

loplasmin by $6.3\% \pm 0.41\%$, $12,66 \pm 0.83\%$ and $12,0\%$ respectively, compared to the patients who worked in healthier occupational environment. The patients with chronic bronchitis working at various places did not differ in catalase activity, but differed in the content of ceruloplasmin (the employees working in harmful conditions its content was higher by 12.0%). In chronic obstructive pulmonary disease, the effect of harmful occupational factors contributed to the activation of lipid peroxidation in the form of a significant increase in serum β -lipoprotein content by $6.45 \pm 0.63\%$, as well as increase in the level of spontaneous erythrocyte haemolysis by $20.35 \pm 1.8\%$ and malonic dialdehyde by $10.11 \pm 0.47\%$ compared to the employees working in the healthy occupational environment. Disturbance of antioxidant supply in these patients were manifested by reduced catalase activity by $20.74 \pm 1.39\%$ and increased content of ceruloplasmin, by $14, 32 \pm 0.84\%$ compared with those working in the safe environment. In general, both in chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease, the effect of occupational harmful factors has contributed to the additional activation of lipid peroxidation and the reduction of the body antioxidant provision, more pronounced in chronic obstructive pulmonary disease. Conclusions. Thus, the influence of occupational harmful factors leads to a more severe clinical course of chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease accompanied by more pronounced disorders of free-radical lipid oxidation, which adversely affect the cardiovascular system.

DOI 10.31718/2077-1096.20.1.49

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

Супрун Э. В., Терещенко М. С.

ИЗУЧЕНИЕ ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА В УСЛОВИЯХ АЛКОГОЛЬНОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

Национальный фармацевтический университет МОЗ Украины, г. Харьков

В последнее время в связи распространением алкогольной кардиомиопатии среди трудоспособного населения промышленно развитых стран актуальной необходимостью является поиск новых лекарственных препаратов строго направленного действия, с учетом комплекса механизмов повреждающего действия этилового алкоголя на миокард. В этом отношении интерес представляет комбинированное средство L-аргинина с тиотриазолином (разработка НПО «Фарматрон»), а также Милдронат, Мексидол и Тиотриазолин. Целью настоящего исследования явилось изучение эндотелиопротективного действия комбинированного лекарственного препарата L-аргинина с тиотриазолином (4:1) (Аргитрил) в сравнении с классическими метаболитотропными препаратами Милдронат, Мексидол, Тиотриазолин по влиянию на морфо-функциональные характеристики эндотелиоцитов и уровень ST2 в условиях моделирования алкогольной кардиомиопатии. Алкогольную кардиомиопатию вызывали внутрижелудочным введением с помощью металлического зонда 20% раствора этанола в дозе 8 г/кг в течение 90 суток. Все животные были разделены на 5 групп по 10 особей в каждой. Исследуемые препараты вводили в течение 30 суток внутривентриально – 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, Тиотриазолин (ПАО «Галичфарм», Украина) – 50 мг/кг. Определяли следующие показатели: площадь ядра эндотелиоцитов (мкм²); плотность ядер эндотелиоцитов (как показатель количества ядер клеток на 1мм² площади ткани миокарда) и относительную площадь эндотелиоцитов (%), белок ST2. В результате проведенных исследований было установлено, что на 30 сутки после 90-суточной алкоголизации у животных формируется алкогольная кардиомиопатия. Отмечено достоверное снижение у животных контрольной группы площади ядер эндотелиоцитов на 32,38%, плотности ядер эндотелиоцитов на 7% и относительной площади ядер эндотелиоцитов на 21,89%, повышение концентрации белка ST2 в 3,34 раза по сравнению с интактными животными, что отражает формирование эндотелиальной дисфункции. Экспериментально доказано, что по силе эндотелио- и кардиопротективного эффектов (влияние на показатели площади и плотности ядер эндотелиоцитов; концентрацию белка ST2) комбинированное средство L-аргинин/тиотриазолин достоверно превосходит референс-препараты Милдронат, Мексидол и Тиотриазолин.

