

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ІНСТИТУТ

*На правах рукопису*

ПАВЛЕНКО ГАННА ПЕТРІВНА

**ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ, АНТИОКИСЛЮВАЛЬНІ  
ТА ГЕМОКОАГУЛЯЦІЙНІ ПРОЦЕСИ В НОРМІ,  
ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ПАТОЛОГІЇ СЕРЦЯ  
ТА ЇХ ЛІМІТУВАННЯ ПЕПТИДНИМ  
БІОРЕГУЛЯТОРОМ**

14.00.17 — нормальна фізіологія

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**  
дисертації на здобуття вченого ступеня  
кандидата медичних наук

*Науковий керівник —  
доктор медичних наук, професор Міщенко В.П*

*Офіційні опоненти:  
доктор біологічних наук, професор Гладкова А.І.  
доктор медичних наук, професор Атаман О.В.*

*Ведуча організація ---  
Київський медичний університет*

Захист дисертації відбудеться «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 1993 р.  
о \_\_\_\_\_ годині на засіданні Спеціалізованої Ради  
Д 088.23.04 при Харківському медичному інституті  
/310022, м. Харків, пр. Леніна, 4, аудиторія N \_\_\_\_\_

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці  
Харківського медичного інституту

Автореферат розісланий «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 1993 р.

*Вчений секретар Спеціалізованої Ради  
кандидат біологічних наук Л. О.Жубрікова*

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність проблеми.** Однією із актуальних проблем сучасної кардіології залишається корекція порушеної функції серцевого м'язу.

Стрес, ішемія та інші фактори викликають біохімічні зміни в тканинах міокарда, для яких характерні, в першу чергу, активація вільнорадикальних процесів, що веде до пригнічення антиоксидантної системи, зміни мікроциркуляції і гемостазу. Ці фактори відіграють головну роль в виникненні основних захворювань серця: інфаркту міокарда (Меерсон Ф. З., Каган В. Е., Козлов и др., 1982; Биленко Чазов Е. И., 1975; Рысмендиев А. Ш., Иващенко Т. И., Прогонная В. В., 1984; Сауля А. И., Меерсон Ф. З., 1990; Tilders F. J. H., Berkenbosch F., Van Zoest I.D., 1987), міокардиту (Антоненко В. Г., 1979) та інших. Спроби багатьох дослідників використати при лікуванні пошкоджень міокарда антиоксиданти (Бурлакова Е. Б., 1980; Биленко М. В., 1982; Меерсон Ф. З., Белкина Л. М., Уголев А. А. и др. 1980; Granged N., Hollwarth M. E., Parks D. A., 1986), антикоагулянти (Григорьянц Р. А., Фирсов Н. Н., Гасилин В. С., 1978; Грицюк И. А., 1989), антиагреганти (Борников В. Т., Зайнутдинов Б. Д., Ишаходжаев Т. М., 1989; Коняев Б. В., Яковлев В. Б., Авдеева Н. А., 1974) і імуномодулятори цілком логічні, але не завжди ефективні, поскільки кожний із них діє на окрему ланку патогенетичного ланцюга, що є основою цих захворювань.

Виявлення взаємозв'язку між процесами перекисного окислення ліпідів, станом антиоксидантної системи організму і гемостазом при пошкодженні міокарда може розкрити нові патогенетичні механізми розвитку захворювань серцево-судинної системи і її терапії. Навіть при їх розкритті ми не змогли б в

практичній медицині скласти адекватний набір фармпрепаратів, при використанні яких можна було б надати перевагу нормалізації реакцій перекисного окислення ліпідів, антиоксидантного захисту організму, гемостазу і неспецифічної резистентності організму. Така трудність виникає як в плані дозування, так і вибору препаратів.

Ось чому нас зацікавило вивчення вищезазначеної можливості взаємовідносин процесів вільнорадикального окислення ліпідів, гемостазу і неспецифічної резистентності організму при використанні в експерименті нового класу речовин кардіотропної дії — цитомедінів (кордіаліну).

В 1983 році Морозов В. Г. і Хавінсон В. Х. висунули припущення, згідно з яким в організмі людини і тварин є система пептидної регуляції — цитомедінів, які здійснюють перенесення специфічної інформації, необхідної для нормального функціонування, розвитку і взаємодії клітинних популяцій.

Згідно з цією гіпотезою в регуляції багатьох фізіологічних функцій беруть участь цитомедіни — сполуки поліпептидної природи, які забезпечують клітинні взаємозв'язки в межах того органу, в якому вони утворюються. Цитомедіни виділені із самих різноманітних органів і тканин: серця, судин, тімусу, головного мозку, нирок, еритроцитів та ін. Доведено, що різноманітні цитомедіни, незалежно від того, з яких органів або клітин вони виділені, впливають на клітинний і гуморальний імунітет, стан гемостазу, перекисне окислення ліпідів та інші захисні реакції організму (Морозов В. Г., Хавінсон В. Х., 1978, 1979; Цыбиков Н. Н., 1980; Хышова Д. Р., 1984; Кузник Б. И. и соавт., 1982, 1984; Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., 1987; Малежик Л. П., Маринин В. В., 1991; Яковлев Г. М., Морозов В. Г., Хавінсон В. Х., 1992).

