kumar P, Patel A, Kalasariya H, Jeon BH, Ali AlMubarak H. Deeper insight into ferroptosis: association with Alzheimer's, Parkinson's disease, and brain tumors and their possible treatment by nanomaterials induced ferroptosis. *Redox Rep.* 2023 Dec;28(1):2269331. <https://doi.org/10.1080/13510002.2023.226933>

253. Berdaweel, I.A.; Hart, A.A.; Jatis, A.J.; Karlan, N.; Akhter, S.A.; Gaine, M.E.; Smith, R.M.; Anderson, E.J. A Genotype–Phenotype Analysis of Glutathione Peroxidase 4 in Human Atrial Myocardium and Its Association with Postoperative Atrial Fibrillation. *Antioxidants* **2022**, *11*, 721. <https://doi.org/10.3390/antiox11040721>

254. Li MN, Bao BW, Si-Yu D, Chun-Fei J, Xiao-Jun S, Da-Sheng G, Qin G, Hong-Ju W. Correlation between plasma glutathione peroxidase 4 and N-acetylneuraminic acid levels with clinical risk stratification and prognosis of patients with acute coronary syndrome. *Saudi Med J.* 2022 Oct;43(10):1103-1110. <https://doi.org/10.15537/smj.2022.43.10.20220444>

255. Stolwijk JM, Falls-Hubert KC, Searby CC, Wagner BA, Buettner GR. Simultaneous detection of the enzyme activities of GPx1 and GPx4 guide optimization of selenium in cell biological experiments. *Redox Biol.* 2020 May;32:101518. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101518>

256. Liu T, Zhou DT, Liu F, Long DY, Yang Y, Li MM, Zhao X, Li CY, Wang W, Jiang CX, Tang RB. Glutathione peroxidase 4 as a potential biomarker for atrial fibrosis and recurrence of atrial fibrillation. *Heart Rhythm O2*. 2025 Feb 7;6(5):622-630. <https://doi.org/10.1016/j.hroo.2025.02.001>
257. Wallert M, Ziegler M, Wang X, Maluenda A, Xu X, Yap ML, Witt R, Giles C, Kluge S, Hortmann M, Zhang J, Meikle P, Lorkowski S, Peter K. α -Tocopherol preserves cardiac function by reducing oxidative stress and inflammation in ischemia/reperfusion injury. *Redox Biol*. 2019 Sep;26:101292. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101292>
258. Bencsik P, Gömöri K, Szabados T, Sántha P, Helyes Z, Jancsó G, Ferdinandy P, Görbe A. Myocardial ischaemia reperfusion injury and cardioprotection in the presence of sensory neuropathy: Therapeutic options. *Br J Pharmacol*. 2020 Dec;177(23):5336-5356. <https://doi.org/10.1111/bph.15021>
259. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011 Dec;301(6):H2181-90. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00554.2011>
260. Guo Z, Tian Y, Liu N, Chen Y, Chen X, Yuan G, Chang A, Chang X, Wu J, Zhou H. Mitochondrial Stress as a Central Player in the Pathogenesis of Hypoxia-Related Myocardial Dysfunction: New Insights. *Int J Med Sci*. 2024 Sep 23;21(13):2502-2509. <https://doi.org/10.7150/ijms.99359>
261. Aimo A, Castiglione V, Borrelli C, Saccaro LF, Franzini M, Masi S, Emdin M, Giannoni A. Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to therapeutic strategies. *Eur J Prev Cardiol*. 2020 Mar;27(5):494-510. <https://doi.org/10.1177/2047487319870344>
262. D'Amato, A.; Cestiè, C.; Ferranti, F.; Segato, C.; Prosperi, S.; Germanò, R.; Myftari, V.; Bartimoccia, S.; Castellani, V.; Badagliacca, R.; et al. Implications of Oxidative Stress in the Pathophysiological Pathways of Heart Failure. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, *26*, 5165. <https://doi.org/10.3390/ijms26115165>
263. Franssen C, Chen S, Hamdani N, Paulus WJ. From comorbidities to heart failure with preserved ejection fraction: a story of oxidative stress. *Heart*. 2016 Feb 15;102(4):320-30. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2015-307787>

264. Milinković I, Polovina M, Simeunović DS, Ašanin M, Seferović PM. Oxidative stress and inflammation in heart failure: The best is yet to come. *Eur J Prev Cardiol*. 2020 Mar;27(5):490-493. <https://doi.org/10.1177/2047487319900294>
265. Mongirdiene, A.; Liuizė, A.; Karčiauskaite, D.; Mazgelytė, E.; Liekis, A.; Sadauskiene, I. Relationship between Oxidative Stress and Left Ventricle Markers in Patients with Chronic Heart Failure. *Cells* 2023, 12, 803. <https://doi.org/10.3390/cells12050803>
266. Romuk E, Wojciechowska C, Jacheć W, Nowak J, Niedziela J, Malinowska-Borowska J, Głogowska-Gruszka A, Birkner E, Rozentryt P. Comparison of Oxidative Stress Parameters in Heart Failure Patients Depending on Ischaemic or Nonischaemic Aetiology. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Sep 17;2019:7156038. <https://doi.org/10.1155/2019/7156038>
267. Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS, Pramodh S, Alsulimani A, Alkhanani MF, Harakeh S, Hussain A, Haque S, Reshi MS. Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells*. 2022 Feb 5;11(3):552. <https://doi.org/10.3390/cells11030552>
268. Wróbel-Nowicka K, Wojciechowska C, Jacheć W, Zalewska M, Romuk E. The Role of Oxidative Stress and Inflammatory Parameters in Heart Failure. *Medicina (Kaunas)*. 2024 May 2;60(5):760. <https://doi.org/10.3390/medicina60050760>
269. Fang Q, Li Y, Wang Y, Mu N, Ma H, Yu L. Parthanatos: A redox-dependent cell death pathway in cardiovascular disease and myocardial aging. *Pathology - Research and Practice* Volume 274, October 2025, 156178 <https://doi.org/10.1016/j.prp.2025.156178>
270. Mustafa, M.; Ahmad, R.; Tantry, I.Q.; Ahmad, W.; Siddiqui, S.; Alam, M.; Abbas, K.; Moinuddin; Hassan, M.I.; Habib, S.; et al. Apoptosis: A Comprehensive Overview of Signaling Pathways, Morphological Changes, and Physiological Significance and Therapeutic Implications. *Cells* **2024**, *13*, 1838. <https://doi.org/10.3390/cells13221838>
271. Xiong Z, Liao Y, Zhang Z, Wan Z, Liang S, Guo J. Molecular Insights into Oxidative-Stress-Mediated Cardiomyopathy and Potential Therapeutic Strategies. *Biomolecules*. 2025 May 6;15(5):670. <https://doi.org/10.3390/biom15050670>

272. Dongda Wu, Donghong Deng, Biao Tang. Programmed Cell Death in Heart Failure: Mechanisms, Impacts, and Therapeutic Prospects. *Rev. Cardiovasc. Med.* **2025**, 26(7), 38407. <https://doi.org/10.31083/RCM38407>
273. Zhou B, Tian R. Mitochondrial dysfunction in pathophysiology of heart failure. *J Clin Invest.* 2018 Aug 31;128(9):3716-3726. <https://doi.org/10.1172/JCI120849>
274. Ostadal, P.; Tappia, P.S. Involvement of Oxidative Stress in Mitochondrial Abnormalities During the Development of Heart Disease. *Biomedicines* **2025**, 13, 1338. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13061338>
275. Dho, S.H., Cho, M., Woo, W. *et al.* Caspases as master regulators of programmed cell death: apoptosis, pyroptosis and beyond. *Exp Mol Med* **57**, 1121–1132 (2025). <https://doi.org/10.1038/s12276-025-01470-9>
276. Green DR. The Mitochondrial Pathway of Apoptosis: Part I: MOMP and Beyond. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2022 May 27;14(5):a041038. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041038>
277. Zhang, S.; Rao, S.; Yang, M.; Ma, C.; Hong, F.; Yang, S. Role of Mitochondrial Pathways in Cell Apoptosis during He-Patic Ischemia/Reperfusion Injury. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23, 2357. <https://doi.org/10.3390/ijms23042357>
278. Navarro-Yepes J, Burns M, Anandhan A, Khalimonchuk O, del Razo LM, Quintanilla-Vega B, Pappa A, Panayiotidis MI, Franco R. Oxidative stress, redox signaling, and autophagy: cell death versus survival. *Antioxid Redox Signal.* 2014 Jul 1;21(1):66-85. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.5837>
279. Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol.* 2018 Jun 4;217(6):1915-1928. <https://doi.org/10.1083/jcb.201708007>
280. Jensen LT, Culotta VC. Activation of CuZn superoxide dismutases from *Caenorhabditis elegans* does not require the copper chaperone CCS. *J Biol Chem.* 2005 Dec 16;280(50):41373-9. <https://doi.org/10.1074/jbc.M50914220>
281. Lob HE, Vinh A, Li L, Blinder Y, Offermanns S, Harrison DG. Role of vascular extracellular superoxide dismutase in hypertension. *Hypertension.* 2011 Aug;58(2):232-9. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.172718>

282. Belenichev IF, Aliyeva OG, Popazova OO, Bukhtiyarova NV. Involvement of heat shock proteins HSP70 in the mechanisms of endogenous neuroprotection: the prospect of using HSP70 modulators. *Front Cell Neurosci.* 2023 Apr 17;17:1131683. <https://doi.org/10.3389/fncel.2023.1131683>
283. Zhang K, Zhai R, Xue T, Xu X, Ren Y, Ma M, Shi F, Wang H, Wang N, Zhou F. HSP70 regulates cell proliferation and apoptosis in actinomycin-D-treated lung cancer cells. *Transl Cancer Res* 2020;9(2):1167-1173. <https://doi.org/10.21037/tcr.2019.12.100>
284. Trujillo M, Alvarez B, Radi R. One- and two-electron oxidation of thiols: mechanisms, kinetics and biological fates. *Free Radic Res.* 2016;50(2):150-71. <https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1089988>
285. Vanin AF. Physico-Chemistry of Dinitrosyl Iron Complexes as a Determinant of Their Biological Activity. *Int J Mol Sci.* 2021 Sep 26;22(19):10356. <https://doi.org/10.3390/ijms221910356>
286. Chen, Y.-C.; Chen, Y.-H.; Chiu, H.; Ko, Y.-H.; Wang, R.-T.; Wang, W.-P.; Chuang, Y.-J.; Huang, C.-C.; Lu, T.-T. Cell-Penetrating Delivery of Nitric Oxide by Biocompatible Dinitrosyl Iron Complex and Its Dermato-Physiological Implications. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 10101. <https://doi.org/10.3390/ijms221810101>
287. Jandy M, Noor A, Nelson P, Dennys CN, Karabinas IM, Pestoni JC, Singh GD, Luc L, Devyldere R, Perdomo N, Mitchell CE, Adams L, Fuse MA, Mendoza FA, Marean-Reardon CL, Mehl RA, Estevez AG, Franco MC. Peroxynitrite nitration of Tyr 56 in Hsp90 induces PC12 cell death through P2X7R-dependent PTEN activation. *Redox Biol.* 2022 Apr;50:102247. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102247>
288. Kucharczyk MW, Valiente D, Bannister K. Developments in Understanding Diffuse Noxious Inhibitory Controls: Pharmacological Evidence from Pre-Clinical Research. *J Pain Res.* 2021 Apr 20;14:1083-1095. <https://doi.org/10.2147/JPR.S258602>
289. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal.* 2014 Mar 1;20(7):1126-67. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>

