

КАРДІОПРОТЕКТОРНА АКТИВНІСТЬ ПОЛІФЕНОЛЬНОГО КОНЦЕНТРАТУ З НАСІННЯ ВИНОГРАДУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МІОКАРДИТУ

Загайко А.Л., Галузінська Л.В., Филімоненко В.П.
Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Як відомо, міокардити супроводжуються порушенням активації процесів ПОЛ та порушенням мембран кардіоміоцитів [4, 6, 8]. Відомо, що V_1 , V_2 -адреноміметик ізадрин збуджує β_1 -адренорецептори серцевого м'язу і зумовлює прискорення та посилення серцевих скорочень, що на тлі одночасного підвищення потреби міокарду у кисні спричиняє формування стану гіпоксичного гіпоксидозу та увімкнення механізмів вільнорадикального окиснення [3, 7,]. Тому для лікування даної патології необхідно використання препаратів з вираженою антиоксидантною та мембраностабілізуючою активностями.

Для поліфенолів показані антиоксидантна, мембраностабілізуюча, імунomodуюча, фітоестрогенна, антиатерогенна та протизапальна активності [5, 9]. Виноград культурний є відомим джерелом природних поліфенолів з високою біологічною активністю [3].

Тому метою цієї роботи було вивчення кардіопротекторної дії поліфенольного концентрату з насіння винограду на моделі ізадринового міокардиту.

Матеріали та методи. Кардіопротекторну активність поліфенольного концентрату з насіння винограду вивчали на моделі ізадринового міокардиту, спричиненого застосуванням ізадрину [1]. Для відтворення гострого токсичного ураження серцевого м'язу у щурів масою 200-210 г використовували ізадрин виробництва (ФФ «Здоров'я», м. Харків) в дозі 40 мг/кг, який вводили внутрішньом'язово. Досліджуваний поліфенольний концентрат (80 мг поліфенолів/1 л) з насіння винограду (ПКНВ), розроблений в МЧП «Рессфуд» та референс-препарат диклофенак натрію вводили щурам внутрішньошлунково протягом 4 днів. Тварин декапітували під хлоразоло-уретановим наркозом через 1 год після ін'єкції і використовували гомогенат серця та сироватку крові для подальших біохімічних досліджень.

Для оцінки ступеню uszkodження міокарду кардіотоксинами, а також кардіопротекторних властивостей поліфенольного концентрату з насіння винограду здійснювали електрокардіографічне (ЕКГ) обстеження тварин з використанням електрокардіографа ЕК1Т 03М у другому стандартному відведенні. Щурів наркотизували розчином барбіталу, який вводили внутрішньоочеревинно у дозі 7 мг/кг.

Ступінь дистрофічно-некротичного uszkodження міокарду оцінювали за показником коефіцієнту маси серця (КМС), а також активністю в сироватці крові ферментів аспартатамінотрансферази (АсАТ), лактатдегідрогенази (ЛДГ), креатинфосфокинази (КФК), які визначали за допомогою діагностичних наборів фірми «Lachema» (Чехія). Крім того, в гомогенаті тканини міокарду вивчали показники ПОЛ – ТБК-реактанти та дієнові кон'югати ДК [1].

Для відтворення експериментального міокардиту тварини були поділені на 4 групи: 1 група – інтактні тварини; 2 група – контрольна патологія; 3 група – тварини, яких лікували ПКНВ у дозі 90 мг/кг; 4 група – тварини, яких лікували диклофенаком натрію в дозі 8 мг/кг. Досліджуваний екстракт та диклофенак натрію вводили щодобово впродовж 5 днів експерименту.

З метою дослідження кардіопротекторних властивостей ПКНВ та диклофенаку натрію нами вивчались наступні показники: коефіцієнт маси серця (КМС), який свідчить про інтенсивність ексудативного процесу в серці; вміст первинних та кінцевих продуктів ПОЛ в гомогенаті серця; активність ферментів цитолізу в сироватці крові; показники ЕКГ.

Дослідження проводили відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001).

Результати та їх обговорення. Аналіз даних, які представлені в таблиці 1, показав, що виживаність щурів групи контрольної патології становила 71%, а КМС у 1,45 рази перевищував аналогічний показник тварин з групи інтактного контролю, що опосередковано свідчить про наявність запального набряку.

Таблиця 1

Вплив поліфенольного концентрату з насіння винограду та диклофенаку натрію на інтегральні показники стану білих щурів на моделі гострого ізадринного міокардиту ($M \pm m$, $n=7$)

Показник	Дослідні групи тварин			
	Інтакт	Контрольна патологія	ПКНВ, 90 мг/кг	Диклофенак натрію, 8 мг/кг
Вживаність, %	100	71	100	85
КМС, г/100 г маси тіла	0,313 \pm 0,008	0,452 \pm 0,006 *	0,367 \pm 0,006 */**	0,380 \pm 0,010 */**

Примітки:

1. * – відмінність достовірна по відношенню до інтакту ($p \leq 0,05$);
2. ** – відмінність достовірна по відношенню до контрольної патології ($p \leq 0,05$);
3. n – кількість тварин у групі.