У теперішній час частина цитомедінів знаходить широке застосування в клінічній практиці (тімалін, тімоген, епіталамін, простатілін), інші проходять лише експериментальну перевірку (Яковлев Г. М., Морозов В. Г., Хавінсон В. Х., 1992; Комаров Ф. И., 1992; Андреева Л. И., Павленко В. С., Меркурьева Г. А., 1992).

З тканини міокарда великої рогатої худоби методом оцтовокислої екстракції виділено речовину, яка являє собою комплекс поліпептидних фракцій, що має цитомедінову дію (кордіалін). Кордіалін має властивість зменшувати тяжкість ішемічного по-

шкодження і стимулювати відновлювальні процеси в пошкоджених кардіоміоцитах (Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., 1987; Андреева, Ершова В. И., Павленко Б. С., 1990). Механізм дії його практично не вивчений.

Зміни в системі гемостазу, неспецифічної резистентності організму сприяють виникненню різноманітних захворювань і патологічних станів серцево-судинної системи і тісно пов'язані з пошкодженням клітинних мембран кардіоміоцитів (Kontos Hermes, 1985; Losullo., Di Bella P., Provinciali L., 1988). Ефективність виконання мембранами своїх функцій (проникливість, активність ферментів, спорідненість рецепторів) пов'язана з фізико-хімічним станом мембранних ліпідів і визначається процесами, що контролюють цей статус. Одним із таких процесів є вільнорадикальне окислення ліпідів.

Цілком логічно було б припустити можливість впливу кордіаліну на взаємодію вільнорадикальних і гемостатичних механізмів у серцевому м'язі і крові тварин при розвитку в серці патологічного процесу, а також загальних впливів на організм, наприклад, стресі, при якому можливе порушення структури і функції міокарда.

Розробка цього питання, з нашої точки зору, дозволить запропонувати в практику охорони здоров'я принципово новий метод лікування—біорегулюючу терапію, яка відрізняється рядом значних переваг (патогенетичний механізм дії, висока специфічність, нешкідливість, доступність) і може привести до значного підвищення ефективності лікування захворювань серцево-судинної системи.

**Мета і завдання досліджень.** Метою цього дослідження є вивчення впливу кордіаліну на стан перекисного окислення ліпідів, фізіологічну антиоксидантну систему, мікроциркуляторний і гемокоагуляційний гемостаз у інтактних тварин і при моделюванні патологічних станів серцево-судинної системи.

У зв'язку з цим перед нами були поставлені такі завдання:

1. Вивчити вільнорадикальні, антиокислювальні та гемокоагуляційні процеси в організмі у інтактних тварин та при експериментальній патології серця.

2. Уянити вплив кордіаліну на динаміку біохімічних, гемокоагуляційних показників у тварин в досліджах *in vitro*, у

інтактних тварин та у тварин в дослідах, пов'язаних з загальною взаємодією на організм (гострий емоційно-больовий стрес).

3. Визначити можливість використання кордіаліну в якості інгібітора перекисного окислення ліпідів і модулятора гемостаза при експериментальних патологіях серця (новодріновий некроз міокарда; неповний, частковий його ішемії; аутоімунному міокардиті).

**Наукова новизна.** Вперше показано, що активація вільнорадикального окислення ліпідів і зниження антиоксидантного захисту організму при гострому емоційно-больовому стресі, ішемії міокарда, новодріновому його некрозі, експериментальному аутоімунному міокардиті супроводжується однотипними змінами в крові і тканинах міокарда. Вперше доведено, що використання поліпептидного препарату кордіаліну при гострому емоційно-больовому стресі, ішемії міокарда, новодріновому його некрозі дозволяє нормалізувати рівень перекисного окислення ліпідів, гемостаз, антиоксидантний захист і ліквідувати морфологічні пошкодження в тканині міокарда, а при експериментальному аутоімунному міокардиті ще й неспецифічної резистентності організму.

**Практична цінність роботи.** Отримані дані розкривають здатність цитомедіна кордіаліну одночасно здійснювати корегуючу дію на процеси вільнорадикального окислення ліпідів, фізіологічну антиоксидантну систему, гемостаз і неспецифічну резистентність організму.

**Кордіалін** має переваги перед сучасними лікарськими засобами, що використовуються для терапії захворювань серця. Він одночасно діє на різні ланки гомеостазу, за допомогою чого і досягається відносно швидкий терапевтичний ефект даного препарату.

Дані, викладені в роботі, впроваджені в навчальний процес кафедр нормальної фізіології, фармакології, біологічної хімії Полтавського Державного медичного стоматологічного інституту.

Положення, що винесені на захист:

1. Гострий емоційно-больовий стрес, неповна часткова ішемія міокарда, новодріновий некроз міокарда, аутоімунний міокардит призводять до однотипних реакцій у крові і тканинах

серця: до збільшення рівня вільнорадикального окислення ліпідів, зниження активності антиоксидантних ферментів, явищ гіперкоагуляції, активації фібрinolізу, а також до порушень морфологічної картини тканини міокарда.

2. Використання кордіаліну з метою корекції змінених показників перекисного окислення ліпідів, гемостазу і неспецифічної резистентності організму, викликаних розвитком експериментальної патології, призводять до нормалізації перерахованих показників і відновлення структури міокарда.