Ключевые слова: экспериментальная алкогольная кардиомиопатия, комбинированное средство L-аргинина с тиотриазолином, милдронат, мексидол, тиотриазолин.

Введение

По данным ВОЗ, в настоящее время в мире живут более 150 млн. лиц, страдающих алкогольной зависимостью, из них 95% людей употребляют алкоголь на протяжении жизни, а 78% не обращаются за медицинской помощью и не

считают себя больными [8]. В Украине на протяжении последних 20 лет наркологическая ситуация остается стабильно напряженной, и количество пациентов, состоящих на учете в наркологических диспансерах (по данным статистики) достигает 1 млн человек. Установлено, что употребление алкоголя среди населения не

только способствует развитию патологических изменений различных органов и систем организма, но и повышает риск смертности на 30%. Анализ структуры соматической летальности больных хроническим алкоголизмом свидетельствует о том, что её основной причиной является именно алкогольная кардиомиопатия (АКМП), которая вызывает 1/5 всех случаев внезапной сердечной смерти. По данным разных авторов распространенность заболевания колеблется в пределах от 3,8% до 40% всех кардиомиопатий [4].

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 [14]. 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. В широком смысле данный термин может также обозначать обширный спектр сердечно-сосудистых расстройств, развивающихся на фоне острой или хронической алкогольной интоксикации и рассматриваемых в рамках так называемой алкогольной болезни сердца [11].

Патогенез АКМП до конца не исследован, но основным является прямое токсическое воздействие этанола и его первого и главного метаболита — ацетальдегида — на миокард в сочетании с характерными для хронической алкогольной интоксикации изменениями нервной регуляции и микроциркуляции. Ацетальдегид повреждает сократительную функцию миокарда, нарушает метаболизм липидов и функции митохондрий, транспорт и связывания кальция, сопряжение между возбуждением и торможением и способствует оксидативному повреждению и перекисному окислению липидов [1].

Несмотря на всю значимость этой проблемы, сколько-нибудь эффективной схемы терапии АКМП до настоящего времени не существует [7,12]. В настоящее время комплекс мероприятий, направленных на лечение больных с алкогольной кардиомиопатией, сводится к прекращению потребления алкоголя, проведению симптоматической и общеукрепляющей. Лечение сопутствующей АКМП хронической сердечной недостаточности (ХСН), проводимое по схемам, используемым при терапии ХСН другой этиологии [7,15], ограничивается применением адреноблокаторов, блокаторов кальциевых каналов, витаминных препаратов и метаболитотропных кардиопротекторов и, как правило, малоэффективно [10].

Вместе с тем, учитывая, что в патогенезе АКМП значительную роль играет окислительный стресс, нарушения метаболизма и транспорта свободных жирных кислот, патогенетически

обоснованной при этом заболевании является метаболитотропная терапия [15]. В комплексной терапии алкогольной кардиомиопатии в качестве метаболитотропных кардиопротекторов широкое применение нашли препараты Милдронат [5] и Мексидол [8]. Однако в реальной клинической практике при назначении этих средств не всегда удается достичь адекватного клинического эффекта [13].

Несовершенство существующих концепций медикаментозной терапии структурно-функциональных нарушений миокарда на фоне хронической алкогольной интоксикации определяет настоятельную необходимость поиска и создания новых лекарственных препаратов строго направленного действия, с учетом комплекса механизмов повреждающего действия этилового алкоголя на миокард. Особый интерес представляет метаболитотропный прекурсор оксида азота (NO) — L-аргинин, который увеличивает концентрацию NO в тканях, вызывает расширение сосудов и может оказывать протиовишемическое и кардиопротективное действие. Несомненный интерес представляет поиск возможностей усиления протекторных свойств L-аргинина за счет комбинирования с веществами, способными улучшить энергообеспечение ишемизированного миокарда и повысить биодоступность образуемого из L-аргинина NO. К таким веществам относят тиотриазолин, который обладает свойствами оказывать протективное действие в отношении транспорта NO за счет сохранения восстановленных тиолов [16]. В этом отношении несомненный интерес представляет комбинированное средство L-аргинина с тиотриазолином в оптимальной комбинации L-аргинина с тиотриазолином — 4:1, получивший название «Аргитрил» (разработка НПО «Фарма-Трон»), который проявляет кардиопротективное действие при экспериментальном инфаркте миокарда.