290. Zheng M, Liu Y, Zhang G, Yang Z, Xu W, Chen Q. The Applications and Mechanisms of Superoxide Dismutase in Medicine, Food, and Cosmetics. *Antioxidants* (Basel). 2023 Aug 27;12(9):1675. <https://doi.org/10.3390/antiox12091675>
291. Lee KH, Cha M, Lee BH. Neuroprotective Effect of Antioxidants in the Brain. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 28;21(19):7152. <https://doi.org/10.3390/ijms21197152>
292. Kurutas EB. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr J*. 2016 Jul 25;15(1):71. <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0186-5>
293. Sakagami H, Satoh K. Prooxidant action of two antioxidants: ascorbic acid and gallic acid. *Anticancer Res*. 1997 Jan-Feb;17(1A):221-4. PMID: 9066655
294. Timoshnikov, V.A.; Selyutina, O.Y.; Polyakov, N.E.; Didichenko, V.; Kontoghiorghes, G.J. Mechanistic Insights of Chelator Complexes with Essential Transition Metals: Antioxidant/Pro-Oxidant Activity and Applications in Medicine. *Int. J. Mol. Sci*. 2022, 23, 1247. <https://doi.org/10.3390/ijms23031247>
295. Herb, M.; Schramm, M. Functions of ROS in Macrophages and Antimicrobial Immunity. *Antioxidants* 2021, 10, 313. <https://doi.org/10.3390/antiox10020313>
296. Kashfi, K.; Kannikal, J.; Nath, N. Macrophage Reprogramming and Cancer Therapeutics: Role of iNOS-Derived NO. *Cells* 2021, 10, 3194. <https://doi.org/10.3390/cells10113194>
297. Pigott B, Bartus K, Garthwaite J. On the selectivity of neuronal NOS inhibitors. *Br J Pharmacol*. 2013 Mar;168(5):1255-65. <https://doi.org/10.1111/bph.12016>
298. Poh, W.H.; Rice, S.A. Recent Developments in Nitric Oxide Donors and Delivery for Antimicrobial and Anti-Biofilm Applications. *Molecules* 2022, 27, 674. <https://doi.org/10.3390/molecules27030674>
299. Melvin AC, Jones WM, Lutzke A, Allison CL, Reynolds MM. S-Nitrosoglutathione exhibits greater stability than S-nitroso-N-acetylpenicillamine under common laboratory conditions: A comparative stability study. *Nitric Oxide*. 2019 Nov 1;92:18-25. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.08.002>
300. Ulrich K, Jakob U. The role of thiols in antioxidant systems. *Free Radic Biol Med*. 2019 Aug 20;140:14-27. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.035>

301. Belenichev, I. F., Shah, F., Chekman, I. S., Nagornaya, E. A., Gorbacheva, S. V., Gorchakova, N. A., & NV, B. (2020). Thiol-disulfide system: role in endogenous cyto- and organoprotection, pathways of pharmacological modulation. LLC “Vydavnytstvo” Yuston “, Kyiv
302. Wang Y, Tang B, Long L, Luo P, Xiang W, Li X, Wang H, Jiang Q, Tan X, Luo S, Li H, Wang Z, Chen Z, Leng Y, Jiang Z, Wang Y, Ma L, Wang R, Zeng C, Liu Z, Wang Y, Miao H, Shi C. Improvement of obesity-associated disorders by a small-molecule drug targeting mitochondria of adipose tissue macrophages. *Nat Commun.* 2021 Jan 4;12(1):102. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20315-9>
303. Juan José Poderoso, Katia Helfenberger, Cecilia Poderoso, The effect of nitric oxide on mitochondrial respiration, *Nitric Oxide*, Volume 88, 2019, Pages 61-72, <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.04.005>
304. Presley T, Vedam K, Liu X, Zweier JL, Ilangoan G. Activation of Hsp90/NOS and increased NO generation does not impair mitochondrial respiratory chain by competitive binding at cytochrome c oxidase in low oxygen concentrations. *Cell Stress Chaperones.* 2009 Nov;14(6):611-27. <https://doi.org/10.1007/s12192-009-0114-0>
305. Sharifi-Rad M, Anil Kumar NV, Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E, Rajkovic J, Tsouh Fokou PV, Azzini E, Peluso I, Prakash Mishra A, Nigam M, El Rayess Y, Beyrouthy ME, Polito L, Iriti M, Martins N, Martorell M, Docea AO, Setzer WN, Calina D, Cho WC, Sharifi-Rad J. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Front Physiol.* 2020 Jul 2;11:694. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>
306. Moldoveanu T, Czabotar PE. BAX, BAK, and BOK: A Coming of Age for the BCL-2 Family Effector Proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2020 Apr 1;12(4):a036319. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a036319>
307. Narula, J., Haider, N., Arbustini, E., & Chandrashekar, Y. S. (2006). Mechanisms of Disease: Apoptosis in heart failure - Seeing hope in death. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*, 3(12), 681-688. <https://doi.org/10.1038/ncpcardio0710>

308. Dongda Wu, Donghong Deng, Biao Tang. Programmed Cell Death in Heart Failure: Mechanisms, Impacts, and Therapeutic Prospects. *Rev. Cardiovasc. Med.* **2025**, 26(7), 38407. <https://doi.org/10.31083/RCM38407>
309. Solomon SD, Rizkala AR, Lefkowitz MP, Shi VC, Gong J, Anavekar N, Anker SD, Arango JL, Arenas JL, Atar D, Ben-Gal T, Boytsov SA, Chen CH, Chopra VK, Cleland J, Comin-Colet J, Duengen HD, Echeverría Correa LE, Filippatos G, Flammer AJ, Galinier M, Godoy A, Goncalvesova E, Janssens S, Katova T, Køber L, Lelonek M, Linssen G, Lund LH, O'Meara E, Merkely B, Milicic D, Oh BH, Perrone SV, Ranjith N, Saito Y, Saraiva JF, Shah S, Seferovic PM, Senni M, Sibulo AS Jr, Sim D, Sweitzer NK, Taurio J, Vinereanu D, Vrtovec B, Widimský J Jr, Yilmaz MB, Zhou J, Zweiker R, Anand IS, Ge J, Lam CSP, Maggioni AP, Martinez F, Packer M, Pfeffer MA, Pieske B, Redfield MM, Rouleau JL, Van Veldhuisen DJ, Zannad F, Zile MR, McMurray JJV. Baseline Characteristics of Patients With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction in the PARAGON-HF Trial. *Circ Heart Fail.* 2018 Jul;11(7):e004962. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.004962>
310. Lee MMY, Sattar N. A review of current key guidelines for managing high-risk patients with diabetes and heart failure and future prospects. *Diabetes Obes Metab.* 2023 Jul;25 Suppl 3:33-47. <https://doi.org/10.1111/dom.15085>
311. Peters AE, DeVore AD. Pharmacologic Therapy for Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Cardiol Clin.* 2022 Nov;40(4):473-489. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2022.06.004>
312. Bozkurt B. Contemporary pharmacological treatment and management of heart failure. *Nat Rev Cardiol.* 2024 Aug;21(8):545-555. <https://doi.org/10.1038/s41569-024-00997-0>
313. Keller DM, Ahmed N, Tariq H, Walgamage M, Walgamage T, Mohammed A, Chou JT, Kałużna-Oleksy M, Lesiak M, Straburzyńska-Migaj E. SGLT2 Inhibitors in Type 2 Diabetes Mellitus and Heart Failure-A Concise Review. *J Clin Med.* 2022 Mar 8;11(6):1470. <https://doi.org/10.3390/jcm11061470>

314. Giraldo-Gonzalez, G.C.; Roman-Gonzalez, A.; Cañas, F.; Garcia, A. Molecular Mechanisms of Type 2 Diabetes-Related Heart Disease and Therapeutic Insights. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, *26*, 4548. <https://doi.org/10.3390/ijms26104548>
315. Fatima A, Rasool S, Devi S, Talha M, Waqar F, Nasir M, Khan MR, Ibne Ali Jaffari SM, Haider A, Shah SU, Sapna F, Varrassi G, Khatri M, Kumar S, Mohamad T. Exploring the Cardiovascular Benefits of Sodium-Glucose Cotransporter-2 (SGLT2) Inhibitors: Expanding Horizons Beyond Diabetes Management. *Cureus.* 2023 Sep 30;15(9):e46243. <https://doi.org/10.7759/cureus.46243>
316. Kolesnyk, M. Y., & Maistrovych, Y. Y. (2024). The role of sodium – glucose cotransporter-2 inhibitors in the treatment of different phenotypes of chronic heart failure. *Modern Medical Technology*, 16(1), 60–67. <https://doi.org/10.14739/mmt.2024.1.296545>
317. Kyriakos G, Quiles-Sanchez LV, Garmpi A, Farmaki P, Kyre K, Savvanis S, Antoniou VK, Memi E. SGLT2 Inhibitors and Cardiovascular Outcomes: Do they Differ or there is a Class Effect? New Insights from the EMPA-REG OUTCOME trial and the CVD-REAL Study. *Curr Cardiol Rev.* 2020;16(4):258-265. <https://doi.org/10.2174/1573403X15666190730094215>
318. Shah KS, Fang JC. Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors in Heart Failure. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2022 Jan 6;62:109-120. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-052120-014725>
319. Lopaschuk GD, Verma S. Mechanisms of Cardiovascular Benefits of Sodium Glucose Co-Transporter 2 (SGLT2) Inhibitors: A State-of-the-Art Review. *JACC Basic Transl Sci.* 2020 Jun 22;5(6):632-644. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2020.02.004>
320. Lytvyn Y, Bjornstad P, Udell JA, Lovshin JA, Cherney DZI. Sodium Glucose Cotransporter-2 Inhibition in Heart Failure: Potential Mechanisms, Clinical Applications, and Summary of Clinical Trials. *Circulation.* 2017 Oct 24;136(17):1643-1658. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030012>
321. Verma S, McMurray JJV. SGLT2 inhibitors and mechanisms of cardiovascular benefit: a state-of-the-art review. *Diabetologia.* 2018 Oct;61(10):2108-2117. <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4670-7>

322. Iborra-Egea O, Santiago-Vacas E, Yurista SR, Lupón J, Packer M, Heymans S, Zannad F, Butler J, Pascual-Figal D, Lax A, Núñez J, de Boer RA, Bayés-Genís A. Unraveling the Molecular Mechanism of Action of Empagliflozin in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction With or Without Diabetes. *JACC Basic Transl Sci.* 2019 Oct 23;4(7):831-840. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2019.07.010>
323. Santos-Gallego CG, Requena-Ibanez JA, San Antonio R, Ishikawa K, Watanabe S, Picatoste B, Flores E, Garcia-Ropero A, Sanz J, Hajjar RJ, Fuster V, Badimon JJ. Empagliflozin Ameliorates Adverse Left Ventricular Remodeling in Nondiabetic Heart Failure by Enhancing Myocardial Energetics. *J Am Coll Cardiol.* 2019 Apr 23;73(15):1931-1944. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.01.056>
324. Honka H, Solis-Herrera C, Triplitt C, Norton L, Butler J, DeFronzo RA. Therapeutic Manipulation of Myocardial Metabolism: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2021 Apr 27;77(16):2022-2039. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2021.02.057>
325. Saucedo-Orozco H, Voorrips SN, Yurista SR, de Boer RA, Westenbrink BD. SGLT2 Inhibitors and Ketone Metabolism in Heart Failure. *J Lipid Atheroscler.* 2022 Jan;11(1):1-19. <https://doi.org/10.12997/jla.2022.11.1.1>
326. Shi X, Verma S, Yun J, Brand-Arzamendi K, Singh KK, Liu X, Garg A, Quan A, Wen XY. Effect of empagliflozin on cardiac biomarkers in a zebrafish model of heart failure: clues to the EMPA-REG OUTCOME trial? *Mol Cell Biochem.* 2017 Sep;433(1-2):97-102. <https://doi.org/10.1007/s11010-017-3018-9>
327. Durante W, Behnammanesh G, Peyton KJ. Effects of Sodium-Glucose Co-Transporter 2 Inhibitors on Vascular Cell Function and Arterial Remodeling. *Int J Mol Sci.* 2021 Aug 16;22(16):8786. <https://doi.org/10.3390/ijms22168786>
328. Monzo L, Ferrari I, Cicogna F, Tota C, Cice G, Girerd N, Calò L. Sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors in heart failure: an updated evidence-based practical guidance for clinicians. *Eur Heart J Suppl.* 2023 Apr 26;25(Suppl C):C309-C315. <https://doi.org/10.1093/eurheartjsupp/suad055>
329. Blebea, N.-M.; Pușcașu, C.; Ștefănescu, E.; Stănișuț, A.M. Diuretic Therapy: Mechanisms, Clinical Applications, and Management. *J. Mind Med. Sci.* **2025**, *12*, 26. <https://doi.org/10.3390/jmms12010026>