**Апробація дисертації.** Матеріали дисертації обговорені на міжвузівській науково-практичній конференції молодих вчених «Фізіологія і патологія ПОЛ, гемостазу і імунотенезу» (1990, Полтава), на XXXIII з'їзді Українського фізіологічного товариства (1990, Харків), науково-практичній конференції «Пошук нових лікарських засобів і їх використання в клініці» (1990, Чіта), Всесоюзній конференції «Регуляторні пептиди в нормі і при патології — цитомедіни» (1991, Чіта), Всесоюзному симпозиуму «Стрес, адаптація і дисфункція» (1991, Кишинів), Всесоюзній конференції «Фізіологія і патологія гемостазу» (1991, Полтава), Міжнародному симпозиуму «Пептидні біорегулятори — цитомедіни» (1992, Санкт-Петербург).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 16 робіт.

**Обсяг роботи.** Дисертаційна робота — фрагмент комплексної наукової Всесоюзної та республіканської проблеми — ВН.10. 21.86, держ. рег. N01 86. 0 042321 «Вивчити на ґрунті експерименту та клініки вплив фізіологічно активних речовин антиоксидантної дії на процеси адаптації та розвитку хронічної вікової патології і розробити рекомендації щодо їх застосування як засобів фармпрофілактики».

Дисертація написана на 182 сторінках машинописного тексту і складається з вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, власних даних, обговорення одержаних даних, висновків. Робота ілюстрована таблицями (53) та малюнками (16).

Перелік літератури включає 215 вітчизняних та 66 робіт закордонних авторів.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для вирішення поставлених завдань нами були проведені експериментальні дослідження контрольних і дослідних серій на 220 білих щурах лінії Вістар обох статей і крові 10 здорових донорів.

Об'єктами досліджень були: кров, плазма, сироватка, тканини експериментальних тварин. У роботі використовували поліпептид, отриманий за методом Морозова В. Г. і Хавінсона В. Х. (1974) із тканини міокарда методом оцтово-кислої екстракції з подальшим осадженням, очисткою і ліофілізацією препарату (умовно названим кордіаліном).

Гострий емоційно-больовий стрес моделювали по О. Desiderato (1974).

Експериментальний аутоімунний міокардит викликали внутрічеревним введенням суспензії аутологічного серця в певному ад'юванті Фрейнда (1:4) в кількості 0,3 на тварину — 2 рази на тиждень, протягом 14 днів (Антоненко В. Т., 1979). Починаючи з 15 дня після первинного введення суспензії в розпал патологічного процесу, дослідній групі щурів вводили кордіалін внутрим'язево в дозі 1 мг на кг ваги протягом 14 днів.

Некроз міокарда отримували шляхом одноразового введення новодріну в дозі 75 мг на кг ваги (Резников К. М., Леонов А. Н., Китаєва Р. И. и др., 1985). Дослідній групі щурів після введення новодріну через 5 хвилин (Казанцева Р.И., Андреева Л. И., 1988) вводили кордіалін, забій тварин проводили через 3 і 15 годин. Контрольній групі тварин вводили фізіологічний розчин за тією ж схемою.

Неповну ішемію міокарда відтворювали шляхом перев'язування лівої коронарної артерії в нижній третині (Selue H., 1958) на 60 хвилин під гексеналовим наркозом (100 мг на кг ваги). Дослідній групі тварин вводили кордіалін через 5 хвилин після перев'язки лівої коронарної артерії внутрим'язево в дозі 1 мг на кг ваги. Контрольній групі тварин (розтин грудної клітини і перикарда без накладення лігатури) вводили фізіологічний розчин за тією ж схемою.

Вивчення впливу кордіаліну на досліджувані показники в дослідах *in vitro* проводили, додаючи в дослідні пробірки по 100 мкл розчину препарату в різних концентраціях, в контрольні — по 100 мкл фізіологічного розчину.



Рівень перекисного окислення ліпідів оцінювали за стійкістю еритроцитів до перекисного гемолізу (Jager F. C., 1968), накопиченням продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою в ході 1,5 – годинної інкубації (Владимиров Ю. А., Арчаков А. И., 1972), концентрацією дієнових кон'югатів в сироватці крові (Воскресенский О. Н., 1982).

Стан антиоксидантної системи визначали за активністю супероксиддисмутази (Брусков О. С., Герасимов А. М., Панченко Л. Ф., 1976), каталази (Архіпова О. Г., 1988), концентрацією церулоплазміну в сироватці крові (Shimisu Mitiguki, Vochihiro Maruyama, Masao Kukita et al., 1961).

Про стан системи гемостазу і фібрinolізу судили за часом рекальцифікації плазми (Bergerhof H., Roka., 1954), протромбіновим часом (Quick A., 1943), тромбіновим часом (Sirmay E., 1957), етаноловим і протамінсульфатним тестами (Балуда В. П., Баркаган З. С., Гольдберг Е. Д. и др. 1980), за активністю антитромбіну III (Heusen A., 1963), за вмістом фібрinогену (Рутберг Р. А., 1961), за часом лізису зуглобулінового згустка (Kowarzyk H., Buluk., 1954). Методом радіоімунного аналізу визначали концентрацію гормонів в сироватці крові: інсуліну, тироксину, трийодтиронину (Семенов В. Д., Семенова Н. В., 1973) з використанням наборів, розроблених інститутом біоорганічної хімії АН Білорусії.

Вплив пептиду кордіаліну на киснезалежні процеси в нейтрофілах вивчали в тесті відновлення нітросинього тетразолію (Hercowitz H.V., Holden H. T., Bellanti J. A. et al., 1981). Крім того, вираховували цитохімічний коефіцієнт мієлопероксидази лейкоцитів (Бондаренко И. Г., 1986).