Целью настоящего исследования явилось изучение эндотелиопротективного действия комбинированного лекарственного препарата L-аргинина с тиотриазолином (4:1) (Аргитрил) в сравнении с классическими метаболитотропными препаратами Милдронат, Мексидол, Тиотриазолин по влиянию на морфофункциональные характеристики эндотелиоцитов капилляров миокарда крыс и уровень маркера молекулярных нарушений миокарда (биомаркер ST2) в условиях моделирования алкогольной кардиомиопатии.

Материалы и методы исследования

В эксперименте участвовало 50 белых беспородных белых крыс самцов 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).

Алкогольную кардиомиопатию вызывали внутрижелудочным введением с помощью металлического зонда 20% раствора этанола в дозе 8 г/кг в течение 90 суток. Данная модель воспроизводит структурные, функциональные и обменные нарушения миокарда, характерные для АКМП [6]. Все животные были разделены на 5 групп по 10 особей в каждой. Исследуемые препараты вводили внутривентрикулярно — предлагаемое средство (L-аргинин + тиотриазолин (4:1)) — 200 мг/кг (в пересчете на L-аргинин); Милдронат (Гриндекс, Латвия) — 250 мг/кг; Мексидол (ООО «НПК «Фармасофт», Россия) — 200 мг/кг, Тиотриазолин (ПАО «Галичфарм», Украина) — 50 мг/кг [10]. Контрольная и интактная группы получали физиологический раствор. По окончании эксперимента животные выводились из эксперимента через 2-4 мин. после инъекции этанола натрия (40 мг/кг) (до потери рефлекса выпрямления) с целью минимизации нейрометаболических нарушений. Верхушечную часть сердца помещали в фиксатор Карнуа на 24 часа. После стандартной процедуры обезживания ткани и её пропитки хлороформом и парафином, миокард заливали в парапласт (MkCormick, США). На ротационном микроскопе Microm-325 (Microm Corp., Германия) готовили серийные гистологические срезы толщиной 5 мкм. Морфометрический анализ эндотелиоцитов проводили на микроскопе Axioskop (Zeiss, Germany) при помощи видеокамеры COHU — 4922 (USA), вводили в систему цифрового анализа изображения VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Germany) и определяли следующие показатели: площадь ядра эндотелиоцитов (мкм²); плотность ядер эндотелиоцитов (как показатель количества ядер клеток на 1 мм² площади ткани миокарда) и относительную площадь эндотелиоцитов (в %) [17].

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 (pH 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 твердофазным иммуносорбентным сэндвич-методом ELISA по на-

бору фирмы Critical Diagnostics Presage ST2 Assay kit (REF#BC-1065).

Результаты исследования рассчитывали с помощью стандартного статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA for Windows 6.0» (StatSoftInc, №AXXR712D833214FAN5). Нормальность распределения оценивали по критерию ShapiroWilk. Данные представлены в виде среднего значения. Достоверность различий между средними значениями определяли по критерию Стьюдента при нормальном распределении. В случае распределения, отличного от нормального, или анализа порядковых переменных использовали критерий U Mann-Whitney. Для сравнения независимых переменных в более чем двух выборках применяли дисперсионный анализ (ANOVA) при нормальном распределении или критерий Kruskal-Wallis для распределения, отличного от нормального. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия $p < 0,05$ (95 %).