330. Arumugham VB, Shahin MH. Therapeutic Uses of Diuretic Agents. [Updated 2023 May 29]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing;2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557838>
331. Magdy JS, McVeigh J, Indraratna P. Diuretics in the management of chronic heart failure: when and how. *Aust Prescr.* 2022 Dec;45(6):200-204. <https://doi.org/10.18773/austprescr.2022.069>
332. Wu L, Rodriguez M, El Hachem K, Krittanawong C. Diuretic Treatment in Heart Failure: A Practical Guide for Clinicians. *J Clin Med.* 2024 Jul 30;13(15):4470. <https://doi.org/10.3390/jcm13154470>
333. Palazzuoli A, Mazzeo P, Fortunato M, Cadeddu Dessalvi C, Mariano E, Salzano A, Severino P, Fedele F. The Changing Role of Loop Diuretics in Heart Failure Management across the Last Century. *J Clin Med.* 2024 Mar 14;13(6):1674. <https://doi.org/10.3390/jcm13061674>
334. Szabó-Söderberg B, Benson L, Savarese G, Hage C, Guidetti F, Thorvaldsen T, Pitt B, Lund LH. Loop and thiazide diuretics and outcomes in heart failure with preserved ejection fraction. *Am Heart J.* 2025 Nov;289:6-16. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2025.04.029>
335. Patterson JH, Adams KF Jr. Investigating the Role of Thiazide-Like Diuretics in Acute Heart Failure: Potential Approach to an Unmet Need. *J Card Fail.* 2016 Jul;22(7):537-8. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2016.05.001>
336. Joan Carles Trullàs, José Luis Morales-Rull, Jesús Casado, Margarita Carrera-Izquierdo, Marta Sánchez-Marteles, Alicia Conde-Martel, Melitón Francisco Dávila-Ramos, Pau Llàcer, Prado Salamanca-Bautista, José Pérez-Silvestre, Miguel Ángel Plasín, José Manuel Cerqueiro, Paloma Gil, Francesc Formiga, Luis Manzano, CLOROTIC trial investigators , Combining loop with thiazide diuretics for decompensated heart failure: the CLOROTIC trial, *European Heart Journal*, Volume 44, Issue 5, 1 February 2023, Pages 411–421, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac689>
337. Casu G, Merella P. Diuretic Therapy in Heart Failure - Current Approaches. *Eur Cardiol.* 2015 Jul;10(1):42-47. <https://doi.org/10.15420/ecr.2015.10.01.42>

338. Aziz S, Hamid A, Shaikh A, Mansoor R, Owings A. Unveiling Disparities in Heart Failure and Cirrhosis Related Mortality: CDC WONDER 1999 to 2020. *Dig Dis Sci.* 2025 Jun;70(6):2128-2137. <https://doi.org/10.1007/s10620-025-08970-8>
339. Wu, L.; Rodriguez, M.; El Hachem, K.; Krittanawong, C. Diuretic Treatment in Heart Failure: A Practical Guide for Clinicians. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 4470. <https://doi.org/10.3390/jcm13154470>
340. Herman LL, Padala SA, Ahmed I, et al. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors (ACEI) [Updated 2023 Jul 31]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431051>
341. Stoiljkovic, M.; Jakovljevic, V.; Milosavljevic, J.; Bolevich, S.; Jeremic, N.; Canovic, P.; Fisenko, V.P.; Tikhonov, D.A.; Krylova, I.N.; Bolevich, S.; et al. Cardioprotective Role of Captopril: From Basic to Applied Investigations. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, *26*, 7215. <https://doi.org/10.3390/ijms26157215>
342. Singh B, Cusick AS, Goyal A, et al. ACE Inhibitors. [Updated 2025 May 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430896>
343. Herman LL, Padala SA, Ahmed I, et al. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors (ACEI) [Updated 2023 Jul 31]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431051>
344. Greenberg B. Medical Management of Patients With Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *Korean Circ J.* 2022 Mar;52(3):173-197. <https://doi.org/10.4070/kcj.2021.0401>
345. Sobhy, M., Eletriby, A., Ragy, H. *et al.* ACE Inhibitors and Angiotensin Receptor Blockers for the Primary and Secondary Prevention of Cardiovascular Outcomes: Recommendations from the 2024 Egyptian Cardiology Expert Consensus in Collaboration with the CVREP Foundation. *Cardiol Ther* **13**, 707–736 (2024). <https://doi.org/10.1007/s40119-024-00381-6>

346. Ikhapoh IA, Pelham CJ, Agrawal DK. Synergistic effect of angiotensin II on vascular endothelial growth factor-A-mediated differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into endothelial cells. *Stem Cell Res Ther.* 2015 Jan 6;6(1):4. <https://doi.org/10.1186/scrt538>
347. Tschöpe C, Schultheiss HP. Kardioprotektion durch Candesartan bei Herzinsuffizienz. CHARM-overall-Teilauswertung (Candesartan in heart failure assessment of reduction in mortality and morbidity) [Cardioprotection by means of Candesartan in cardiac insufficiency. CHARM overall partial evaluation (Candesartan in heart failure assessment of reduction in mortality and morbidity)]. *Internist (Berl).* 2006 Oct;47(10):1084-6. German. <https://doi.org/10.1007/s00108-006-1710-z>
348. Werner C, Pöss J, Böhm M. Optimal antagonism of the Renin-Angiotensin-aldosterone system: do we need dual or triple therapy? *Drugs.* 2010 Jul 9;70(10):1215-30. <https://doi.org/10.2165/11537910-000000000-00000>
349. Strauss MH, Hall AS, Narkiewicz K. The Combination of Beta-Blockers and ACE Inhibitors Across the Spectrum of Cardiovascular Diseases. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2023 Aug;37(4):757-770. <https://doi.org/10.1007/s10557-021-07248-1>
350. Tocci G, Citoni B, Presta V, Leoncini G, Viazzi F, Bonino B, Volpe M, Pontremoli R. Effects of dual inhibition of renin-angiotensin-aldosterone system on cardiovascular and renal outcomes: balancing the risks and the benefits. *Intern Emerg Med.* 2020 Apr;15(3):373-379. <https://doi.org/10.1007/s11739-019-02257-3>
351. Pfeffer MA, McMurray JJ, Velazquez EJ, Rouleau JL, Køber L, Maggioni AP, Solomon SD, Swedberg K, Van de Werf F, White H, Leimberger JD, Henis M, Edwards S, Zelenkofske S, Sellers MA, Califf RM; Valsartan in Acute Myocardial Infarction Trial Investigators. Valsartan, captopril, or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction, or both. *N Engl J Med.* 2003 Nov 13;349(20):1893-906. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa032292>
352. Ancion A, Tridetti J, Nguyen Trung ML, Oury C, Lancellotti P. A Review of the Role of Bradykinin and Nitric Oxide in the Cardioprotective Action of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors: Focus on Perindopril. *Cardiol Ther.* 2019 Dec;8(2):179-191. <https://doi.org/10.1007/s40119-019-00150-w>

353. Papapostolou, N.; Gregoriou, S.; Katoulis, A.; Makris, M. Five-Membered Nitrogen Heterocycles Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Inhibitors Induced Angioedema: An Underdiagnosed Condition. *Pharmaceuticals* **2024**, *17*, 360. <https://doi.org/10.3390/ph17030360>
354. Jiang X, Wu F, Xu Y, Yan JX, Wu YD, Li SH, Liao X, Liang JX, Li ZH, Liu HW. A novel role of angiotensin II in epidermal cell lineage determination: Angiotensin II promotes the differentiation of mesenchymal stem cells into keratinocytes through the p38 MAPK, JNK and JAK2 signalling pathways. *Exp Dermatol*. 2019 Jan;28(1):59-65. <https://doi.org/10.1111/exd.13837>
355. Xu Q, Hou W, Zhao B, Fan P, Wang S, Wang L, Gao J. Mesenchymal stem cells lineage and their role in disease development. *Mol Med*. 2024 Nov 11;30(1):207. <https://doi.org/10.1186/s10020-024-00967-9>
356. Ferrari F, Martins VM, Fuchs FD, Stein R. Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibitors in COVID-19: A Review. *Clinics (Sao Paulo)*. 2021 Apr 9;76:e2342. <https://doi.org/10.6061/clinics/2021/e2342>
357. Augustine R, S A, Nayeem A, Salam SA, Augustine P, Dan P, Maureira P, Mraiche F, Gentile C, Hansbro PM, McClements L, Hasan A. Increased complications of COVID-19 in people with cardiovascular disease: Role of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) dysregulation. *Chem Biol Interact*. 2022 Jan 5;351:109738. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109738>
358. Singh AK, Gupta R, Misra A. Comorbidities in COVID-19: Outcomes in hypertensive cohort and controversies with renin angiotensin system blockers. *Diabetes Metab Syndr*. 2020 Jul-Aug;14(4):283-287. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.03.016>
359. Silva-Velasco DL, Cervantes-Pérez LG, Sánchez-Mendoza A. ACE inhibitors and their interaction with systems and molecules involved in metabolism. *Heliyon*. 2024 Jan 14;10(2):e24655. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24655>
360. Wu, Z., Yao, T., Wang, Z. *et al.* Association between angiotensin-converting enzyme inhibitors and the risk of lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer* **128**, 168–176 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41416-022-02029-5>

361. Yao T, Wu Z, Wang Z, Chen L, Liu B, Lu M and Shen N (2023) Association between angiotensin-converting enzyme inhibitor-induced cough and the risk of lung cancer: a Mendelian randomization study. *Front. Pharmacol.* 14:1267924. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1267924>
362. Dézsi CA, Szentes V. The Real Role of β -Blockers in Daily Cardiovascular Therapy. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2017 Oct;17(5):361-373. <https://doi.org/10.1007/s40256-017-0221-8>
363. Kunj M, Kumar D, Kumar A. The Effects of Beta Blockers on Exercise Tolerance and Quality of Life in Congestive Heart Failure Patient. *J Pharm Bioallied Sci.* 2025 Jun;17(Suppl 2):S1532-S1534. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_1817_24
364. Egan BM, Basile J, Chilton RJ, Cohen JD. Cardioprotection: the role of beta-blocker therapy. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2005 Jul;7(7):409-16. <https://doi.org/10.1111/j.1524-6175.2005.04486.x>
365. Vale GT, Ceron CS, Gonzaga NA, Simplicio JA, Padovan JC. Three Generations of β -blockers: History, Class Differences and Clinical Applicability. *Curr Hypertens Rev.* 2019;15(1):22-31. <https://doi.org/10.2174/1573402114666180918102735>
366. Fisker FY, Grimm D, Wehland M. Third-generation beta-adrenoceptor antagonists in the treatment of hypertension and heart failure. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2015 Jul;117(1):5-14. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12396>
367. Oliver E, Mayor F Jr, D'Ocon P. Beta-blockers: Historical Perspective and Mechanisms of Action. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2019 Oct;72(10):853-862. English, Spanish. <https://doi.org/10.1016/j.rec.2019.04.006>
368. Masarone D, Martucci ML, Errigo V, Pacileo G. The Use of β -Blockers in Heart Failure with Reduced Ejection Fraction. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2021 Aug 24;8(9):101. <https://doi.org/10.3390/jcdd8090101>
369. Schurtz G, Mewton N, Lemesle G, Delmas C, Levy B, Puymirat E, Aissaoui N, Bauer F, Gerbaud E, Henry P, Bonello L, Bochaton T, Bonnefoy E, Roubille F and Lamblin N (2023) Beta-blocker management in patients admitted for acute heart failure and reduced ejection fraction: a review and expert consensus opinion. *Front. Cardiovasc. Med.* 10:1263482. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1263482>