Для гістологічного дослідження обробку матеріалу (клаптики тканини міокарда) проводили за загальноприйнятими методами (Меркулов Г. А., 1986). Тканину фіксували в 96% спирті і 10% розчині нейтрального формаліну, готували парафінові зрізи, які підфарбовували по Нісслю і досліджували мікроскопічно.

Всі отримані дані оброблені методом варіаційної статистики (Венчиков А. И., Венчиков В. А., 1974). Для оцінки суттєвих відмінностей порівнювальних показників використовували параметричний критерій Ст'юдента. Розрахунки проведені на ЕОМ «СМ—1407».

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

### 1. Перекисне окислення ліпідів, фізіологічна антиоксидантна система і система згортання крові під дією кордіаліну *in vitro* і при введенні здоровим тваринам

Виходячи із результатів проведених нами досліджень, кордіалін в досліджах *in vitro* в дозі 0,1, 1,0, 5,0 мкг на мл суттєво не впливав на процеси перекисного окислення ліпідів, активність антиоксидантних ферментів, систему згортання крові і фібрinolіз.

При одноразовому внутрим'язевому введенні кордіаліну інтактним тваринам за добу до дослідження в дозі 1 мг на кг ваги не виявлено достовірних змін показників перекисного окислення ліпідів в крові і тканинах міокарда. Однак він викликав тенденцію до збільшення активності антиоксидантних ферментів в крові: супероксиддисмутази і каталази. На антиоксидантну систему тканини міокарда, систему згортання крові і фібрinolіз кордіалін не впливав.

Внутрим'язеве введення кордіаліну протягом 5 днів в дозі 1 мг на кг ваги призводило до зменшення приросту ТБК-активних продуктів в крові і тканині міокарда з  $(4,40 \pm 0,70)$  мкмоль/кг до  $(2,73 \pm 0,60)$  мкмоль/кг ( $p < 0,001$ ), перекисного гемолізу еритроцитів з  $(13,00 \pm 0,20)$  % до  $(8,10 \pm 0,10)$  % ( $p < 0,001$ ), збільшення активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази і каталази крові і тканині міокарда.

На систему згортання крові кордіалін справляв гіпокоагуляційний ефект: подовжував час рекальцифікації плазми з  $(66,40 \pm 0,30)$  с до  $(75,10 \pm 0,20)$  с ( $p < 0,001$ ), протромбіновий час з  $(17,50 \pm 0,10)$  с до  $(22,50 \pm 0,10)$  с ( $p < 0,001$ ), збільшував активність антитромбіну III з  $(41,60 \pm 0,30)$  % до  $(78,00 \pm 0,20)$  % і прискорював фібрinolіз.

З отриманих даних можна припустити, що даний поліпептид має антиоксидантну і антикоагулянтну дію і властивості антитромбіну III.

Звичайно, що особливо цей ефект нас цікавив при різноманітних патологічних реакціях в серці або інших станах організму, при яких страждає і серцевий м'яз. З цією метою були проведені дослідження на тваринах, у яких викликали експериментальну патологію, зв'язану з зовнішньо- і внутріклітинною активністю перекисного окислення ліпідів.

2. Перекисне окислення ліпідів, фізіологічна антиоксидантна система і гемостаз при введенні кордіаліну тваринам з експериментальною патологією серцевого м'язу.

### 2. 1. Гострий емоційно-больовий стрес.

Під впливом гострого емоційно-больового стресу в крові виникало зростання вмісту вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів (збільшувався перекисний гемоліз еритроцитів з  $(11,45 \pm 0,10)$  % до  $(17,06 \pm 0,10)$  % ( $p < 0,001$ ). Це свідчить про посилення процесів перекисного окислення ліпідів у цих тварин. Синдром пероксидації супроводжувався зривом захисних механізмів антиоксидантної системи крові, що виявлялось в достовірному зниженні її ферментів: супероксиддисмутази з  $(1,16 \pm 0,20)$  од. активності до  $(0,92 \pm 0,02)$  од. активності ( $p < 0,001$ ) і каталази з  $(1,0 \pm 0,02)$  нмоль  $H_2O_2$ /мин млн. еритроцитів) до  $(0,74 \pm 0,01)$  нмоль  $H_2O_2$ /мин млн. еритроцитів ( $p < 0,001$ ).

У тканинах міокарда під впливом гострого емоційно-больового стресу відбувалася більш виражена активність процесів перекисного окислення ліпідів, ніж в крові, про що свідчить збільшення рівня ТБК-активних продуктів як до, так і після 1,5 – годинної інкубації еритроцитів, на фоні достовірного зниження активності антиоксидантних ферментів: супероксиддисмутази з  $(1,12 \pm 0,02)$  од. активності до  $(0,57 \pm 0,01)$  од. активності ( $p < 0,001$ ) і каталази з  $(1,30 \pm 0,02)$  нмоль  $H_2O_2$  мин) до  $(1,06 \pm 0,02)$  нмоль  $H_2O_2$  мин ( $p < 0,001$ ).

Відомо, що стрес може потенціювати або викликати ішемічні пошкодження за допомогою катехоламінів, які активують процес згортання крові. Нами виявлено в цих умовах посилення процесу гемокоагуляції, який проявлявся в зменшенні часу рекальцифікації, тромбінового часу, появі позитивного протамінсульфатного тесту, зростанні рівня продуктів деградації фібріногену і зменшенні активності антитромбіну III, а також активації фібрінолізу.