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований было установлено, что на 30 сутки после 90-суточной алкоголизации у животных формируется алкогольная кардиомиопатия (АКМП) — гистологически выявлены деструктивные изменения кардиомиоцитов, проявляющиеся в виде фуксинофилии, анизотропии, накопления в саркоплазме свободных липидов. Наряду с данными изменениями в миокарде обнаруживались явления пролиферации соединительно-тканых элементов и очаговое ожирение миокарда и развитие выраженного периваскулярного кардиосклероза, а также появляется дисфункция эндотелия — изменения морфо-функциональных показателей эндотелиоцитов сосудов сердца крыс (табл.1).

Роль эндотелия несомненна в патологии микроциркуляции миокарда при АКМП. Эндотелий способен вырабатывать вазодилататоры (азот, простаглицлин, брадикинин и др.), вазоконстрикторы-эндотелин, простагландин А2, модуляторы коагуляции — ангиотензин 2-про, антитромбомулин, активаторы плазминогена, факторы роста. Концепция эндотелиальной дисфункции всё более завоёвывает популярность в качестве механизма патогенеза атеросклероза и алкогольной ангиопатии, что связано как с увеличивающимся объемом знаний о функции и патологии эндотелия, так и с трудностями иных, классических теорий атерогенеза и ангиопатий. Развитие при СН эндотелиальной дисфункции как дисбаланса между эндотелиальными вазодилататорами и вазоконстрикторами в сторону последних также связано с повышенным содержанием цитокинов (IL-1 β , ФНО α), что свидетельствует о медиаторном повреждении сосудистого эндотелия при развитии коронарной сосудистой реакции.

Таблиця 1

Морфофункціональні показателі ендотеліоцитів судів серця крис з алкогольною кардіоміопатією (АКМП)

Групи тварин	Площа ядер ендотеліоцитів, мкм ²	Плотність ядер ендотеліоцитів на 1 мм ² площі среза міокарда	Відносна площа ендотеліоцитів в %
Інтакт (n=10)	5,606±0,245	1262,976±119,706	0,708±0,072
Контроль (АКМП) (n=10)	3,791±0,226*	1355,515±137,778	0,553±0,069*
АКМП+Милдронат, 250 мг/кг (n=10)	4,990±0,276 ^{*К2,3}	1224,704±138,348	0,611±0,065 ^{*К,3}
АКМП+Мексидол, 200 мг/кг (n=10)	5,360±0,261 ^К	1242,100±184,401	0,666±0,088 ^К
АКМП+Тиотриазолін, 50 мг/кг (n=10)	5,74±0,23 ^{*К1}	1287,29±167,40	0,673±0,082 ^К
АКМП+ Аргитрил (Аргінін/тиотриазолін (4:1)), 200 мг/кг (n=10)	5,646±0,310 ^{К1}	1211,694±149,027 ^К	0,684±0,080 ^{К1}

Примечание: 1) * – зміни достовірні по відношенню до інтактних тварин ($p < 0,05$);
 2) ^К – зміни достовірні по відношенню до тварин контрольної групи ($p < 0,05$);
 3) ¹ – зміни достовірні по відношенню до групи тварин, отримавших Милдронат ($p < 0,05$);
 4) ² – зміни достовірні по відношенню до групи тварин, отримавших Тиотриазолін ($p < 0,05$);
 5) ³ – зміни достовірні по відношенню до групи тварин, отримавших Аргитрил ($p < 0,05$);
 6) n – кількість тварин в групі.

Результати, отримані в нашому експерименті і представлені в таблиці, демонструють ішемічне пошкодження ендотелію судів міокарда і формування ендотеліальної дисфункції, о чому свідчить зниження площі ядер ендотеліоцитів на 32,38%, щільності ядер ендотеліоцитів на 7% і відносної площі ядер ендотеліоцитів на 21,89% по порівнянню з групою інтактних тварин.