Поряд з цим, як видно з таблиці 2, в групі щурів контрольної патології спостерігалось достовірне (до значення інтактних тварин) підвищення в гомогенаті серця в 1,7 та 1,8 рази вмісту ключових продуктів ліпопероксидації (ДК і ТБК-реактивів, відповідно). Визначені ознаки активації ПОЛ є характерними для перебудови окиснювального метаболізму серця з аеробного шляху на анаеробний в умовах тканинної гіпоксії, спричиненої тривалим впливом адренергічного засобу.

На момент завершення експерименту ензимологічні дослідження сироватки крові нелікованих тварин показали достовірну гіперферментемію АсАТ (в 1,75 рази), КФК (в 2,1 рази) та ЛДГ (в 2,1 рази), які є найбільш специфічними

маркерами порушення окиснювального метаболізму у міокарді та розвитку дистрофічно-некротичних процесів.

Таблиця 2

Вплив поліфенольного концентрату з насіння винограду та диклофенаку натрію на показники стану ПОЛ та ензимологічні показники на моделі ізадринівому міокардиту у щурів ($M \pm m$, $n=5-7$)

Показник	Дослідні групи тварин			
	Інтакт (n=7)	Контрольна патологія (n=5)	ПКНВ (n=7)	Диклофенак натрію, 8 мг/кг (n=6)
СИРОВАТКА КРОВІ				
ЛДГ, мккат/л	2,79± 0,08	6,10± 0,27*	4,07± 0,90*/**	4,84± 0,27*/**
КФК, мккат/л	0,22± 0,02	0,47± 0,04*	0,43± 0,02*	0,41± 0,03*
АсАТ, ммоль/г.л	1,55± 0,12	2,73± 0,15*	1,67± 0,11**/**	2,44± 0,06*/**
ГОМОГЕНАТ СЕРЦЯ				
ДК, мкмоль/г	4,45± 0,28	7,72± 0,41*	5,36± 0,18**/**	6,68± 0,65*
ТБК-реактанти, нмоль/г	2,79± 0,25	4,99± 0,76*	3,17± 0,22**/**	4,18± 0,40*

Примітки:

1. * – відмінність достовірна по відношенню до інтакту ($p \leq 0,05$);
2. ** – відмінність достовірна по відношенню до контрольної патології ($p \leq 0,05$);
3. *** – відмінність достовірна по відношенню до диклофенаку натрію ($p \leq 0,05$);
4. n – кількість тварин у групі.

ЕКГ-дослідження біоелектричної активності міокарду тварин з групи контрольної патології, які вижили до завершення експерименту, дозволило встановити, що частота серцевих скорочень у тварин вірогідно рідшає, тобто носить характер тахі- брадиаритмії (табл. 3).

Уповільнення серцевого ритму вважається характерною ознакою «пост-тахікардіального синдрому», який має місце після тривалої симпатикотонії. У такому стані невідповідність між споживанням кисню та потребою у ньому міокарду позначилась пригніченням процесів збудження та провідності, що електрокардіографічно підтверджувалось достовірним збільшенням тривалості шлуночкового комплексу Q-T, зростанням амплітуд зубців P і T (табл. 3). Проповільнення проведення електричного імпульсу внаслідок виснаження, насамперед, шлуночкового апарату, свідчило також вірогідне до інтакту зміщення кі-

нцевої складової шлуночкового комплексу – сегменту ST. Зазначений показник розцінюється як прояв ішемії серцевого м'язу та підкреслює ознаки перенапруження міокарду під впливом ізадрину.

Таблиця 3

Вплив поліфенольного концентрату з насіння винограду та диклофенаку натрію на показники ЕКГ на моделі гострого токсичного ізадринового міокардиту у щурів ($M \pm m$, $n=5-7$)

Показник	Дослідні групи тварин			
	Інтакт (n=7)	Контрольна патологія (n=5)	ПКНВ (n=7)	Диклофенак натрію, 8 мг/кг (n=6)
Частота серцевих скорочень, уд/хв	432,14±8,65	342±14,71*	412,85±12,04**	399,16±7,12*/**
PQ, с	0,046±0,003	0,037±0,001*	0,043±0,002	0,041±0,002
Q-T, с	0,054±0,003	0,076±0,004*	0,063±0,002*/**	0,069±0,001*/**
P, мВ	0,100±0,001	0,150±0,015*	0,110±0,012**	0,120±0,008*/**
T, мВ	0,100±0,001	0,250±0,035*	0,160±0,015*/**	0,160±0,015*/**
Зміщення ST від ізолінії, мм	0,50±0,001	1,60±0,10*	0,90±0,10*/**	1,30±0,15*/**

Примітки:

1. * – відмінність достовірна по відношенню до інтакту ($p \leq 0,05$);
2. ** – відмінність достовірна по відношенню до контрольної патології ($p \leq 0,05$);
3. n – кількість тварин у групі.