Взаємозв'язок нервових і гормональних компонентів, що беруть участь в керуванні стресорною реакцією (Робу А. И., 1989), підтвердили зміни рівня гормонів крові: зниження кількості інсуліну, зростання тироксину і трийодтиронину, що виявляють інгібіторну дію на вільнорадикальне окислення ліпідів (Абрамов Ж. И., Оксенгендлер Г. И., 1986).

Попередньо введений кордіалін при гострому емоційно-больовому стресі виявив протективний ефект, оскільки під

Його впливом відбувалося достовірне зниження вмісту вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів (перекисного гемолізу еритроцитів з  $(17,06 \pm 0,10) \%$  до  $(12,32 \pm 0,13) \%$  ( $p < 0,001$ ) на фоні достовірного збільшення активності антиоксидантних ферментів: супероксиддисмутази і каталази. Кордіалін також виявив корегуючий ефект на коагуляційний потенціал крові, рівень інсуліну і тиреоїдних гормонів.

У тканинах міокарда кордіалін достовірно знизив рівень вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів і активізував антиоксидантну систему міокарда.

Ведучою ланкою порушення структури міокарда при стресі і ініціації цілого ряду патологічних реакцій є активація процесів перекисного окислення ліпідів, яка викликає пошкодження клітинних мембран (Меерсон Ф. З., 1984, 1989) і появу виразкових уражень слизової оболонки шлунка. Кордіалін виявив протективний ефект на слизову оболонку шлунка, дійсно зменшуючи в останній кількість виразок і підслизових крововиливів.

## 2. 2. Експериментальний аутоімунний міокардит.

Як показали наші дослідження, всі тварини, починаючи з 7-10 дня після введення антигену, були неактивні, помічалася відсутність апетиту.

Експериментальний аутоімунний міокардит викликав активацію перекисного окислення ліпідів в крові щурів — збільшував приріст ТБК-активних продуктів еритроцитів за 1,5 години інкубації з  $(0,71 \pm 0,08)$  мкмоль/л до  $(6,44 \pm 0,15)$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ), вміст дієнових кон'югатів з  $(39,15 \pm 0,20)$  мкмоль/л до  $(45,18 \pm 0,10)$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ), перекисний гемоліз еритроцитів з  $(8,90 \pm 0,09) \%$  до  $(15,90 \pm 0,04) \%$  ( $p < 0,001$ ).

Активність антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази і каталази в крові при аутоімунному міокардиті пригнічувалася.

У тканині міокарда ми спостерігали більш виявлену активацію перекисного окислення ліпідів: приріст ТБК-активних продуктів еритроцитів за 1,5 години інкубації складав  $(29,95 \pm 0,32)$  мкмоль/кг проти  $(2,59 \pm 0,29)$  мкмоль/кг ( $p < 0,001$ ) на фоні достовірного зниження активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази і каталази.

З боку гемостазу у відповідь на експериментальний аутоімунний міокардит виявлені гіперкоагуляція (скорочення часу рекальцифікації, протромбінового часу, зниження активності антитромбіну III, поява позитивних тестів паракоагуляції і активації фібрinolізу).

Таким чином, при експериментальному аутоімунному міокардиті виникає небезпека розвитку ДВЗ-синдрому, в першу чергу, за рахунок активації процесів вільнорадикального окислення ліпідів, гіперкоагуляції і гіперфібрinolізу крові.

Застосування кордіаліну протягом 14 днів у щурів з експериментальним аутоімунним міокардитом призвело до достовірного зниження в крові приросту ТБК-активних продуктів з  $(25,11 \pm 0,10)$  мкмоль/л до  $(18,03 \pm 0,16)$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ), дієнових кон'югатів з  $(45,18 \pm 0,10)$  ммоль/л до  $(42,10 \pm 0,40)$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ), перекисного гемолізу еритроцитів з  $(15,90 \pm 0,09) \%$  до  $(11,70 \pm 0,14) \%$  ( $p < 0,001$ ) і збільшенню активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази і каталази.

У тканині міокарда кордіалін сприяв зниженню вмісту ТБК-активних продуктів як до, так і після 1,5-годинної інкубації, збільшенню активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази і каталази.

При гістологічному обстеженні препаратів тканини міокарда тварин, яких лікували, нами встановлено зменшення лімфоцитарної інфільтрації і нормалізації структури мікроциркуляторного русла.

Кордіалін ліквідував явища гіперкоагуляції і активації фібрinolізу, що доводить його регулюючий вплив на систему згортання крові і збільшував в сироватці крові вміст імунонеактивного інсуліну з  $(25,0 \pm 0,40)$  МкЕд/л до  $(31,98 \pm 0,38)$  МкЕд/л.

### 2. 3. Новодріновий некроз міокарда

При новодріновому некрозі міокарда нами встановлено збільшення рівня первинних і вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів крові і зниження активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази і каталази.

Оскільки новодрін викликає невідповідність між потребою міокарда в кисні і його кровозабезпеченням (це спричиняє до розвитку абсолютної або відносної гіпоксії міокарда з подальшою

появою осередків некрозу), ми отримали більш виражені зміни процесів перекисного окислення ліпідів у тканині міокарда. Про це свідчить збільшення приросту ТБК-активних продуктів за 1,5 години інкубації на фоні достовірного зниження активності антиоксидантного ферменту супероксиддисмутази з ( $1,25 \pm 0,02$ ) од. активності до ( $0,8 \pm 0,03$ ) од. активності ( $p < 0,001$ ), в разі забою через 3 години; і до ( $0,50 \pm 0,01$ ) од. активності ( $p < 0,001$ ), коли забій проводили через 15 годин.