Введення препаратів порівняння при АКМП оказувало в різній ступені виражений ендотеліопротективний ефект. Курсове введення Милдроната в дозі 250 мг/кг і Мексидола в дозі 200 мг/кг привело до менш вираженого, по порівнянню з групою контролю, зниженню площі ядер ендотеліоцитів відповідно на 31,63 і 41,39% і відносної площі ядер ендотеліоцитів на 10,49 і 20,43%. Виявлені дані свідчать про те, що Милдронат і Мексидол оказували помітний вплив на ознаки ендотеліальної дисфункції міокарда при алкогольній кардіоміопатії. В міокарді тварин, отримавших Тиотриазолін і Аргитрил, спостерігали достовірне підвищення площі ядер ендотеліоцитів судів відповідно на 51,41 і 48,93% по порівнянню з групою нелікованих тварин. Таким чином, в результаті проведених досліджень встанов-

лено, що комбінований препарат тиотриазоліна і L-аргініна (Аргитрил) по такому показателю як площа ядер ендотеліоцитів оказує достовірно більш виражене ендотеліопротективне дієвство по порівнянню з Милдронатом, Мексидолом і Тиотриазоліном в умовах АКМП.

Принципально важливим процесом є ремоделирування серця. Це поняття включає в себе: порушення структури скоротительного апарату кардіоміоцитів, їх функціональну асиметрію, змінення міжклітинних взаємодій, інтерстиціальний фіброз, деспіралізацію ходу м'язових пучків і змінення форми порожнин серця. Підтвердження чому було збільшення в цитозолі міокарда контрольних крис (табл.2) концентрації білка ST2 в 3,34 рази по порівнянню з групою інтакта. ST2 (Suppression of tumorigenicity 2, Growth Stimulation expressed gene 2, стимулюючий фактор росту, експресуючийся геном 2, він же IL1RL1) – член суперсімейства рецепторів IL-1, який є рецептором IL-33 [2]. ST2 – маркер фіброзу і ремоделирування серцевої тканини, звільнюється кардіоміоцитами і фібробластами [3]. Підвищення концентрації ST2 свідчить про ремоделируванні серця і серцевої недостатності у тварин з АКМП.

Таблиця 2

Концентрація білка ST2 в цитозолі міокарда крис з алкогольною кардіоміопатією (АКМП)

Групи тварин	Концентрація ST2, нмоль/мг білка
Інтакт (n=10)	1,42±0,21
Контроль (АКМП) (n=10)	4,75±0,32*
АКМП+Милдронат, 250 мг/кг (n=10)	3,93±0,42 ^{*К,3,4}
АКМП+Мексидол, 200 мг/кг (n=10)	3,51±0,32 ^{*К,4}
АКМП+Тиотриазолін, 50 мг/кг (n=10)	3,23±0,21 ^{*К1,4}
АКМП+ Аргитрил (Аргінін/тиотриазолін (4:1)), 200 мг/кг (n=10)	2,71±0,16 ^{*К1,2,3}

Примечание: 1) * – зміни достовірні по відношенню до інтактних тварин ($p < 0,05$);
 2) ^К – зміни достовірні по відношенню до тварин контрольної групи ($p < 0,05$);
 3) ¹ – зміни достовірні по відношенню до групи тварин, отримавших Милдронат ($p < 0,05$);
 4) ² – зміни достовірні по відношенню до групи тварин, отримавших Милдронат ($p < 0,05$);
 5) ³ – зміни достовірні по відношенню до групи тварин, отримавших Тиотриазолін ($p < 0,05$);
 6) ⁴ – зміни достовірні по відношенню до групи тварин, отримавших Аргитрил ($p < 0,05$);
 7) n – кількість тварин в групі.

Введение Милдроната и Мексидола снижало концентрацию ST2 соответственно на 17,2 и 26,1% в миокарде крыс АКМП. В результате терапии Тиотриазолином в дозе 50 мг/кг у крыс с экспериментальным алкоголизмом восстанавливались транскрипционные процессы в эндотелиоцитах, о чем судили по достоверному снижению концентрации ST2 на 32% в миокарде крыс с АКМП. Введение комбинированного средства L-аргинин/тиотриазолин приводило к выраженному снижению концентрации ST2 на 43% в цитозоле миокарда крыс АКМП.

