

Результати дослідження. Вивчення вивільнення ПГМГ-ГХ з композиту (визначення максимального часу збереження специфічної антимікробної дії) по відношенню до клінічного штаму *P. aeruginosa* 449 показало, що композит НДК+ПГМГ-ГХ проявляє виразну та проте нетривалу дію, зумовлену бактерицидним ефектом препарату, який зберігався протягом 1 доби.

Експериментально встановлено, що композит впливає на ріст і розмноження клінічного штаму синьогнійної палички. В усіх пробірках (окрім першої), які містили мішечки зі зразком композиту та тест-бактерії, через 48 год інкубації відмічався ріст тест-мікроорганізмів.

Висновки. Істотною перевагою композиту НДК+ПГМГ-ГХ перед іншими комбінованими засобами, які мають протимікробну та сорбційну активність, є здатність зберігати терапевтичну концентрацію в ураженій ділянці впродовж однієї доби. На відміну від інших протимікробних препаратів, композит НДК+ПГМГ-ГХ виявляє значну сорбційну активність, яка забезпечує постійне поглинання мікроорганізмів, їх метаболітів, продуктів розпаду тканин, що забезпечує швидке очищення рани та її загоєння.

Композит НДК+ПГМГ-ГХ має високий рівень вивільнення та виражену протимікробну активність, що дозволяє використовувати його для щоденних аплікацій при лікуванні опікових і раневих уражень шкіри.

УДК 616.831-092:616.89-008.441.3-036.12-085.272.4.014.4]-092.9

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ КАРДИОПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА В УСЛОВИЯХ АЛКОГОЛЬНОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

Супрун Э. В., Терещенко М. С., Жегунова Г. П.

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

Институт повышения квалификации специалистов фармации

Кафедра клинической фармакологии

clinpharmacol_ipksph@nuph.edu.ua

В последнее время в связи распространением алкогольной кардиомиопатии среди трудоспособного населения промышленно развитых стран актуальной потребностью является поиск новых лекарственных препаратов строго направленного действия, с учетом комплекса механизмов повреждающего действия этилового спирта на миокард. В этом отношении интерес представляет комбинированное средство L-аргинина с тиотриазолином (разработка НПО «Фарматрон»). Экспериментально доказано, что по силе кардиопротективного эффекта (влияние на уровень маркера ST2 в миокарде крыс с алкогольной кардиомиопатией) комбинированное средство L-аргинин/тиотриазолин достоверно превосходит референс-препараты Милдронат и Мексидол.

Ключевые слова: экспериментальная алкогольная кардиомиопатия, L-аргинин, тиотриазолин, милдронат, мексидол.

Вступление. Злоупотребление алкоголем является серьезной медицинской и социально-экономической проблемой. По данным Всемирной организации здравоохранения количество больных алкоголизмом в 2000-е годы достигло 140 млн [1]. В настоящее время потребление алкоголя в США снизилось, а в странах бывшего СССР и Японии возросло. Регулярное злоупотребление алкоголем приводит к развитию алкогольной кардиомиопатии (АКМП), причем данная патология является причиной развития фатального осложнения, вызывая 1/5 всех случаев внезапной сердечной смерти [2]. По данным разных авторов распространенность заболевания колеблется в пределах от 3,8 % до 40 % всех кардиомиопатий [3].

АКМП представляет собой специфическую дилатационную кардиомиопатию (МКБ-142.6), которая как по патогенезу, так и по особенностям своей клинической картины в значительной мере отличается от других наиболее распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы [4]. Это связано с тем, что в основе АКМП лежит некоронарогенное, невоспалительное моноэтиологическое алкоголь-обусловленное токсическое повреждение сердечной мышцы, тонкие механизмы которого до настоящего времени окончательно не изучены. К возможным механизмам поражения сердца при алкоголизме относятся: прямое токсическое действие этанола и его метаболита ацетальдегида на миокард, развитие электролитных нарушений и недостаточности тиамина, влияние различных веществ, добавляемых в алкоголь, активация симпатoadrenalовой системы [5]. Кроме того, существенную роль могут играть и влияние ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, цитокинов и натрийуретического пептида [4].