При гістологічному дослідженні тканини міокарда нами виявлені осередки некрозу. Судини мікроциркуляторного русла здебільшого були звужені, заповнені кров'ю. Реакція на сукцинатдегідрогеназу виявляла деяку мозаїчність у розподілі ферменту: ділянки з високою активністю межували з місцями, де активність ферменту була проявлена помірно, слабо або зовсім була відсутня.

Введення новодріну викликало гіперкоагуляцію в крові (скорочення часу рекальцифікації з ( $62,20 \pm 0,30$ ) с до ( $55,0 \pm 0,20$ ) с ( $p < 0,001$ ), забій через 3 години і до ( $51,70 \pm 0,30$ ) с ( $p < 0,001$ ), коли забій проводили через 15 годин, протромбінового часу з ( $21,60 \pm 0,20$ ) до ( $19,60 \pm 0,20$ ) с ( $p < 0,001$ ), забій через 3 години і до ( $16,90 \pm 0,20$ ) с ( $p < 0,001$ ), коли забій проводили через 15 годин, зниження активності антитромбіну III з ( $88,60 \pm 0,70$ ) % до ( $68,0 \pm 0,60$ ) % ( $p < 0,001$ ), забій через 3 години і до ( $42,40 \pm 0,7$ ) % ( $p < 0,001$ ), коли забій проводили через 15 годин.

Зміни в системі гемостазу були більш виражені в групі тварин, забій яких проводили через 15 годин після введення новодріну, і це, очевидно, обумовлено більшим попаданням в кровообіг прокоагулянтів із пошкодженої серцевої тканини, що, безсумнівно, викликане більш інтенсивною активацією вільнорадикального окислення ліпідів.

Введення кордіаліну в дозі 1 мг на кг ваги через 5 хвилин після введення новодріну сприяло зменшенню процесів перекисного окислення ліпідів, як в крові, так і тканині міокарда на фоні збільшення активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази і каталази.

Поліпептид, що вивчається, проявляє регулюючу дію на систему згортання крові, усуваючи явища гіперкоагуляції (подовження часу рекальцифікації, тромбінового і протромбінового часу), збільшуючи активність антитромбіну III і нормалізуючи

фібріноліз. Введення кордіаліну при новодріновому некрозі міокарда викликає зростання рівня імунореактивного інсуліну, тироксину і трийодтиронину в сироватці крові і сприяє зниженню процесу пероксидації в організмі, що співпадає з даними інших авторів (Абрамова Ж. И., Оксенгендлер Г. И., 1986).

Таким чином, введення кордіаліну при новодріновому некрозі міокарда сприяло зниженню рівня вільнорадикального окислення ліпідів в крові і тканинах міокарда, підвищенню антиоксидантного захисту організму, нормалізації системи згортання крові, а також поліпшення загальної структури міокарда при гістологічному дослідженні.

#### 2. 4. Ішемія міокарда.

При 60-хвилинній ішемії міокарда у щурів в крові нами виявлені очевидні ознаки активації перекисного окислення ліпідів: збільшення рівня ТБК-активних продуктів як до інкубації з  $(13,50 \pm 0,10)$  мкмоль/л до  $(16,20 \pm 0,15)$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ), так і після 1,5-годинної інкубації з  $(17,39 \pm 0,20)$  мкмоль/л до  $(23,20 \pm 0,30)$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ), дієнових кон'югатів з  $(38,80 \pm 0,09)$  ммоль/л до  $(44,38 \pm 0,20)$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ), перекисної резистентності еритроцитів з  $(10,29 \pm 0,20)$  % до  $(14,50 \pm 0,20)$  % ( $p < 0,001$ ) на фоні зниження активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази і каталази.

При проведеній нами перев'язці коронарної артерії у щурів відбувається зниження кровообігу в міокарді. Проте в цих випадках достатньо кисню для ініціації процесів перекисного гемолізу еритроцитів.

Так, нами виявлені надто виражені зміни процесів перекисного окислення ліпідів в тканинах міокарда, про що свідчить збільшення приросту ТБК-активних продуктів за 1,5 години інкубації з  $(12,20 \pm 2,0)$  мкмоль/кг до  $(76,60 \pm 1,16)$  мкмоль/кг ( $p < 0,001$ ) на фоні зниження активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази з  $(0,90 \pm 0,03)$  од. активності до  $(0,61 \pm 0,01)$  од. активності ( $p < 0,001$ ) і каталази з  $(1,29 \pm 0,03)$  нмоль  $H_2O_2$ / мин до  $(0,80 \pm 0,01)$  нмоль  $H_2O_2$ / мин ( $p < 0,001$ ). Варто відзначити, що активація перекисного окислення ліпідів, яка поєднується зі зниженням активності антиоксидантних ферментів, може відіграти певну роль у розширенні зони некрозу міокарда.