Наличие более выраженного эндотелио- и кардиопротективного действия у комбинированного препарата тиотриазолина и L-аргинина по сравнению с L-аргином можно объяснить следующим. Тиотриазолин способен выступать в роли транспортной молекулы NO, образуя нитрозотиолы [16]. L-аргинин оказывает прямое стимулирующее действие на активность NO-синтазы и продукцию NO. Поэтому комбинированный препарат тиотриазолина и аргинина обладает уникальными свойствами оказывать протективное действие в отношении синтеза и транспорта NO, его биодоступности, что приводит к потенцированию таких свойств L-аргинина. Полученные данные являются экспериментальным обоснованием для дальнейших доклинических исследований потенциального препарата «Аргитрил».

Выводы

1. Моделирование алкогольной кардиомиопатии (АКМП) путем 90-суточного внутрижелудочного введения 25% этанола (8г/кг) приводит через 30 суток после отмены этанола к морфологическим изменениям эндотелиоцитов у экспериментальных животных – снижению площади ядер эндотелиоцитов, их плотности и относительной площади, а также к увеличению концентрации маркера фиброза и ремоделирования сердечной ткани (белка ST2) по сравнению с группой интакта.

2. Курсовое 30-суточное внутрижелудочное введение животным с АКМП метаболитотропных кардиопротекторов в лечебном режиме — комбинированное средство L-аргинин/тиотриазолин (200 мг/кг), Милдронат (250 мг/кг), Мексидол (200 мг/кг) и Тиотриазолин (50 мг/кг) — приводит к торможению формирования морфогистологических признаков дисфункции эндотелия (повышение плотности и площади ядер эндотелиоцитов, снижение концентрации ST2 по сравнению с группой контроля) в миокарде крыс с алкогольной кардиомиопатией,

при этом Аргитрил проявлял достоверно более выраженный эндотелиопротективный эффект.

3. Полученные данные являются экспериментальным обоснованием для применения Аргитрила в комплексной терапии алкогольной кардиомиопатии.

Перспективы дальнейших исследований заключаются в дальнейшем изучении особенностей кардиопротективного действия Аргитрила и его преимуществ по сравнению с известными кардиопротекторами при экспериментальной алкогольной кардиомиопатии.