370. Shahrokhi M, Gupta V. Propranolol. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557801>
371. Kingma, J.; Simard, C.; Drolet, B. Overview of Cardiac Arrhythmias and Treatment Strategies. *Pharmaceuticals* **2023**, *16*, 844. <https://doi.org/10.3390/ph16060844>
372. Katarzynska-Szymanska A, Ochotny R, Oko-Sarnowska Z, Wachowiak-Baszynska H, Krauze T, Piskorski J, Gwizdala A, Mitkowski P, Guzik P. Shortening baroreflex delay in hypertrophic cardiomyopathy patients -- an unknown effect of β -blockers. *Br J Clin Pharmacol*. 2013 Jun;75(6):1516-24. <https://doi.org/10.1111/bcp.12027>
373. Vargas Pelaez AF, Gao Z, Ahmad TA, Leuenberger UA, Proctor DN, Maman SR, Muller MD. Effect of adrenergic agonists on coronary blood flow: a laboratory study in healthy volunteers. *Physiol Rep*. 2016 May;4(10):e12806. <https://doi.org/10.14814/phy2.12806>
374. Alsadder, L.; Hamadah, A. Cardiac Ischaemia–Reperfusion Injury: Pathophysiology, Therapeutic Targets and Future Interventions. *Biomedicines* **2025**, *13*, 2084. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13092084>
375. Gopal S, Patel P, Mandiga P. Nadolol. [Updated 2024 Feb 22]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545189>
376. Khouri C, Jouve T, Blaise S, Carpentier P, Cracowski JL, Roustit M. Peripheral vasoconstriction induced by β -adrenoceptor blockers: a systematic review and a network meta-analysis. *Br J Clin Pharmacol*. 2016 Aug;82(2):549-60. <https://doi.org/10.1111/bcp.12980>
377. Belsey J, Savelieva I, Mugelli A, Camm AJ. Relative efficacy of antianginal drugs used as add-on therapy in patients with stable angina: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Prev Cardiol*. 2015 Jul;22(7):837-48. <https://doi.org/10.1177/2047487314533217>
378. Marques de Mello L, Cruz ÁA. A proposed scheme to cope with comorbidities in asthma. *Pulm Pharmacol Ther*. 2018 Oct;52:41-51. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2018.08.005>

379. Marti HP, Pavía López AA, Schwartzmann P. Safety and tolerability of β -blockers: importance of cardioselectivity. *Curr Med Res Opin.* 2024;40(sup1):55-62 <https://doi.org/10.1080/03007995.2024.2317433>
380. Safarudin F, Iloabuchi CO, Ladani A, Sambamoorthi U. The Association of Beta-Blocker Use to Cognitive Impairment among Adults with Hypertension or Cardiovascular Diseases in the United States. *Chronic Pain Manag.* 2020;4:125. <https://doi.org/10.29011/2576-957x.100025>
381. Farzam K, Jan A. Beta Blockers. [Updated 2023 Aug 22]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532906>
382. Iyngkaran P, Toukhsati SR, Thomas MC, Jelinek MV, Hare DL, Horowitz JD. A Review of the External Validity of Clinical Trials with Beta-Blockers in Heart Failure. *Clin Med Insights Cardiol.* 2016 Oct 12;10:163-171. <https://doi.org/10.4137/CMC.S38444>
383. Liu X, Yu H, Pei J, Chu J, Pu J, Zhang S. Clinical characteristics and long-term prognosis in patients with chronic heart failure and reduced ejection fraction in China. *Heart Lung Circ.* 2014 Sep;23(9):818-26. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2014.02.022>
384. Yamashina A, Nishikori M, Fujimito H, Oba K. Identification of predictive factors interacting with heart rate reduction for potential beneficial clinical outcomes in chronic heart failure: A systematic literature review and *meta*-analysis. *Int J Cardiol Heart Vasc.* 2022 Oct 29;43:101141. <https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2022.101141>
385. Pascual-Figal D, Bayes-Genis A. Looking for the ideal medication for heart failure with reduced ejection fraction: a narrative review. *Front Cardiovasc Med.* 2024 Sep 6;11:1439696. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2024.1439696>
386. Chiorescu RM, Lazar RD, Ruda A, Buda AP, Chiorescu S, Mocan M, Blendea D. Current Insights and Future Directions in the Treatment of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Int J Mol Sci.* 2023 Dec 28;25(1):440. <https://doi.org/10.3390/ijms25010440>
387. Wong YW, Haqqani H, Molenaar P. Roles of β -adrenoceptor Subtypes and Therapeutics in Human Cardiovascular Disease: Heart Failure, Tachyarrhythmias and

Other Cardiovascular Disorders. *Handb Exp Pharmacol.* 2024;285:247-295. https://doi.org/10.1007/164_2024_720

388. Oliver E, Mayor F Jr, D'Ocon P. Beta-blockers: Historical Perspective and Mechanisms of Action. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2019 Oct;72(10):853-862. English, Spanish. <https://doi.org/10.1016/j.rec.2019.04.006>

389. Singh S, Preuss CV. Carvedilol. [Updated 2024 Jan 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534868>

390. Kotecha D, Manzano L, Altman DG, Krum H, Erdem G, Williams N, Flather MD; Beta-Blockers in Heart Failure Collaborative Group. Individual patient data meta-analysis of beta-blockers in heart failure: rationale and design. *Syst Rev.* 2013 Jan 18;2:7. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-2-7>

391. Karwath A, Bunting KV, Gill SK, Tica O, Pendleton S, Aziz F, Barsky AD, Chernbumroong S, Duan J, Mobley AR, Cardoso VR, Slater K, Williams JA, Bruce EJ, Wang X, Flather MD, Coats AJS, Gkoutos GV, Kotecha D; card AIC group and the Beta-blockers in Heart Failure Collaborative Group. Redefining β -blocker response in heart failure patients with sinus rhythm and atrial fibrillation: a machine learning cluster analysis. *Lancet.* 2021 Oct 16;398(10309):1427-1435. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)01638-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01638-X)

392. Schurtz G, Mewton N, Lemesle G, Delmas C, Levy B, Puymirat E, Aissaoui N, Bauer F, Gerbaud E, Henry P, Bonello L, Bochaton T, Bonnefoy E, Roubille F, Lamblin N. Beta-blocker management in patients admitted for acute heart failure and reduced ejection fraction: a review and expert consensus opinion. *Front Cardiovasc Med.* 2023 Nov 16;10:1263482. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1263482>

393. Singh S, Preuss CV. Carvedilol. [Updated 2024 Jan 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534868>

394. Zhang X, Szeto C, Gao E, Tang M, Jin J, Fu Q, Makarewich C, Ai X, Li Y, Tang A, Wang J, Gao H, Wang F, Ge XJ, Kunapuli SP, Zhou L, Zeng C, Xiang KY, Chen X. Cardiotoxic and cardioprotective features of chronic β -adrenergic signaling. *Circ Res.*

- 2013 Feb 1;112(3):498-509. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.273896>
395. Parichatikanond, W.; Duangrat, R.; Kurose, H.; Mangmool, S. Regulation of β -Adrenergic Receptors in the Heart: A Review on Emerging Therapeutic Strategies for Heart Failure. *Cells* **2024**, *13*, 1674. <https://doi.org/10.3390/cells13201674>
396. Iovanovici DC, Bungau SG, Vesa CM, Moisi M, Babes EE, Tit DM, Horvath T, Behl T, Rus M. Reviewing the Modern Therapeutical Options and the Outcomes of Sacubitril/Valsartan in Heart Failure. *Int J Mol Sci.* 2022 Sep 26;23(19):11336. <https://doi.org/10.3390/ijms231911336>
397. Al-Gobari M, El Khatib C, Pillon F, Gueyffier F. β -Blockers for the prevention of sudden cardiac death in heart failure patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Cardiovasc Disord.* 2013 Jul 13;13:52. <https://doi.org/10.1186/1471-2261-13-52>
398. Roghani SH, Khan DS, Shafiq A, Akbar A, Mustafa W, Shah SQA, Khan M Jr, Ali H. Efficacy of Different Beta Blockers in Reducing Mortality in Heart-Failure Patients. *Cureus.* 2024 Nov 21;16(11):e74171. <https://doi.org/10.7759/cureus.74171>
399. Nakamura K, Murakami M, Miura D, Yunoki K, Enko K, Tanaka M, Saito Y, Nishii N, Miyoshi T, Yoshida M, Oe H, Toh N, Nagase S, Kohno K, Morita H, Matsubara H, Kusano KF, Ohe T, Ito H. Beta-Blockers and Oxidative Stress in Patients with Heart Failure. *Pharmaceuticals* (Basel). 2011 Aug 5;4(8):1088-100. <https://doi.org/10.3390/ph4081088>
400. Toyoda S, Haruyama A, Inami S, Arikawa T, Saito F, Watanabe R, Sakuma M, Abe S, Nakajima T, Tanaka A, Node K, Inoue T. Effects of carvedilol vs bisoprolol on inflammation and oxidative stress in patients with chronic heart failure. *J Cardiol.* 2020 Feb;75(2):140-147. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2019.07.011>
401. Masarone D, Martucci ML, Errigo V, Pacileo G. The Use of β -Blockers in Heart Failure with Reduced Ejection Fraction. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2021 Aug 24;8(9):101. <https://doi.org/10.3390/jcdd8090101>
402. REGIONAL EMS CONSORTIUM Marion County Emergency Medical Services
PATIENT TREATMENT PROTOCOLS 2025chrome-

extension://efaidnbmnnnibpcajpeglclefindmkaj/

https://www.staytonfire.org/Files/EMS_Protocols.pdf

403. Ziyaev, A.A.; Sasmakov, S.A.; Toshmurodov, T.T.; Abdurakhmanov, J.M.; Ikramov, S.A.; Khasanov, S.S.; Ashirov, O.N.; Ziyaeva, M.A.; Begimqulova, D.B. Synthesis and Biological Activity of 5-Substituted-2,4-dihydro-1,2,4-triazole-3-thiones and Their Derivatives. *Organics* **2025**, *6*, 41. <https://doi.org/10.3390/org6030041>

404. Strzelecka, M.; Świątek, P. 1,2,4-Triazoles as Important Antibacterial Agents. *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 224. <https://doi.org/10.3390/ph14030224>

405. Kamboj VK, Verma PK, Dhanda A, Ranjan S. 1,2,4-triazole derivatives as potential scaffold for anticonvulsant activity. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem.* 2015;15(1):17-22. <https://doi.org/10.2174/1871524915666150209100533>

406. Hotsulia, A. S., Brytanova, T. S., Fedotov, S. O., Ubogov, S. H., Pidlisnyi, O. V., & Yaroshenko, I. V. (2024). The pharmacological potential of 1-alkyl derivatives of 4-((4-nitrobenzylidene)amino)-1,2,4-triazole. *Ukrainian Journal of Military Medicine*, *5*(3), 85-94. [https://doi.org/10.46847/ujmm.2024.3\(5\)-085](https://doi.org/10.46847/ujmm.2024.3(5)-085)

407. Lao Y, Wang Y, Chen J, Huang P, Su R, Shi J, Jiang C, Zhang J. Synthesis and biological evaluation of 1,2,4-triazole derivatives as potential Nrf2 activators for the treatment of cerebral ischemic injury. *Eur J Med Chem.* 2022 Jun 5;236:114315. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114315>