Таким чином, отримані біохімічні та електрофізіологічні дані дозволяють констатувати розвиток токсичного міокардиту у експериментальних тварин, переважаючим патогенетичним механізмом якого є порушення окиснювального метаболізму, поєднаного з активацією вільнорадикального окиснення.

При лікуванні тварин ПКНВ в дозі 90 мг/кг показник виживаності тварин зріс до 100%. Одним з проявів кардіопротекторної дії було достовірне зменшення КМС (у 1,25 рази у порівнянні з групою контрольної патології). В умовах даної патології відмічалось зниження рівня ТБК-реактивів в гомогенаті серця до рівня інтактного контролю та зменшення в 1,2 рази концентрації ДК (табл. 2).

Під впливом ПКНВ відбувалися певні зміни в енергопостачанні міокарду. Доказом вищезгаданого є достовірне до контрольної патології зменшення

активності ЛДГ в 1,5 рази. Відбувається зміцнення мембран кардіоміоцитів, що підтверджується зменшенням АсАТ в 1,6 рази. З боку показника КФК змін не спостерігалось.

Аналіз електрокардіографічних показників дозволив встановити, що введення ПКНВ сприяло прискоренню частоти серцевих скорочень практично до рівня у інтактних тварин (табл. 3). Тривалість шлуночкового комплексу (Q-T), яка свідчить про процеси провідності у міокарді, та амплітуда зубця Т, який є відображенням дієспроможності процесу реполяризації шлуночкового апарату, достовірно зменшувались. Свідченням відновлення провідності у міокарді виступала нормалізація показника PQ. Під впливом екстракту ПКНВ зменшувались амплітуда зубця Т і зміщення сегменту ST, що говорить про зникнення проявів ішемії.

Під час введення щурам диклофенаку натрію показник виживаності склав 85% (табл. 1). При біохімічному обстеженні встановлено, що у дослідних тварин концентрація продуктів ліпопереокиснення ТБК-реактантів та ДК в тканині міокарду залишалась близькою до значень аналогічних показників у тварин з контрольною патологією (табл. 2). Проявами кардіопротекторної дії диклофенаку натрію були вірогідне по відношенню до контрольної патології зниження активності ферментів ЛДГ в 1,3 рази й АсАТ в 1,2 рази, а також зменшення КМС у 1,2 рази (табл. 1 та 2).

За даними ЕКГ під впливом диклофенаку натрію достовірно підвищувалась частота серцевих скорочень, нормалізувався процес провідності міокарду, зменшувались прояви ішемії.

Висновки

Таким чином, аналіз досліджуваних показників показав, що поліфенольний концентрат з насіння винограду не поступається за ефектом диклофенаку натрію, а за деякими показниками (виживаністю, зниженням активності АсАТ, зменшенням вмісту ТБК-реактантів та ДК) навіть перевищував його. Отримані дані свідчать, що досліджений концентрат має виразну мембраностабілізуючу дію на кардіоміоцити при введенні його щурам в лікувально-профілактичному режимі при гострому міокардиті.

Література

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова – К.: Авіцена. – 2001. – 528с.
2. Стальная И.Д., Гавришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – 1977. – С. 66-68.
3. Del Rio D. Berry flavonoids and phenolics: bioavailability and evidence of protective effects / D. Del Rio, G. Borges, A. Crozier // Br. J. Nutr. – 2010. – V. 104, № 3. – P. 67–90.
4. Dohadwala M. M. Grapes and cardiovascular disease / M. M. Dohadwala, J. A. Vita // J. Nutr. – 2009. – № 139. – P. 1788–1793.

5. Gollücke A. P. Recent applications of grape polyphenols in foods, beverages and supplements / A. P. Gollücke // *Recent. Pat. Food. Nutr. Agric.* – 2010. – V. 2, № 2. – P. 105–109.
6. Lecour S. Natural polyphenols and cardioprotection. S. Lecour, K.T. Lamont . *Mini Rev Med Chem.* – 2011. – V. 11, № 14. – P. 1191–1199.
7. Verma A. K. The biological potential of flavones / A. K. Verma, R. Pratap // *Nat. Prod. Rep.* – 2010. – V. 27, № 11. – P. 1571–1593.
8. Visioli F. Polyphenols and cardiovascular disease: a critical summary of the evidence / F. Visioli, A. Davalos // *Mini Rev Med Chem.* – 2011. – V. 11, № 14. – P. 1186-1190.
9. Wu C. D. Grape products and oral health. / C. D. Wu / *J.Nutr.* – 2009. – Vol. 139, N9. – P. 1818S-1823S.