Литература

1. Aberle NS, Burd L, Zhao BH. Acetaldehyde-induced cardiac contractile dysfunction may be alleviated by vitamin B1 but not by vitamins B6 or B12. *Alcohol & Alcoholism*. 2014; 5(39): 450-4.
2. Boisot S, Beede J, Isakson S, Chiu A, Clopton P, Januzzi J, Maisel AS, Fitzgerald RL. Serial sampling of ST2 predicts 90-day mortality following destabilized heart failure. *J Card Fail*. 2008; 14(9): 732-8.
3. Daniels LV, Bayes-Genis A. Using ST2 in cardiovascular patients: a review. *Future Cardiol*. 2014; 10(4): 525-39.
4. Hookana E, Juntila MJ, Puurunen VP. Causes of nonischemic sudden cardiac death in the current era. *Heart rhythm: the official journal of the Heart Rhythm Society*. 2011; 8: 1570-5.
5. Kalvinsh IYa. Mildronate: mode of action and prospects of its application. Riga, 2012. 132 p.
6. Lieber Charles S. *Medical and Nutritional Complications of Alcoholism: Mechanisms and Management*. Springer, N.Y., 1992. 677 p.
7. Piano MR, Phillips ShA. Alcoholic cardiomyopathy: Pathophysiologic insight. *Cardiovasc. Toxicol*. 2014; 14: 4: 291–308.
8. 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.
9. Aleksandrov AA. Vviyavlenie rasstroystv, vyzvannykh upotrebleniyem alkogolya, v obschemeditsinskoj praktike [Identification of disorders caused by alcohol consumption in general medical practice]. *Medsina*. 2007; 1 (56): 12-15. (Russian)
10. Belenichev IF, Cherniy VI, Nagorna EA, Pavlov SV, Buhtiyarova N.V. Neyroprotektsiya i neyroplastichnost [Neuroprotection and Neuroplasticity]. *Monografiya Kiev: Logos*, 2015. 512 p. (Russian)
11. Bohan NA, Mandel AI, Maksimenko NN, Mihaleva LD. Smertelnyie ishody pri alkogolnoy zavisimosti [Fatalities in alcohol addiction]. *Narkologiya*. 2007; 12: 37–40. (Russian)
12. Drapkina O, Ashihmin Ya, Ivashkin V. Problema alkogolnoy kardiomiopatii [The problem of alcoholic cardiomyopathy]. *Vrach*. 2005;8:48-50. (Russian)
13. Drapkina OM. Problema alkogolnoy kardiomiopatii. Effektivnaya farmakoterapiya v kardiologii i angiologii [The problem of alcoholic cardiomyopathy. Effective pharmacotherapy in cardiology and angiology]. 2008; 1: 30–34. (Russian)
14. Moiseev VS, Shelepin AA. *Alkohol i bolezni serdtsa: rukovodstvo [Alcohol and heart disease: a guide.]*. M.: GEOTAR-Media. 2009. 235 p. (Russian)
15. Ryabenko D.V., Kornienko T.M. Alkogolnaya kardiomiopatiya [Alcoholic Cardiomyopathy]. *Ukrainskiy kardiologichnyi zhurnal*. 2010; 4: 91-7. (Russian)
16. Toporkov AS, Topchiiy NV. Vozmozhnosti primeneniya Tiotriazolina v kachestve sredstva metabolicheskoy terapii [Possibilities of using thiotriazolin as a means of metabolic therapy]. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2015; 15: 890–4. (Russian)
17. Chekman IS, Belenichev IF, Nagornaya EA, Buhtiyarova NV, Kucherenko LI. Doklinicheskoe izuchenie spetsificheskoy aktivnosti endotelioprotektivnykh preparatov. Metodicheskie rekomendatsii GETs MZ Ukrainyi [Preclinical study of the specific activity of endothelioprotective drugs. Methodical recommendations of the SCE of the Ministry of Health of Ukraine]. Kiev, 2014. 60 s. (Ukrainian)

Реферат

ВИВЧЕННЯ ЕНДОТЕЛІОПРОТЕКТИВНОЇ ДІЇ КОМБІНОВАНОГО ЛІКУВАЛЬНОГО ЗАСОБУ В УМОВАХ АЛКОГОЛЬНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ

Супрун Э. В., Терещенко М. С.

Ключові слова: експериментальна алкогольна кардіоміопатія, комбінований засіб L-аргініну з тіотриазоліном, мілдронат, мексидол, тіотриазолін.