408. THIOTRIAZOLINE AND ITS TODAY monograph / Mazur I., Belenichev I., Kucherenko L., Siusiuka V., Reznichenko N., Kyryliuk A., Ryzhenko V., Shevchenko A., Khromylova O. – Dnipro, Jurfond, 2025. 384 p. <https://www.researchgate.net/profile/Igor-Belenichev/publicat>

409. Belenichev I, Kucherenko L, Pavlov S, Bukhtiyarova N, Popazova O, Derevianko N, Nimenko G (2022) Therapy of post-COVID-19 syndrome: improving the efficiency and safety of basic metabolic drug treatment with tiazotic acid (thiotriazoline). *Pharmacia* *69*(2): 509-516. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.69.e82596>

410. Belenichev, I.F., Vizir V.A., Mamchur, V.Y. and Kuriata, O.V. 2019. Place of thiotriazoline in the gallery of modern metabolitotropic medicines. *Zaporozhye Medical Journal.* 21, 1 (Feb. 2019). <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856>

411. Belenichev, I. F. ., Maslennikov, S. O., Dobrelia, N. V., Khromov, O. S., Holovakha, M. L., Ryzhenko, V. P., & Brek, O. O. (2024). The role of adipose tissue cell elements in the regulation of the nitroxidergic system and possible ways of pharmacological modulation. *Modern Medical Technology*, 16(2), 122–131. <https://doi.org/10.14739/mmt.2024.2.299862>
412. Popazova O, Belenichev I, Bukhtiyarova N, Ryzhenko V, Oksenysh V, Kamyshnyi A. Cardioprotective Activity of Pharmacological Agents Affecting NO Production and Bioavailability in the Early Postnatal Period after Intrauterine Hypoxia in Rats. *Biomedicines*. 2023 Oct 21;11(10):2854. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11102854>
413. Belenichev, I.; Aliyeva, O.; Burlaka, B.; Burlaka, K.; Kuchkovskyi, O.; Savchenko, D.; Oksenysh, V.; Kamyshnyi, O. Development and Optimization of Nasal Composition of a Neuroprotective Agent for Use in Neonatology after Prenatal Hypoxia. *Pharmaceuticals* **2024**, *17*, 990. <https://doi.org/10.3390/ph17080990>
414. Chekman, I., Kazakova, O., Mazur, I., Nagornaya, E., Belenichev, I., Gorchakova, N., Buhtiyarova, N., Syrova, A., Dovhan, R., & Zahorodnyi, M. (2024). New original metabolitotropic endothelioprotector "Angiolin": quantum-chemical parameters and peculiarities of pharmacological action . *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, (8), 86–93. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2017.08.086>
415. Belenichev, I.; Popazova, O.; Bukhtiyarova, N.; Ryzhenko, V.; Pavlov, S.; Suprun, E.; Oksenysh, V.; Kamyshnyi, O. Targeting Mitochondrial Dysfunction in Cerebral Ischemia: Advances in Pharmacological Interventions. *Antioxidants* **2025**, *14*, 108. <https://doi.org/10.3390/antiox14010108>
416. Nagorna O.O. Cardio- and endothelial-protective properties of derivatives of 1,2,4-triazole.– Qualifying scientific work on the rights of the manuscript. Thesis for the degree of Doctor of Medical Sciences , Kyiv, 2018-346 p.
417. Drapak, I.; Perekhoda, L.; Demchenko, N.; Suleiman, M.; Rakhimova, M.; Demchuk, I.; Taran, S.; Seredynska, N.; Gerashchenko, I. Cardioprotective Activity of Some 2-Arylimino-1,3-Thiazole Derivatives. *Sci. Pharm.* **2019**, *87*, 7. <https://doi.org/10.3390/scipharm87010007>

418. Патент на винахід №28494 України Бромід 1-(β -фенілетил)-4-(*p*-диметиламінобензиліденаміно)-1,2,4-триазолію, що має антиоксидантну, протиішемичну, β -адреноблокувальну, утеротонічну та знижуючу внутрішньо очний тиск дію/Мазур І.А.,Беленічев І.Ф., Кучеренко Л.І. Опубл. 15.01.02
419. Патент № 84351 Україна Застосування броміду 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію як активної основи лікарських засобів для корекції порушень функціонування нітроксидергичної системи при атеросклерозі і цукровому діабеті/Мазур І.А, Беленічев І.Ф., Кучеренко Л.І. Заявлено 02.11.2013
420. Беленічев І.Ф.,Кучеренко Л.І., Нагорна О.О., Волчик Ю.А., Мазур І.А.,Парнюк Н.В. Метаболітотропні механізми кардіопротективної дії нового антиангінального й антигіпертензивного препарату «ГІПЕРТРИЛ» в умовах експериментальної ішемії міокарду Одеський медичний https://files.odmu.edu.ua/journal/OMJ_2014.06/m146.pdf
421. Беленічев І.Ф., Бухтіярова Н.В., Мазур І.А., Кучеренко Л.І., Абрамов А.В., Волчик Ю.А. NO-міметична дія нового антиангінального препарату МТ при експериментальному інфаркті міокарда Клінічна фармація.-2012.-т.16,№3.-С.36-42 <https://nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2015/04/36-40.pdf>
422. Belenichev I, Popazova O, Bukhtiyarova N, Savchenko D, Oksenyich V, Kamyshnyi O. Modulating Nitric Oxide: Implications for Cytotoxicity and Cytoprotection. Antioxidants (Basel). 2024 Apr 23;13(5):504. <https://doi.org/10.3390/antiox13050504>
423. Mazur I, Belenichev I, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Puzyrenko A, Khromylova O, Bidnenko O, Gorchakova N. Antihypertensive and cardioprotective effects of new compound 1-(β -phenylethyl)-4-amino-1,2,4-triazolium bromide (Hypertril). Eur J Pharmacol. 2019 Jun 15;853:336-344. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.04.013>
424. Belenichev I, Bak P, Popazova O, Ryzhenko V, Bukhtiyarova N, Puzyrenko A (2023) Integrative and Biochemical Parameters in Rats in the Simulation of Doxorubicin Chronic Heart Failure and During the Use of β -Adrenergic Blockers. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University 47(1): 228–238. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1131302>
425. Hayakawa H, Komada Y, Hirayama M, Hori H, Ito M, Sakurai M (2001) Plasma levels of natriuretic peptides in relation to doxorubicin-induced cardiotoxicity and cardiac

function in children with cancer. *Medical and Pediatric Oncology* 37(1): 4–9. <https://doi.org/10.1002/mpo.1155>

426. Octavia Y, Tocchetti CG, Gabrielson KL, Janssens S, Crijns HJ, Moens AL (2012) Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from molecular mechanisms to therapeutic strategies. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 52(6): 1213–1225. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.03.006>

427 Maisel AS, Somma SD (2016) Do we need another heart failure biomarker: Focus on soluble suppression of tumorigenicity 2 (sST2). *European Heart Journal* 38(30): 2325–2333. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw462>

428 Chen Y, Hong X (2016) Effects of carvedilol reduce conjunctivitis through changes in inflammation, NGF and VEGF levels in a rat model. *Experimental and Therapeutic Medicine* 11(5): 1987–1992. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3140>

429 Neilan TG, Blake SL, Ichinose F, Raher MJ, Buys ES, Jassal DS, Furutani E, Perez-Sanz TM, Graveline A, Janssens SP, Picard MH, Scherrer-Crosbie M, Bloch KD (2007) Disruption of nitric oxide synthase 3 protects against the cardiac injury, dysfunction, and mortality induced by doxorubicin. *Circulation* 116: 506–514. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.652339>

430. Belenichev I, Gorbachova S, Pavlov S, Bukhtiyarova N, Puzyrenko A, Brek O (2021) Neurochemical status of nitric oxide in the settings of the norm, ischemic event of central nervous system, and pharmacological intervention. *Georgian Medical News* (315): 169–176.

431. Chekman IS, Belenichev IF, Kucherenko LI, Mazur IA, Nagornaia EA, Bukhtiyarova NV (2013) Parniuk NV. NO-dependent mechanisms of cardioprotective activity of mt preparation during course administration to SHR rats. *Eksperimental'naia i Klinicheskaia Farmakologiya* 76(8): 24–26.

432. Trujillo M, Naviliat M, Alvarez MN., Peluffo G, Radi R (2000) Peroxynitrite biochemistry: formation, reactions and detection. *Analisis* 28(6): 518–527.

433. Tassigny A, Berdeaux A, Souktani R, Henry P, Ghaleh B (2008) The volume-sensitive chloride channel inhibitors prevent both contractile dysfunction and apoptosis

induced by doxorubicin through PI3kinase, Akt and Erk 1/2. *European Journal of Heart Failure* 10(1): 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.ejheart.2007.11.002>

434. Ryzhov OA, Ryzhenko VP, Levich SV, Belenichev IF (2017) Analysis of influence of quantum chemical descriptors on NO-scavenger properties among xanthine derivatives. *Biological Markers and Guided Therapy* 4(1): 39–48. <https://doi.org/10.12988/bmgt.2017.735>

435. Youn HJ, Kim HS, Jeon MH, Lee JH, Seo YJ, Lee YJ, Lee JH (2005) Induction of caspase-independent apoptosis in H9c2 cardiomyocytes by adriamycin treatment. *Molecular and cellular biochemistry* 270(1):13–19. <https://doi.org/10.1007/s11010-005-2541-2>

436. Gilleron M, Marechal X, Montaigne D, Franczak J, Neviere R, Lancel S (2009) NADPH oxidases participate to doxorubicin-induced cardiac myocyte apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 388(4): 727–731. <https://doi.org/10.1002/ejhf.2115>

437. Nicol M, Sadoune M, Polidano E, Launay JM, Samuel JL, Azibani F (2021) Doxorubicin-induced and trastuzumab-induced cardiotoxicity in mice is not prevented by metoprolol *ESC Heart Failure*, Published online in Wiley Online Library 8(2): 928–937. <https://doi.org/10.1002/ehf2.13198>

438. Liu B, Li H, Qu H, Sun B (2006) Nitric oxide synthase expressions in ADR-induced cardiomyopathy in rats. *BMB Reports* 39(6): 759–765. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2006.39.6.759>

439. Bak PG, Belenichev IF, Kucherenko LI, Abramov AV, Khromylova OV (2021) Morpho-functional indicators changes of rats' myocardium in experimental doxorubicin-induced chronic heart failure and its pharmacological modulation with new 4-amino-1,2,4-triazole derivative. *Pharmacia* 68(4): 919–925. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.68.e75298>

440. Altoama K, Mallem MY, Thorin C, Betti E, Desfontis JC, Effect of nebivolol treatment during pregnancy on fetal growth, mortality and pup postnatal development in the l-NAME-induced hyper-tensive rats. *Eur J Pharmacol.*, 2016; 791: 465-472. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.09.028>