Ішемія міокарда у щурів супроводжувалась також явищем гіперкоагуляції: зменшення часу рекальцифікації з  $(60,0 \pm 0,20)$  с до  $(49,70 \pm 0,30)$  с ( $p < 0,001$ ), тромбінового часу з  $(26,80 \pm 0,20)$  с до  $(21,90 \pm 0,20)$  с ( $p < 0,001$ ), протромбінового часу з  $(20,0 \pm 0,20)$  с до  $(17,90 \pm 0,20)$  с ( $p < 0,001$ ), активності анти-тромбіну III з  $(76,40 \pm 0,70)$  % до  $(59,60 \pm 0,60)$  % ( $p < 0,001$ ), поруч з цим спостерігався гіперфібрinolіз.

Отримані нами дані підтверджують точку зору більшості авторів про те, що при ішемії міокарда мають місце гемокоагуляційні порушення (Коняев Б. В., Яковлев В. Б., Авдеева Н. А., 1974; Григорьянц Р. А., Фирсов Н. Н., Гасилин В. С., 1978; Атрощенко Е. С., 1991). Зниження активності антитромбіну III, зареєстроване нами у тварин з ішемією міокарда, може свідчити про пригнічення резервних можливостей протизгортаючих механізмів. Зазначений тип реагування системи гемостазу належить до декомпенсованого 4 ступеня, при якому для відновлення функціонального стану системи гемостазу необхідно призначення корегуючої терапії (Павлищук С. А., 1978; Люсов В. А., Савенков М. П., 1988; Мягков И. И., Ясинская М. Я., Бадюк Р. А. и др. 1989; Потяженко М. М., Дудченко М. А., Казаков Ю. М. и др., 1991).

Концентрація гормону інсуліну при даній формі ішемії міокарда зменшувалась, знижувався рівень тироксину і трийодтиронину.

При гістологічному дослідженні тканини міокарда нами виявлені зміни, характерні для некрозу м'язевих волокон.

При дослідженні впливу кордіаліну на показники, що вивчалися, при 60-хвилинній ішемії, виявили властивість кордіаліну зменшувати процеси перекисного окислення ліпідів як у крові, так і тканині міокарда.

Поліпептид, що вивчався, проявив також регулюючий вплив на систему згортання крові, усуваючи явища гіперкоагуляції і нормалізуючи фібрinolіз. Цей факт співвідноситься з даними, отриманими в нашій лабораторії, і підтверджує існування кореляції між вмістом продуктів перекисного окислення ліпідів і станом згортання крові.

Введення кордіаліну сприяло також збільшенню кількості імунореактивного інсуліну і зростанню вмісту тиреоїдних гормонів до рівня контрольних тварин.



Динаміка гемостазіологічних і біохімічних показників відповідала позитивним змінам у морфологічній структурі тканини міокарда. Таким чином, властивість кордіаліну одночасно нормалізувати процеси перекисного окислення ліпідів, антиоксидантну систему організму, гемостаз і фібрinolіз в експерименті може бути предметом вивчення при лікуванні захворювань серця у людини. Антикоагуляційний ефект препарату дозволяє зберегти кров в рідкому стані, відвернути вживання факторів коагуляції і тим самим покращити мікроциркуляцію в пошкодженому органі і в організмі в цілому. Завдяки нормалізації процесів перекисного окислення ліпідів при введенні кордіаліну запобігається пошкодження клітинних мембран, що підтверджується покращенням структури кардіоміоцитів при гістологічному дослідженні.

Проведені експерименти свідчать про те, що регуляторні цитомедіни втручаються в метаболізм пошкоджених клітин, нормалізуючи їх функцію. При патології синтез ендогенних регуляторів в клітині, очевидно, обмежений, тому введення їх із зовні має виражений терапевтичний ефект.

Важливою властивістю природних регуляторів є їх можливість давати ефект у низьких концентраціях, а також їх висока специфічність і селективність дії. Пептиди не накопичуються в організмі, не мають токсичності, а продукти їх метаболізму — амінокислоти, аналогічні тим, які утворюються при розщепленні харчових білків (Амарин І. П., 1982; Бахарев В. Д., 1989; Mortiner I.L., Tensen R. A., Messing R. B. et al., 1981). Суттєво те, що найефективніші лікарські препарати можуть бути створені саме на основі структури і механізму дії природних регуляторів фізіологічних і біохімічних процесів (Кругликов Р. И., 1981; Чазов Е. И., 1986; Яковлев Г. М., Морозов В. Г., Хавинсон В. Х., 1982).

Усі представлені дані дозволяють припустити, що надалі кордіалін знайде широке застосування при самих різноманітних захворюваннях серцево-судинної системи, що супроводжуються активацією вільнорадикального окислення ліпідів, порушеннями в системі гемостазу, неспецифічної резистентності організму.

## ВИСНОВКИ

1. Цитомедин кордіалін в дослідях *in vitro* не впливає на вільнорадикальне окислення ліпідів, фізіологічну антиоксидантну систему і гемостаз.

2. При введенні кордіаліну інтактним тваринам в дозі 1 мг на кг ваги протягом 5 днів знижується концентрація вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів, відбувається уповільнення процесу згортання крові і гальмування фібрінолізу. Менш виражений ефект спостерігається при одноразовому введенні кордіаліну.

3. При відтворенні гострого емоційно- больового стресу відбувається активація вільнорадикального окислення ліпідів, зменшення активності антиоксидантних ферментів, як у крові, так і в тканинах міокарда, а також порушення в системі гемостазу (гіперкоагуляція). Кордіалін пригнічує реакції вільнорадикального окислення ліпідів, виступає як модулятор антиоксидантної системи як у крові, так і у тканинах міокарда.