Останнім часом у зв'язку 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. В цьому відношенні інтерес представляє комбінований засіб L-аргініну з Тіотриазоліном (розробка НВО «Фарматрон»), а також Мілдронат, Мексидол і Тіотриазолін. Метою цього дослідження було вивчення ендотеліопротективної дії комбінованого лікарського препарату L-аргініну з Тіотриазоліном (4:1) (Аргітрил) в порівнянні з класичними метаболітотропними препаратами Мілдронат, Мексидол, Тіотриазолін за впливом на морфо-функціональні характеристики ендотеліоцитів і рівень ST2 в умовах моделювання алкогольної кардіоміопатії. Алкогольну кардіоміопатію викликали внутрішньошлунковим введенням за допомогою металевого зонда 20% розчину етанолу в дозі 8 г/кг протягом 90 діб. Всі тварини були розділені на 5 груп по 10 особин у кожній. Досліджувані препарати вводили протягом 30 діб внутрішньочеревно – пропонується засіб (L-аргінін 100 мг/мл + тіотриазолін 25 мг/мл (4:1)) – 200 мг/кг (в перерахунку на L-аргінін); Мілдронат (Гриндекс, Латвія) – 250 мг/кг; Мексидол (ТОВ НПК «Фармасофт», Росія) – 200 мг/кг, Тіотриазолін (ПАТ «Галичфарм», Україна) – 50 мг/кг. Визначали наступні показники: площа ядра ендотеліоцитів (мкм²); щільність ядер ендотеліоцитів (як показник кількості ядер клітин на 1мм² площі тканини міокарда) і відносну площу ендотеліоцитів (%), білок ST2. В результаті проведених досліджень було встановлено, що на 30 добу після 90-добової алкоголізації у тварин формується алкогольна кардіоміопатія. Відзначено достовірне зниження у тварин контрольної групи площі ядер ендотеліоцитів на 32,38%, щільності ядер ендотеліоцитів на 7% і відносної площі ядер ендотеліоцитів на 21,89%, підвищення концентрації білка ST2 в 3,34 рази в порівнянні з інтактними тваринами, що відображає формування ендотеліальної дисфункції. Експериментально доведено, що за силою ендотеліо- і кардіопротективного ефектів (вплив на показники площі і щільності ядер ендотеліоцитів; концентрацію білка ST2) комбінований засіб L-аргінін/тіотриазолін достовірно перевершує референс-препарати Мілдронат, Мексидол і Тіотриазолін.

Summary

STUDY OF ENDOTHELIOPROTECTIVE ACTION OF COMBINED MEDICINE UNDER ALCOHOLIC CARDIOMYOPATHY

Suprun E.V., Tereshchenko M.S.

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

At present, due to spreading of alcoholic cardiomyopathy among the able-bodied population of industrialized countries, there is an urgent need to search for new medicines possessing a strictly targeted effect, taking into account the complex mechanisms of the damaging effects produced by ethyl alcohol on the myocardium. Therefore, the combination of L-arginine and thiotriazolin (developed by "Farmatron" scientific production association) is of great clinical interest. The same is relevant for Mildronate, Mexidol and Thiotriazolin. The aim of this research was to study the endothelioprotective effect of the medicine combining L-arginine with thiotriazoline (4: 1) (Argitril) in comparison with the standard metabolites as Mildronate, Mexidol, and Thiotriazoline on the morphological and functional characteristics of endotheliocytes and ST2 level in modelled cardiomyopathy and alcohol cardiomyopathy. Alcoholic cardiomyopathy was caused by intragastric administration of 20% ethanol solution in a dose of 8 g/kg for 90 days. All animals were divided into 5 groups, 10 animals in each. All the studied substances were administered intraperitoneally for 30 days: the combined medicine (L-arginine 100 mg/ml + thiotriazolin 25 mg/ml (4:1)) - 200 mg/kg (in recalculation for L-arginine); Mildronate (Grindeks, Latvia) - 250 mg/kg; Mexidol (NPK Farmasoft, Russia) - 200 mg/kg, Thiotriazolin (Galichfarm, Ukraine) - 50 mg/kg. The control and intact groups received physiological saline. The following indicators were assessed: endothelial cell nucleus area (µm²); the density of the nuclei of endotheliocytes (as an indicator for the number of cell nuclei per 1 mm² of myocardial tissue area) and the relative area of endotheliocytes (%), ST2 protein.

The study has shown that on the 30th day after 90 days of the development of alcohol addiction, the animals were found out to have alcoholic cardiomyopathy. A significant decrease, by 32.38%, in the area of the nuclei of endotheliocytes was observed in the animals of the test group, the density of nuclei of the endotheliocytes lowered by 7% and the relative area of the nuclei of the endotheliocytes reduced by 21.89%. An increase in the concentration of ST2 protein was observed in 3.34 times compared with the intact animals that evidences the presence of endothelial dysfunction.

It has been experimentally proved that the combination of L-arginine/thiotriazolin significantly exceeds the reference medicines as Mildronate, Mexidol and Thiotriazolin in terms of endothelioprotective and cardioprotective effects (effect on the area and density of nuclei of endotheliocytes; concentration of ST2 protein).