441. Bank AJ, Kelly AS, Thelen AM, Kaiser DR, Gonzalez-Campoy JM, Effects of carvedilol *versus* metoprolol on endothelial function and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Amer J Hyperten.*, 2007; 20(7): 777-783. <https://doi.org/10.1016/j.amjhyper.2007.01.019>
442. Bell DS, Bakris GL, McGill JB, Comparison of carvedilol and metoprolol on serum lipid concentration in diabetic hypertensive patients. *Diab Obes Metab.*, 2009; 11(3): 234-238. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2008.00927.x>
443. Brixius K, Song Q, Malick A, Boelck B, Addicks K, Bloch W, Mehlhorn U, Schwinger R H G, ENOS is not activated by nebivolol in human failing myocardium. *Life Sci.*, 2006; 79(13): 1234-1241. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.03.030>
444. Daiber A, Xia N, Steven S, Oelze M, Hanf A, Kröller-Schön S, Münzel T, Li H, New Therapeutic implications of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) function/dysfunction in cardiovascular disease. *Int J Molec Sci.*, 2019; 20: 187. <https://doi.org/10.3390/ijms20010187>
445. Di Lenarda A, Remme WJ, Charlesworth A, Cleland JG, Lutiger B, Metra M, Komajda M, Torp-Pedersen C, Scherhag A, Swedberg K, Poole-Wilson PA, Exchange of beta-blockers in heart failure patients. Experiences from the poststudy phase of COMET (the Carvedilol or Metoprolol European Trial). *Eur J Heart Fail.*, 2005; 7(4): 640-649. <https://doi.org/10.1016/j.ejheart.2004.09.010>
446. Goncharov O, Belenichev I, Abramov A, Popazova O, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Pavliuk I, Influence of experimental heart failure therapy with different generations of β -adrenergic blockers on Cardiac Electrical Activity (ECG) and Autonomic Regulation of Heart Rhythm (ARHR). *Pharmacia*, 2023; 70(4): 1157-1165. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e110924>
447. Hassan MI, Ali FE, Shalkami AS, Role of TLR-4/IL-6/TNF- α , COX-II and eNOS/iNOS pathways in the impact of carvedilol against hepatic ischemia reperfusion injury. *Hum Exp Toxicol.*, 2021; 40(8): 1362-1373. <https://doi.org/10.1177/0960327121999442>

448. Heeba GH, El-Hanafy AA, Nebivolol regulates eNOS and iNOS expressions and alleviates oxidative stress in cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *Life Sci.*, 2012; 90(11-12): 388-95. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2011.12.001>
449. Jalinowski L, Dobrucki LW, Szczepanska-Konkel M, Jankowski M, Martyniec L, Angielski S, Malinski T, Third-generation beta-blockers stimulate nitric oxide release from endothelial cells through ATP efflux: a novel mechanism for antihypertensive action. *Circulation*, 2003; 107(21): 2747-2752. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000066912.58385.DE>
450. Liu M, López de Juan Abad B, Cheng K, Cardiac fibrosis: Myofibroblast-mediated pathological regulation and drug delivery strategies. *Adv Drug Deliv Rev.*, 2021; 173: 504-519. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.03.021>
451. Münzel T, Gori T, Nebivolol: the somewhat-different beta-adrenergic receptor blocker. *J Am Coll Cardiol.*, 2009; 54(16): 1491-1499. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.05.066>
452. Nasir M, Sharif A, Anjum I, Ur Rehman Z, Role of nitric oxide, IL-6, TNF- α and prostaglandins in hepatoprotective effect of *Illicium verum* essential oil. *Farmacía*, 2023; 71(2): 338-344.
453. Oelze M, Kroller-Schon S, Steven S, Lubos E, Doppler C, Hausding M, Tobias S, Brochhausen C, Li H, Torzewski M, Nitric oxide synthase and vascular dysfunction in aging. *Hypertension*, 2014; 63: 390-396.
454. Ozbilen S, Eren MA, Turan MN, Sabuncu T, The impact of carvedilol and metoprolol on serum lipid hyperthyroidism. *Endocr Res.*, 2012; 37(3): 117-123. <https://doi.org/10.3109/07435800.2011.643436>
455. Refaie MMM, El-Hussieny M, Bayoumi AMA, Shehata S, Mechanisms mediating the cardioprotective effect of carvedilol in cadmium induced cardiotoxicity. Role of eNOS and HO1/Nrf2 pathway. *Environ Toxicol Pharmacol.*, 2019; 70: 103198. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103198>
456. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, Bravata DM, Dai S, Ford ES, Fox CS, Fullerton HJ, Gillespie C, Hailpern SM, Heit JA, Howard VJ, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Makuc DM,

- Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, Moy CS, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Soliman EZ, Sorlie PD, Sotoodehnia N, Turan TN, Virani SS, Wong ND, Woo D, Turner MB, American Heart Subcommittee. Heart disease and stroke statistics-2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 2012; 125(1): 2-220. <https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e31823ac046>
457. Siani A, Tirelli N, Myofibroblast differentiation: main features, biomedical relevance, and the role of reactive oxygen species. *Antiox Redox Signal.*, 2014; 21(5): 768-785. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.572>
458. Stefanov AV, Preclinical studies of drugs (The Recommendations of the State Expert Centre of the Ministry of Health of Ukraine). *Avicena: Kyiv, Ukraine*, 2002; 568.
459. Cocco, T.; Cutecchia, G.; Montedoro, G.; Lorusso, M. The Antihypertensive Drug Carvedilol Inhibits the Activity of Mitochondrial NADH-Ubiquinone Oxidoreductase. *J. Bioenerg. Biomembr.* **2002**, 34, 251–258. <https://doi.org/10.1023/a:1020248300766>
460. Xie, S.; Xu, S.C.; Deng,W.; Tang, Q. Metabolic Landscape in Cardiac Aging: Insights into Molecular Biology and Therapeutic Implications. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2023**, 8, 114. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01378-8>
461. Nielsen, T.T.; Støttrup, N.B.; Løfgren, B.; Bøtker, H.E. Metabolic Fingerprint of Ischaemic Cardioprotection: Importance of the Malate–Aspartate Shuttle. *Cardiovasc. Res.* **2011**, 91, 382–391. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvr051>
462. Lu, M.; Zhou, L.; Stanley,W.C.; Cabrera, M.E.; Saidel, G.M.; Yu, X. Role of the Malate-Aspartate Shuttle on the Metabolic Response to Myocardial Ischemia. *J. Theor. Biol.* **2008**, 254, 466–475. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.05.033>
463. Kiyuna, L.A.; Albuquerque, R.P.E.; Chen, C.H.; Mochly-Rosen, D.; Ferreira, J.C.B. Targeting Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in Heart Failure: Challenges and Opportunities. *Free Radic. Biol. Med.* **2018**, 129, 155–168. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.019>
- 464 Zong, Y.; Li, H.; Liao, P.; Chen, L.; Pan, Y.; Zheng, Y.; Zhang, C.; Liu, D.; Zheng, M.; Gao, J. Mitochondrial Dysfunction: Mechanisms and Advances in Therapy. *Sig Transduct. Target Ther.* **2024**, 9, 124. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01839-8>

465. Nguyen, B.Y.; Ruiz-Velasco, A.; Bui, T.; Collins, L.; Wang, X.; Liu, W. Mitochondrial Function in the Heart: Insight into Mechanisms and Therapeutic Potentials. *Br. J. Pharmacol.* **2019**, *176*, 4302–4318 <https://doi.org/10.1111/bph.14431>
466. Rosca, M.G.; Tandler, B.; Hoppel, C.L. Mitochondria in Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. *J. Mol. Cell Cardiol.* **2013**, *55*, 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.09.002>
467. Bedi, K.C., Jr.; Snyder, N.W.; Brandimarto, J.; Aziz, M.; Mesaros, C.; Worth, A.J.; Wang, L.L.; Javaheri, A.; Blair, I.A.; Margulies, K.B.; et al. Evidence for Intramyocardial Disruption of Lipid Metabolism and Increased Myocardial Ketone Utilization in Advanced Human Heart Failure. *Circulation.* **2016**, *133*, 706–716. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017545>
468. Huss, J.M.; Kelly, D.P. Mitochondrial Energy Metabolism in Heart Failure: A Question of Balance. *J. Clin. Investig.* **2005**, *115*, 547–555. <https://doi.org/10.1172/JCI24405>
469. Masuda, D.; Nakanishi, I.; Ohkubo, K.; Ito, H.; Matsumoto, K.-i.; Ichikawa, H.; Chatatikun, M.; Klangbud, W.K.; Kotepui, M.; Imai, M.; et al. Mitochondria Play Essential Roles in Intracellular Protection against Oxidative Stress—Which Molecules among the ROS Generated in the Mitochondria Can Escape the Mitochondria and Contribute to Signal Activation in Cytosol? *Biomolecules* **2024**, *14*, 128. <https://doi.org/10.3390/biom14010128>
470. Jain, M.; Rivera, S.; Monclus, E.A.; Synenki, L.; Zirk, A.; Eisenbart, J.; Feghali-Bostwick, C.; Mutlu, G.M.; Budinger, G.R.; Chandel, N.S. Mitochondrial Reactive Oxygen Species Regulate Transforming Growth Factor- β Signaling. *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 770–777. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.431973>
471. Almannai, M.; El-Hattab, A.W. Nitric Oxide Deficiency in Mitochondrial Disorders: The Utility of Arginine and Citrulline. *Front. Mol. Neurosci.* **2021**, *14*, 682780. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.682780>
472. Litvinova, L.; Atochin, D.N.; Fattakhov, N.; Vasilenko, M.; Zatolokin, P.; Kirienkova, E. Nitric Oxide and Mitochondria in Metabolic Syndrome. *Front. Physiol.* **2015**, *6*, 20. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00020>

473. Sgobbo, P.; Pacelli, C.; Grattagliano, I.; Villani, G.; Cocco, T. Carvedilol Inhibits Mitochondrial Complex I and Induces Resistance to H₂O₂-Mediated Oxidative Insult in H9C2 Myocardial Cells. *Biochim. Biophys. Acta* **2007**, *1767*, 222–232. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.01.023>
474. Santos, D.L.; Moreno, A.J.; Leino, R.L.; Froberg, M.K.; Wallace, K.B. Carvedilol Protects Against Doxorubicin-Induced Mitochondrial Cardiomyopathy. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2002**, *185*, 218–227. <https://doi.org/10.1006/taap.2002.9532>
475. Oliveira, P.J.; Marques, M.P.; Batista de Carvalho, L.A.; Moreno, A.J. Effects of Carvedilol on Isolated Heart Mitochondria: Evidence for a Protonophoretic Mechanism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *276*, 82–87. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3374>
476. Diogo, C.V.; Deus, C.M.; Lebedzinska-Arciszewska, M.; Wojtala, A.; Wieckowski, M.R.; Oliveira, P.J. Carvedilol and Antioxidant Proteins in a Type I Diabetes Animal Model. *Eur. J. Clin. Investig.* **2017**, *47*, 19–29. <https://doi.org/10.1111/eci.12696>
477. Zhu, B.Q.; Simonis, U.; Cecchini, G.; Zhou, H.Z.; Li, L.; Teerlink, J.R.; Karliner, J.S. Comparison of Pyrroloquinoline Quinone and/or Metoprolol on Myocardial Infarct Size and Mitochondrial Damage in a Rat Model of Ischemia/Reperfusion Injury. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* **2006**, *11*, 119–128. <https://doi.org/10.1177/1074248406288757>
478. Power, A.S.; Norman, R.; Jones, T.L.M.; Hickey, A.J.; Ward, M.L. Mitochondrial Function Remains Impaired in the Hypertrophied Right Ventricle of Pulmonary Hypertensive Rats Following Short Duration Metoprolol Treatment. *PLoS ONE*. **2019**, *14*, 0214740. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214740>
479. Wang, P.; Zaragoza, C.; Holman, W. Sodium-Hydrogen Exchange Inhibition and Beta-Blockade Additively Decrease Infarct Size. *Ann. Thorac. Surg.* **2007**, *83*, 1121–1127. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2006.10.039>
480. Omerovic, E.; Bollano, E.; Soussi, B.; Waagstein, F. Selective Beta1-Blockade Attenuates Post-Infarct Remodelling Without Improvement in Myocardial Energy Metabolism and Function in Rats with Heart Failure. *Eur. J. Heart Fail.* **2003**, *5*, 725–732. [https://doi.org/10.1016/S1388-9842\(03\)00153-3](https://doi.org/10.1016/S1388-9842(03)00153-3)