Несмотря на всю значимость этой проблемы, сколько-нибудь эффективной схемы терапии АКМП до настоящего времени не существует [6,7]. В настоящее время комплекс мероприятий, направленных на лечение больных с АКМП, сводится к прекращению потребления алкоголя, проведению симптоматической и общеукрепляющей терапии. Вместе с тем, учитывая, что в ее патогенезе значительную роль играет окислительный стресс, нарушения метаболизма и транспорта свободных жирных кислот, патогенетически обоснованной при этом заболевании является метаболическая терапия [8]. В комплексной терапии АКМП в качестве метаболитотропных кардиопротекторов широкое применение нашли препараты Милдронат [10] и Мексидол [11]. Однако в реальной клинической практике при назначении этих средств не всегда удается достичь адекватного клинического эффекта [12], что и определяет настоятельную необходимость поиска и создания новых лекарственных препаратов строго направленного действия, с учетом комплекса механизмов повреждающего действия этилового алкоголя на миокард. В этом отношении несомненный интерес пред-

ставляет комбинированное средство L-аргинина с тиотриазолином в оптимальной комбинации – 4:1, получивший название «Аргитрил» (разработка НПО «Фарматрон», Украина), который проявляет кардиопротективное действие при экспериментальном инфаркте миокарда.

Целью настоящего исследования явилось изучение кардиопротективного действия комбинированного лекарственного препарата L-аргинина с тиотриазолином (4:1) в сравнении с классическими метаболитотропными препаратами Милдронат, Мексидол по влиянию на морфо-функциональные характеристики кардиомиоцитов в условиях моделирования алкогольной кардиомиопатии.

Методы исследования. Эксперимент проведено на 50 белых беспородных крысах самцах массой 170-180 г., полученных из питомника Института фармакологии и токсикологии АМН Украины, которые содержались в виварии при свободном доступе к пище (стандартный гранулированный корм) и воды, при естественной смене дня и ночи. Все экспериментальные процедуры осуществляли в соответствии с «Положением об использовании животных в биомедицинских исследованиях», Общими принципами работы на животных, одобренными 1-м Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, Украина, 2001) и согласованными с положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, Франция, 1985).

АКМП вызывали внутрижелудочным введением этанола в дозе 8 г/кг в течение 90 суток. Данная модель воспроизводит структурные, функциональные и обменные нарушения миокарда, характерные для АКМП [13]. Все животные были разделены на 5 групп по 10 особей в каждой. Исследуемые препараты вводили в течение 30 суток внутрибрюшинно – предлагаемое средство (L-аргинин 100 мг/мл + тиотриазолин 25 мг/мл (4:1)) – 200 мг/кг (в пересчете на L-аргинин); Милдронат (Гриндекс, Латвия) – 250 мг/кг; Мексидол (ООО «НПК «Фармасофт», Россия) – 200 мг/кг [9]. Контрольная и интактная группы получали физиологический раствор в качестве активного контроля. По окончании исследований животных выводили из эксперимента через 2-4 мин после инъекции этаминала натрия (40 мг/кг) (до потери рефлекса выпрямления) с целью минимализации нейророметаболических нарушений. Для биохимических исследований сердце промывали охлажденным 0,15 М KCl (4°C) 1:10, а затем измельчали в жидком азоте до порошкообразного состояния и гомогенизировали в 10-кратном объеме среды при (2°C), содержащей (в ммольях): сахарозы – 250, трис-HCl-буфера – 20, ЭДТА – 1 (рН 7,4). При температуре (+4°C) методом дифференциального центрифугирования на рефрижераторной центрифуге Sigma 3-30k (Германия) выделяли цитозольную фракцию [17]. В цитозоле определяли молекулярный маркер поражения миокарда белок ST2 твердофаз-

ным иммуносорбентным сэндвич-методом ELISA по набору фирмы Critical Diagnostics Presage® ST2 Assay kit (REF#BC-1065).

Достоверность отличий между экспериментальными группами проводили при помощи непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Достоверными считали отличия с уровнем значимости более 95 % ($p < 0,05$). Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA for Windows 6.1» (StatSoft Inc., № AXX R712D833214SAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003».

Результаты исследования. В результате проведенных исследований было установлено, что на 30 сутки после 90-суточной алкоголизации у животных формируется АКМП. Гистологически выявлены деструктивные изменения кардиомиоцитов, проявляющиеся в виде фуксинофилии, анизотропии, накоплении в саркоплазме свободных липидов. Наряду с данными изменениями в миокарде обнаруживались явления пролиферации соединительнотканых элементов, очаговое ожирение миокарда и развитие выраженного периваскулярного кардиосклероза.