4. При неповній частковій ішемії міокарда, новодріновому його некрозі, експериментальному аутоімунному міокардиті в тканинах міокарда виявлена активація вільнорадикального окислення ліпідів, пригнічення антиоксидантного захисту, виявлені морфологічні пошкодження. Кордіалін нормалізував зазначені зрушення в тканинах міокарда.

5. У крові, при описаних експериментальних дослідженнях, спостерігаються однотипні зрушення: активація вільнорадикального окислення ліпідів, зниження фізіологічного антиоксидантного захисту, гіперкоагуляція, активація фібрінолізу, а також зміни концентрації інсуліну, тироксину, трийодтиронину. Кордіалін нормалізував зазначені зміни.

6. Кордіалін після його клінічного дослідження може найти широке використання в клінічній медицині при лікуванні серцево-судинних захворювань, які супроводжуються пошкодженням структур міокарда в зв'язку з активацією перекисного окислення ліпідів і гемостазу.

## ПЕРЕЛІК РОБІТ, НАДРУКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Вплив пептиду кордіаліну на показники перекисного окислення ліпідів і згортання крові. // Розвиток фізіології в Українській РСР за 1986—1990 роки. Зб. матеріалів XIII з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. І. П. Павлова. — Харків, 1990. — С. 55, Т. 2.

2. Влияние пептида кордиалина на состояние перекисного

окисления липидов и гемостаз при экспериментальном инфаркте миокарда // Регуляторные пептиды в норме и патологии (Цитомедины).— Сб. научн. трудов под редакцией проф. Кузника Б. И. — Чита, 1991. — С. 42.

3. Влияние пептида кордиалина на показатели перекисного окисления липидов и свертывание крови // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. Тезисы докладов.— Полтава, 1990.— С. 28.

4. Влияние кордиалина на течение свободнорадикальных процессов и уровень антиоксидантных ферментов в различных тканях крыс // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. Тезисы докладов межвузовской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов.— Полтава, 1990.— С. 33.

5. Влияние полипептидов на состояние перекисного окисления липидов, активность антиоксидантных ферментов в норме и при экспериментальных воздействиях // Поиск новых лекарственных средств и их использование в клинике. Тезисы докладов научно-практической конференции.— Чита, 1990.— С. 41—42. (соавторы В.П. Мищенко, Ю. И. Силенко, Н. В. Литвиненко и др.).

6. Влияние пептида кордиалина на состояние перекисного окисления липидов в ткани сердца при экспериментальном инфаркте миокарда // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. Тезисы 7-й Всесоюзной конференции молодых ученых, посвященной 70-летию ПМСИ.— Полтава, 1991.— С. 62 (соавтор А. С. Фадеева).

7. Влияние кордиалина на течение свободнорадикальных процессов и уровень антиоксидантных ферментов в различных тканях крыс при воспроизведении острого эмоционально-болевого стресса // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. Тезисы 7-й всесоюзной конференции молодых ученых, посвященной 70-летию ПМСИ.— Полтава, 1991.— С. 63.

8. Состояние эритроцитарного и плазменного звеньев гемостаза при остром стрессе и их коррекция полипептидом кордиалином // Стресс, адаптация и дисфункция. Тезисы 4-го Всесоюзного симпозиума.— Кишинев, 1991.— С. 178 (соавторы В. П. Мищенко, Л. Э. Лысенко).

9. Регуляция пептидами свободнорадикальных и гемостатических реакций в организме // Физиология и патология гемостаза. Тезисы Всесоюзной конференции.—

Полтава, 1991.— С. 35—36 (соавторы В. П. Мищенко, Н. Н. Грицай, Н. В. Литвиненко и др.).

10. Влияние препарата сердца на свободнорадикальное окисление липидов и свертывание крови при новодриновом некрозе миокарда // Международный симпозиум. Пептидные биорегуляторы — цитомедины. Санкт-Петербург.— 1992.— С. 111—112.

11. Состояние тканевого звена системы гемостаза при активации перекисного окисления липидов и его коррекции антиоксидантами и пептидами // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. Тезисы докладов межвузовской научно-практической конференции молодых ученых.— Полтава, 1992.— С. 56—57 (соавторы В. К. Пархоменко, И. П. Кайдашев).

12. Регуляция пептидом кордиалином свободнорадикальных реакций и антиоксидантной защиты организма при остром эмоционально-болевым стрессе // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. Тезисы докладов межвузовской научно-практической конференции молодых ученых.— Полтава.— 1992.— С. 105.

13. Структурно-функциональные изменения миокарда крыс при экспериментальном инфаркте миокарда и коррекция их пептидом кордиалином // Там же. — С. 106—107 (соавторы М. Ю. Жукова, В. Ф. Павленко).

14. Влияние полипептида кордиалина на состояние перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы и гемостаза при различных экспериментальных моделях патологии сердечно-сосудистой системы // Биорегуляция и биоэнергетика (традиционная и альтернативная медицина на службе здоровья). Сб. научных работ сотрудников Полтавского медицинского стоматологического института. 1993.— С. 12.

15. Влияние цитомедина кордиалина на свободнорадикальное окисление липидов и свертывание крови при экспериментальном аутоиммунном миокардите // Там же.— С. 13.

16. Регуляция полипептидом кордиалином свободнорадикальных реакций и активности антиоксидантных ферментов в тканях миокарда при экспериментальном аутоиммунном миокардите // Там же.— С. 14.