481. Metra, M.; Nodari, S.; Bordonali, T.; Milani, P.; Lombardi, C.; Bugatti, S.; Fontanella, B.; Verzura, G.; Danesi, R.; Dei Cas, L. Bisoprolol in the Treatment of Chronic Heart Failure: From Pathophysiology to Clinical Pharmacology and Trial Results. *Ther. Clin. Risk Manag.* **2007**, *3*, 569–578.
482. Laser, A.; Neubauer, S.; Tian, R.; Hu, K.; Gaudron, P.; Ingwall, J.S.; Ertl, G. Long-Term Beta-Blocker Treatment Prevents Chronic Creatine Kinase and Lactate Dehydrogenase System Changes in Rat Hearts After Myocardial Infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* **1996**, *27*, 487–493. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(95\)00458-0](https://doi.org/10.1016/0735-1097(95)00458-0)
483. Ichihara, S.; Yamada, Y.; Ichihara, G.; Kanazawa, H.; Hashimoto, K.; Kato, Y.; Matsushita, A.; Oikawa, S.; Yokota, M.; Iwase, M. Attenuation of Oxidative Stress and Cardiac Dysfunction by Bisoprolol in an Animal Model of Dilated Cardiomyopathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2006**, *350*, 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.09.026>
484. Nuevo-Tapióles, C.; Santacatterina, F.; Stamatakis, K.; Núñez de Arenas, C.; Gómez de Cedrón, M.; Formentini, L.; Cuezva, J.M. Coordinate β -Adrenergic Inhibition of Mitochondrial Activity and Angiogenesis Arrest Tumor Growth. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 3606. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17384-1>
485. Seleme, V.B.; Marques, G.L.; Mendes, A.E.M.; Rotta, I.; Pereira, M.; Júnior, E.L.; da Cunha, C.L.P. Nebivolol for the Treatment of Essential Systemic Arterial Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am. J. Cardiovasc. Drugs* **2021**, *21*, 165–180. <https://doi.org/10.1007/s40256-020-00422-0>
486. Bhadri, N.; Razdan, R.; Goswami, S.K. Nebivolol, a β -Blocker Abrogates Streptozotocin-Induced Behavioral, Biochemical, and Neurophysiological Deficit by Attenuating Oxidative-Nitrosative Stress: A Possible Target for the Prevention of Diabetic Neuropathy. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **2018**, *391*, 207–217. <https://doi.org/10.1007/s00210-017-1450-8>
487. Gul, R.; Alsalman, N.; Bazighifan, A.; Alfadda, A.A. Comparative Beneficial Effects of Nebivolol and Nebivolol/Valsartan Combination Against Mitochondrial Dysfunction in Angiotensin II-Induced Pathology in H9c2 Cardiomyoblasts. *J. Pharm. Pharmacol.* **2021**, *73*, 1520–1529. <https://doi.org/10.1093/jpp/rgab124>

488. Chen, Q.; Jiang, H.; Wang, Z.; Cai, L.Y.; Jiang, Y.C.; Xie, L.; Zhou, Y.; Zeng, X.; Ji, N.; Shen, Y.Q.; et al. Adrenergic Blockade by Nebivolol to Suppress Oral Squamous Cell Carcinoma Growth via Endoplasmic Reticulum Stress and Mitochondria Dysfunction. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 691998. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.691998>
489. Bet, iu, A.M.; Noveanu, L.; Hâncu, I.M.; Lascu, A.; Petrescu, L.; Maack, C.; Elmér, E.; Muntean, D.M. Mitochondrial Effects of Common Cardiovascular Medications: The Good, the Bad, and the Mixed. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 13653. <https://doi.org/10.3390/ijms232113653>
490. Cosentino, F.; Bonetti, S.; Rudolf, R.; Eto, M.; Werner-Felmayer, G.; Volpe, M.; Lüscher, T.F. Nitric-Oxide-Mediated Relaxations in Salt-Induced Hypertension: Effect of Chronic α_1 -Selective Receptor Blockade. *J. Hypertens.* **2002**, *20*, 421–428. https://journals.lww.com/jhypertension/abstract/2002/03000/nitric_oxide_mediated_relaxations_in_salt_induced.17.aspx

ДОДАТОК А



ЗАТВЕРЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботи та навчальної роботи та якості
освіти Запорізького державного медико-
фармацевтичного університету
Світлана Моргунцова
«10» жовтня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі у наукову роботу та навчальний процес

1. Назва пропозиції для впровадження:

Лабораторний скринінг біологічних ефектів β -адреноблокаторів різних поколінь при хронічній серцевій недостатності

2. Установа, її адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, бульв. Марії Примаченко, 26, аспірант Гончаров Олексій Валентинович, д. біол. н., професор Беленічев Ігор Федорович.

3. Джерела інформації:

- Belenichev I, Goncharov O, Bukhtiyarova N, Kuchkovskyi O, Ryzhenko V, Makyeyeva L, Oksenysh V, Kamyshnyi O. Beta-Blockers of Different Generations: Features of Influence on the Disturbances of Myocardial Energy Metabolism in Doxorubicin-Induced Chronic Heart Failure in Rats. *Biomedicines*. 2024 Aug 28;12(9):1957. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12091957>
- Goncharov O, Belenichev I, Abramov A, Popazova O, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Pavliuk I (2023) Influence of experimental heart failure therapy with different generations of β -adrenergic blockers on Cardiac Electrical Activity (ECG) and Autonomic Regulation of Heart Rhythm (ARHR). *Pharmacia* 70(4): 1157-1165. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e110924>
- I. Belenichev, O. Goncharov, A. Abramov, L. Kucherenko, N. Bukhtiyarova, L. Makyeyeva, V. Ryzhenko, D. Semenov. The state of the myocardial nitrooxidergic system during modelling of doxorubicin-induced chronic heart failure and the administration of β -blockers of various generations // *Farmacia*. - 2024. - Vol. 72, N 5. - P. 1048-1058. - <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.5.7>

4. Де і коли впроваджено: у освітньо-науковий процес кафедри клінічної лабораторної діагностики та біологічної хімії (навчальна дисципліна «Моніторинг лікарських засобів») Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, Обговорено та затверджено на засіданні кафедри клінічної лабораторної діагностики та біологічної хімії ЗДМФУ (протокол № 3// від 14 .10.2025 року.

5. Результат впровадження: отримана інформація поглиблює знання про зміни молекулярних та біохімічних маркерів системи NO при хронічній серцевій недостатності при застосуванні β -адреноблокаторів різних поколінь

6. Зауваження та пропозиції: немає

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри клінічної лабораторної діагностики та біологічної хімії,
професор

Сергій ПАВЛОВ



«ЗАТВЕРЖУЮ»

Директор ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України

д.б.н. Ядловський ОС

16 жовтня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу

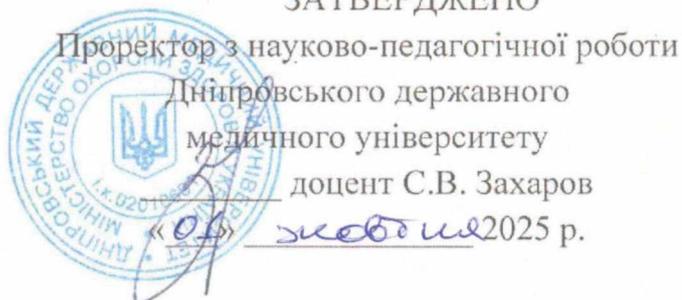
1. **Назва пропозиції для впровадження:** Аналіз метаболітотропної дії β -адреноблокаторів різних поколінь при хронічній серцевій недостатності
2. **Установа, її адреса, виконавці:** Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, бульв. Марії Примаченко, 26, аспірант Гончаров Олексій Валентинович, д. біол. н., професор Беленічев Ігор Федорович.
3. **Джерела інформації:**
 - Belenichev I, Goncharov O, Bukhtiyarova N, Kuchkovskiy O, Ryzhenko V, Makyeyeva L, Oksenyuch V, Kamyshnyi O. Beta-Blockers of Different Generations: Features of Influence on the Disturbances of Myocardial Energy Metabolism in Doxorubicin-Induced Chronic Heart Failure in Rats. Biomedicines. 2024 Aug 28;12(9):1957. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12091957>
 - Goncharov O, Belenichev I, Abramov A, Popazova O, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Pavliuk I (2023) Influence of experimental heart failure therapy with different generations of β -adrenergic blockers on Cardiac Electrical Activity (ECG) and Autonomic Regulation of Heart Rhythm (ARHR). Pharmacia 70(4): 1157-1165. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e110924>
 - I. Belenichev, O. Goncharov, A. Abramov, L. Kucherenko, N. Bukhtiyarova, L. Makyeyeva, V. Ryzhenko, D. Semenov. The state of the myocardial nitrooxidergic system during modelling of doxorubicin-induced chronic heart failure and the administration of β -blockers of various generations / // Farmacia. - 2024. - Vol. 72, N 5. - P. 1048-1058. - <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.5.7>
4. **Де і коли впроваджено:** у науковий процес на засіданні відділу Медичної хімії протокол № 3 від «5» листопада 2025 року.
5. **Результат впровадження:** отримана інформації сприяє поглибленню знань про створення нових лікарських засобів з β -адреноблокуючий та NO-міметичної дією серед похідних 1,2,4-тріазолу.
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

В.о. зав. відділом Медичної хімії

Зінаїда СУВОРОВА

ЗАТВЕРДЖЕНО



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та навчальний процес

1. Назва пропозиції для впровадження: Аналіз метаболітотропної дії β -адреноблокаторів різних поколінь при хронічній серцевій недостатності

2. Установа, її адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, бульв. Марії Примаченко, 26, аспірант Гончаров Олександр Валентинович, д. біол. н., професор Беленічев Ігор Федорович.

3. Джерела інформації:

- Belenichev I, Goncharov O, Bukhtiyarova N, Kuchkovskiy O, Ryzhenko V, Makyeyeva L, Oksenyuch V, Kamyshnyi O. Beta-Blockers of Different Generations: Features of Influence on the Disturbances of Myocardial Energy Metabolism in Doxorubicin-Induced Chronic Heart Failure in Rats. Biomedicines. 2024 Aug 28;12(9):1957. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12091957>

- Goncharov O, Belenichev I, Abramov A, Popazova O, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Pavliuk I (2023) Influence of experimental heart failure therapy with different generations of β -adrenergic blockers on Cardiac Electrical Activity (ECG) and Autonomic Regulation of Heart Rhythm (ARHR). Pharmacia 70(4): 1157-1165. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e110924>

- I. Belenichev, O. Goncharov, A. Abramov, L. Kucherenko, N. Bukhtiyarova, L. Makyeyeva, V. Ryzhenko, D. Semenov. The state of the myocardial nitrooxidergic system during modelling of doxorubicin-induced chronic heart failure and the administration of β -blockers of various generations // Farmacia. - 2024. - Vol. 72, N 5. - P. 1048-1058. - <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.5.7>

4. Де і коли впроваджено: у освітньо-науковий процес кафедри фармакології, загальної та клінічної фармації (протокол № 2 від «30» вересня 2025 року).

5. Результат впровадження: отримана інформації сприяє поглибленню знань про вплив β -адреноблокаторів різних поколінь на енергетичний метаболізм міокарду при хронічній серцевій недостатності

6. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології,
загальної та клінічної фармації
Дніпровського державного медичного університету
к.фарм.н., доцент


А.Е. Левих



ЗАТВЕРДЖУЮ

Професор ЗВО з науково-педагогічної та
 виконавчої роботи
 Національного медичного університету ім. М.І. Пирогова
 д. мед. н., проф. Василь ПОГОРІЛНИЙ

«09» червня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та навчальний процес

1. Назва пропозиції для впровадження:

Аналіз метаболітоготної дії β -адреноблокаторів різних поколінь при хронічній серцевій недостатності

2. Установа, її адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, бульв. Марії Примаченко, 26, аспірант Гончаров Олександр Валентинович, д. біол. н., професор Біленічев Ігор Федорович.