Особенностью формирования АКМП, в отличие от других кардиомиопатий, является алкогользависимое повреждение митохондрий миокарда, что делает митохондрию источником активных форм кислорода и проапоптотических белков, и на фоне ухудшения энергообразования (снижение АТФ) наблюдается активация оксидативного стресса, апоптоза [12,13]. Принципиально важным процессом является ремоделирование сердца. Это понятие включает в себя: нарушение структуры сократительного аппарата кардиомиоцитов, их функциональную асимметрию, изменение межклеточных взаимодействий, интерстициальный фиброз, деспирализацию хода мышечных пучков и изменение формы полостей сердца. Подтверждение этому было увеличение в цитозоле миокарда контрольных крыс (табл) концентрации белка ST2 в 3,34 раза по сравнению с группой интакта. ST2 (Suppression of tumorigenicity 2, Growth Stimulation expressed gene 2, стимулирующий фактор роста, экспрессирующийся геном 2, он же IL1RL1) – член суперсемейства рецепторов IL-1. ST2 является рецептором IL-33 [4]. ST2 – маркер фиброза и ремоделирования сердечной ткани, высвобождается кардиомиоцитами и фибробластами [4]. Повышение концентрации ST2 свидетельствует о ремоделировании сердца и сердечной недостаточности у животных с АКМП.

Введение Милдроната снижало концентрацию ST2 на 17,2 % в миокарде крыс с АКМП. Выявленный эффект препарата может быть обусловлен тем, что Милдронат, опосредованно через повышение концентрации гамма-бутиробетаина, способен влиять на регуляцию NFκB [13].

Введение Мексидола снижало концентрацию ST2 на 26,1% в миокарде крыс с АКМП. Рядом экспериментальных и клинических работ установлено, что Мексидол нормализует некоторые механизмы энергетического метаболизма при ишемии миокарда, снижает плотность апоптически измененных кардиомиоцитов, уменьшает зону некроза, улучшает сократимость миокарда [3,13].

Таблица

Концентрация белка ST2 в цитозоле миокарда крыс с АКМП

Экспериментальные группы	Концентрация ST2, нмоль/мг белка
Интактная (n=10)	1,42±0,21
Контроль (АКМП) (n=10)	4,75±0,32*
АКМП+Аргинин/тиотриазолин (4:1), 200 мг/кг (n=10)	2,71±0,16* ^{K,1,2}
АКМП+Мексидол, 200 мг/кг (n=10)	3,51±0,32* ^K
АКМП+Милдронат, 250 мг/кг (n=10)	3,93±0,42*

Примечание: * – изменения достоверны по отношению к интактным животным ($p < 0,05$); ^K – изменения достоверны по отношению к животным контрольной группы ($p < 0,05$); ¹ – изменения достоверны по отношению к группе животных, получавших милдронат ($p < 0,05$); ² – изменения достоверны по отношению к группе животных, получавших мексидол ($p < 0,05$); n – количество животных в группе.

Введение комбинированного средства L-аргинин/тиотриазолин приводило к снижению концентрации ST2 на 43% в цитозоле миокарда крыс с АКМП. По силе кардиопротективного эффекта комбинация L-аргинин/тиотриазолин достоверно превосходит референс-препарат Милдронат и Мексидол в условиях с АКМП.

Выводы:

1. Моделирование алкогольной кардиомиопатии приводит к морфологическим изменениям кардиомиоцитов у экспериментальных животных – увеличению концентрации маркера фиброза и ремоделирования сердечной ткани (белка ST2) в 3,34 раза по сравнению с группой интакта.
2. Курсовое 30-суточное внутривентральное введение животным с АКМП метаболитотропных кардиопротекторов в лечебном режиме – комбинированного средства L-аргинин/тиотриазолина (200 мг/кг), Мексидола (200 мг/кг) и Милдроната (250 мг/кг) приводило к изменению разной направленности и степени выраженности морфо-функциональных показателей кардиомиоцитов (влияние на уровень маркера ST2 в миокарде крыс с АКМП). Комбинированный лекарственный препарат L-аргинина с тиотриазолином достоверно превосходит референс-препараты Милдронат и Мексидол.

3. Полученные данные являются экспериментальным обоснованием для применения комбинированного средства L-аргинин/тиотриазолин в комплексной терапии АКМП.

Перелік використаних джерел інформації:

1. WHO to meet beverage company representatives to discuss health-related alcohol issues. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr6/en/>. Accessed by 10.12.2014.
2. Hookana E., Junttila M.J., Puurunen V.P. Causes of nonischemic sudden cardiac death in the current era. *Heart rhythm: the official journal of the Heart Rhythm Society*. 2011. Vol. 8. P. 1570-1575.
3. Бохан Н.А., Мандель А.И., Максименко Н.Н., Михалева Л.Д. Смертельные исходы при алкогольной зависимости. *Наркология*. 2007; 12: 37–40.
4. Моисеев В.С., Шелепин А.А. Алкоголь и болезни сердца: руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2009. 235 с.
5. Aberle N.S., Burd L., Zhao B.H. Acetaldehyde-induced cardiac contractile dysfunction may be alleviated by vitamin B1 but not by vitamins B6 or B12. *Alcohol & Alcoholism*. 2014. Vol. 39, № 5. P. 450-454.
6. Piano M.R., Phillips Sh.A. Alcoholic cardiomyopathy: Pathophysiologic insight. *Cardiovasc. Toxicol*. 2014; 14: 4: 291–308.
7. Драпкина О., Ашихмин Я., Ивашкин В. Проблема алкогольной кардиомиопатии. *Врач*. 2005. № 8. С. 48-50.
8. Рябенко Д.В., Корниенко Т.М. Алкогольная кардиомиопатия. *Український кардіологічний журнал*. 2010; 4: 91–97.
9. Беленичев И.Ф., Черний В.И., Нагорна Е.А., Павлов С.В., Бухтиярова Н.В. Нейропротекция и нейропластичность: Монография Киев: Логос, 2015. 512 с.
10. Kalvinsh I.Ya. Mildronate: mode of action and prospects of its application. Riga, 2012. 132 p.
11. Александров А.А. Выявление расстройств, вызванных употреблением алкоголя, в общемедицинской практике. *Медицина*. 2007. № 1 (56). С. 12-15.
12. Драпкина О.М. Проблема алкогольной кардиомиопатии. Эффективная фармакотерапия в кардиологии и ангиологии. 2008; 1: 30–34.
13. Lieber Charles S. *Medical and Nutritional Complications of Alcoholism: Mechanisms and Management*. Springer, N.Y., 1992. 677 p.
14. Чекман И.С., Беленичев И.Ф., Нагорная Е.А., Бухтиярова Н.В., Кучеренко Л.И. Доклиническое изучение специфической активности эндотелиопротективных препаратов. Методические рекомендации ГЭЦ МЗ Украины. Киев, 2014. 60 с.

15. Chekman I.S., Belenichev I.F., Yakovleva I.Yu., Gorchakova N.A., Bukhtiyarova N.V. Influence of mexidol on early genomic response and morphofunctional parameters of the brain cortex sensorimotor zone neurons after arteria carotis communis occlusion. *Oxid Antioxid Med Sci*. 2015. Vol. 4, № 1. P. 1-6.
16. Топорков А.С., Топчий Н.В. Возможности применения Тиотриазолина в качестве средства метаболической терапии // *Русский медицинский журнал*. 2015. Т. 23. №15. С. 890–894.

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ КАРДІОПРОТЕКТИВНОЇ
АКТИВНОСТІ КОМБІНОВАНОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ
В УМОВАХ АЛКОГОЛЬНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ**

Супрун Е. В., Терещенко М. С., Жегунова Г. П.

Останнім часом у зв'язку з поширенням алкогольної кардіоміопатії серед працездатного населення промислово розвинених країн актуальною потребою є пошук нових лікарських препаратів строго спрямованої дії, з урахуванням комплексу механізмів ушкоджуючої дії етилового алкоголю на міокард. У цьому відношенні інтерес представляє комбінований засіб L-аргініну з тіотриазоліном (розробка НВО «Фарматрон»). Експериментально доведено, що за силою кардіопротективного ефекту (вплив на показники площі і щільності ядер кардіоміоцитів; концентрацію РНК в ядрах і в цитоплазмі кардіоміоцитів, ядерно-цитоплазматичний коефіцієнт) комбінований засіб L-аргінін/тіотриазолін вірогідно перевершує референс-препарати Мілдронат і Мексидол.

Ключові слова: експериментальна алкогольна кардіоміопатія, L-аргінін, тіотриазолін, мілдронат, мексидол.

**EXPERIMENTAL STUDY OF CARDIOPROTECTIVE ACTIVITY OF A
COMBINED MEDICINE IN ALCOHOLIC MYOCARDIOPATHY**

Suprun E. V., Tereshchenko M. S., Zhegunova G. P.

Recently, in connection with the spread of alcoholic cardiomyopathy among the able-bodied population of industrialized countries, an urgent need is the search for new drugs with a strictly targeted effect, taking into account the complex mechanisms of the damaging effect of ethyl alcohol on the myocardium. In this regard, the combination agent L-arginine with thiotriazolin (developed by NPO Farmatron), as well as Mildronate and Mexidol are of interest. It has been established that the combined drug L-arginine/thiotriazoline reliably exceeds the reference drugs Mildronate and Mexidol in terms of the cardioprotective effect (effect on the level of the ST2 marker in the myocardium of rats with alcoholic cardiomyopathy).

Key words: experimental alcoholic cardiomyopathy, L-arginine, thiotriazolin, mildronate, mexidol.