3. Джерела інформації:

- Belenichev I, Goncharov O, Bukhtiyarova N, Kuchkovskyi O, Ryzhenko V, Makyeyeva L, Oksenyuk V, Kamyshnyi O. Beta-Blockers of Different Generations: Features of Influence on the Disturbances of Myocardial Energy Metabolism in Doxorubicin-Induced Chronic Heart Failure in Rats. *Biomedicines*. 2024 Aug 28;12(9):1957. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12091957>
- Goncharov O, Belenichev I, Abramov A, Popazova O, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Pavliuk I (2023) Influence of experimental heart failure therapy with different generations of β -adrenergic blockers on Cardiac Electrical Activity (ECG) and Autonomic Regulation of Heart Rhythm (ARHR). *Pharmacia* 70(4): 1157-1165. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e110924>
- I. Belenichev, O. Goncharov, A. Abramov, L. Kucherenko, N. Bukhtiyarova, L. Makyeyeva, V. Ryzhenko, D. Semenov. The state of the myocardial nitrooxidergic system during modelling of doxorubicin-induced chronic heart failure and the administration of β -blockers of various generations // *Farmacia*. - 2024. - Vol. 72. N 5. - P. 1048-1058. - <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.5.7>

4. Де і коли впроваджено: у освітньо-науковій процес кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри, протокол № 12 від «06» червня 2025 року.

5. Результат впровадження: отримана інформація поглиблює знання про деякі механізми дії β -адреноблокаторів.

6. Зауваження та пропозиції: не вносились.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри фармакології

ВНМУ ім. М.І. Пирогова

д. мед. н., професор

Наталія ВОЛОЩУК



ЗАТВЕРЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи та навчальної роботи та якості освіти Запорізького державного медико-фармацевтичного університету

Світлана Моргунцова

» листопада 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі у наукову роботу та навчальний процес

1. Назва пропозиції для впровадження:

Аналіз метаболіто-тропної дії β -адреноблокаторів різних поколінь при хронічній серцевій недостатності

2. Установа, її адреса, виконавці: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Запоріжжя, бульв. Марії Примаченко, 26, аспірант Гончаров Олексій Валентинович, д. біол. н., професор Беленічев Ігор Федорович.

3. Джерела інформації:

- Belenichev I, Goncharov O, Bukhtiyarova N, Kuchkovskiy O, Ryzhenko V, Makyeyeva L, Oksenysh V, Kamyshnyi O. Beta-Blockers of Different Generations: Features of Influence on the Disturbances of Myocardial Energy Metabolism in Doxorubicin-Induced Chronic Heart Failure in Rats. *Biomedicines*. 2024 Aug 28;12(9):1957. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12091957>
- Goncharov O, Belenichev I, Abramov A, Popazova O, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Pavliuk I (2023) Influence of experimental heart failure therapy with different generations of β -adrenergic blockers on Cardiac Electrical Activity (ECG) and Autonomic Regulation of Heart Rhythm (ARHR). *Pharmacia* 70(4): 1157-1165. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e110924>
- I. Belenichev, O. Goncharov, A. Abramov, L. Kucherenko, N. Bukhtiyarova, L. Makyeyeva, V. Ryzhenko, D. Semenov. The state of the myocardial nitrooxidergic system during modelling of doxorubicin-induced chronic heart failure and the administration of beta-blockers of various generations // *Farmacia*. - 2024. - Vol. 72, N 5. - P. 1048-1058. - <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.5.7>

4. Де і коли впроваджено: у освітньо-науковий процес кафедри фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри (протокол № 6 від 30 жовтня 2025 року).

5. Результат впровадження: отримана інформація поглиблює знання про розробку нових β -адреноблокаторів серед похідних 1,2,4-тріазолу для лікування хронічної серцевої недостатності.

6. Зауваження та пропозиції: немає

Відповідальний за впровадження: доцент кафедри фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії, Наталія Дерев'янка

10 листопада 2025 року

Людмила КУЧЕРЕНКО

ДОДАТОК Б

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ

ДИСЕРТАЦІЇ

1. Belenichev I, Goncharov O, Bukhtiyarova N, Kuchkovskyi O, Ryzhenko V, Maquyeyeva L, Oksenyich V, Kamyshnyi O. Beta-Blockers of Different Generations: Features of Influence on the Disturbances of Myocardial Energy Metabolism in Doxorubicin-Induced Chronic Heart Failure in Rats. *Biomedicines*. 2024 Aug 28;12(9):1957. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12091957> (Беленічев І.Ф. - концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Гончаров О.В. - концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, проведення дослідження, збір та компонування даних; Бухтіярова Н.В. - проведення дослідження, критичний перегляд статті; Кучковський О.М. - проведення дослідження, збір та компонування даних, критичний перегляд статті; Риженко В.П. - збір та компонування даних, критичний перегляд статті; Макєєва Л.В. - критичний перегляд статті; Оксеніч В. - критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Камішиний О.М. - критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті).

2. Goncharov O, Belenichev I, Abramov A, Popazova O, Kucherenko L, Bukhtiyarova N, Pavliuk I (2023) Influence of experimental heart failure therapy with different generations of β -adrenergic blockers on Cardiac Electrical Activity (ECG) and Autonomic Regulation of Heart Rhythm (ARHR). *Pharmacia* 70(4): 1157-1165. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e110924> (Гончаров О.В. - брав участь у проведенні літературного пошуку, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті; Беленічев І.Ф. - концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Абрамов А.В. - критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Попазова О.О. - збір та компонування даних; Кучеренко Л.І. - критичний перегляд статті; Бухтіярова Н.В. - критичний перегляд статті; Павлюк І.В. - критичний перегляд статті).

3. I. Belenichev, O. Goncharov, A. Abramov, L. Kucherenko, N. Bukhtiyarova, L. Maquyeyeva, V. Ryzhenko, D. Semenov. The state of the myocardial nitrooxidergic

system during modelling of doxorubicin-induced chronic heart failure and the administration of β -blockers of various generations // *Farmacia*. - 2024. - Vol. 72, N 5. - P. 1048-1058. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.5.7> (Беленічев І.Ф. - концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Гончаров О.В. - проведення експериментальних досліджень, обробка одержаних результатів, написання та оформлення статті; Абрамов А.В. - критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Кучеренко Л.І. - критичний перегляд статті; Бухтіярова Н.В. - критичний перегляд статті; Максєва Л.В. - збір та компонування даних; Риженко В.П. - збір та компонування даних; Семенов Д. - критичний перегляд статті).

4. Беленічев І.Ф., Кучеренко Л.І., Гончаров О.В., Горчакова Н.О., Борисова В.Д. Вплив нового β -адреноблокатора з NO-модулюючим ефектом «Гіпертрил» на формування дисфункції мітохондрій у міокарді SHR // Науково-практична конференція «ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ТА КЛІНІЧНІ АСПЕКТИ ФАРМАКОЛОГІЇ», 22 листопада 2022.- м. Запоріжжя. С. 49. (Беленічев І.Ф. - концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Кучеренко Л.І. - критичний перегляд статті; Гончаров О.В. - проведення експериментальних досліджень, обробка одержаних результатів, написання та оформлення статті; Горчакова Н.О. - збір та компонування даних, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті; Борисова В.Д. - критичний перегляд статті).

4. Беленічев І.Ф., Кучеренко Л.І., Гончаров О.В., Горчакова Н.О., Борисова В.Д. Вплив нового β -адреноблокатора з NO-модулюючим ефектом «Гіпертрил» на формування дисфункції мітохондрій у міокарді SHR // Науково-практична конференція «ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ТА КЛІНІЧНІ АСПЕКТИ ФАРМАКОЛОГІЇ», 22 листопада 2022.- м. Запоріжжя. С. 49. (Особистий внесок - набір матеріалу, участь у проведенні фармакологічних, біохімічних, імуноферментних досліджень та статистичної обробки результатів, написання та підготовка тез до друку, усна доповідь).

5. Гончаров О.В., Попазова О.О., Скорина Д.Ю. Порівняльна оцінка кардіопротективної дії нового потенційного препарату «Гіпертрил» та β -адреноблокаторів різних поколінь в умовах моделювання доксорубіцинової моделі

хронічної серцевої недостатності (ХСН)// 83 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СУЧАСНОЇ МЕДИЦИНИ ТА ФАРМАЦІЇ – 2023», 25-26 травня 2023 р., м. Запоріжжя, С. 82. (Особистий внесок - набір матеріалу, участь у проведенні фармакологічних, біохімічних, імуноферментних досліджень та статистичної обробки результатів, написання та підготовка тез до друку).

6. Гончаров О.В. Зміни в нітросидергічній системі міокарду щурів з доксорубіциновою хронічною серцевою недостатністю на фоні введення β -блокаторів// Науково-практична конференція «Актуальні питання сучасної медицини та фармації - 2024», 23-24 травня 2024 року. м. Запоріжжя, С. 133. (Особистий внесок - набір матеріалу, участь у проведенні фармакологічних, біохімічних, імуноферментних досліджень та статистичної обробки результатів, написання та підготовка тез до друку).

7. Гончаров О.В. , Варванський П.А., Шапаренко Л.В. Порухення енергетичного обміну міокарда при експериментальній хронічній серцевій недостатності: можлива фармакокорекція бета-блокаторами// 85 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СУЧАСНОЇ МЕДИЦИНИ ТА ФАРМАЦІЇ – 2025», 15-16 травня 2025 р., м. Запоріжжя, С. 221. (Особистий внесок - набір матеріалу, участь у проведенні фармакологічних, біохімічних, імуноферментних досліджень та статистичної обробки результатів, написання та підготовка тез до друку).

8. Aliyeva O.G., Belenichev I.F., Popazova O.O., Goncharov O.V. THE RELATIONSHIP BETWEEN CEREBRAL AND CARDIAC VASCULAR ENDOTHELIAL DISORDERS IN CARDIAC PATHOLOGY OF ISCHEMIC GENESIS// Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 95-річчю професора Андрія Костянтиновича Коломійцева «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці – 2025», 29-30 травня 2025 року. м. Київ, С. 248. (Особистий внесок - набір матеріалу, участь у проведенні фармакологічних, біохімічних досліджень та статистичної обробки результатів, написання та підготовка тез до друку).

ДОДАТОК В

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Науково-практична конференція «ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ТА КЛІНІЧНІ АСПЕКТИ ФАРМАКОЛОГІЇ», 22 листопада 2022.- м. Запоріжжя. (Публікація тез)
2. 83 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СУЧАСНОЇ МЕДИЦИНИ ТА ФАРМАЦІЇ – 2023», 25-26 травня 2023 р., м. Запоріжжя. (Публікація тез)
3. 84 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини та фармації - 2024», 23-24 травня 2024 року. м. Запоріжжя. (Публікація тез)
4. 85 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СУЧАСНОЇ МЕДИЦИНИ ТА ФАРМАЦІЇ – 2025», 15-16 травня 2025 р., м. Запоріжжя. (Публікація тез)
5. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 95-річчю професора Андрія Костянтиновича Коломійцева «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці – 2025», 29-30 травня 2025 року, м. Київ. (Публікація тез)

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 12:56:34 13.03.2026

Назва файлу з підписом: Дисертація Гончаров О.В_захист.pdf

Розмір файлу з підписом: 3.6 МБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Дисертація Гончаров О.В_захист.pdf

Розмір файлу без підпису: 3.6 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: ГОНЧАРОВ ОЛЕКСІЙ ВАЛЕНТИНОВИЧ

П.І.Б.: ГОНЧАРОВ ОЛЕКСІЙ ВАЛЕНТИНОВИЧ

Країна: Україна

РНОКПП: 2854717033

Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 13:56:34 13.03.2026

Сертифікат виданий: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК"

Серійний номер: 5E984D526F82F38F040000006E903A0164704B07

Алгоритм підпису: ДСТУ 4145

Тип підпису: Удосконалений

Тип контейнера: Підписаний PDF-файл (PAdES)

Формат підпису: З повними даними для перевірки (PAdES-B-LT)

Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2025.08.25 13:00