

УДК 615.015.001.5:616.127-005.8:611-018.5

ОЦІНКА ПРОТИШЕМІЧНОЇ ДІЇ АДЕМОЛУ ЗА МОРФОМЕТРИЧНИМИ ЗМІНАМИ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА

О.А.Ходаківський, С.В.Павлов*, Н.В.Бухтіярова*

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова
Запорізький державний медичний університет*

Ключові слова: адемо́л; інфаркт міокарда; кардіопротекція

ESTIMATION OF ANTI-ISCHEMIC EFFECT OF ADEMOL BY MORPHOMETRIC CHANGES UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL MYOCARDIAL INFARCTION

O.A.Khodakivsky, S.V.Pavlov*, N.V.Buchtiyarova*

*Vinnitsa National Medical University named after M.I.Pirogov, Zaporizhzhia State Medical University**

Key words: ademol; myocardial infarction; cardioprotection

It has been found in the experiments in rats that the model focal myocardial infarction (3 days introduction of a coronary spastic agent pituitrin (1 U/kg) and then intramuscular introduction of β -adrenomimetic isoprenaline (isadrin), 200 mg/kg intramuscular) is accompanied with increase of the area of cardiomyocytes nuclei and at the same time with decrease of their density and concentration of nucleic acids in them. Similar changes are characterized by the presence of focal areas of the ischemic myocardium, in which death of cells occur by necrosis type. On the background of the experimental therapy of rats by derivatives of adamantan 1-adamantiloxy-3-morfolino-2 propanol (under the conventional name of ademol, 10 mg/kg intraperitoneally) the density of cardiomyocytes nuclei remains and the area of cardiomyocytes nuclei decreases due to prevalence of binuclear cells. The changes mentioned promote preservation of morphofunctional characteristics of cardiomyocytes. These properties of ademol testify about its cardioprotective effect.

Кардіоміоцити дорослих ксавців (у тому числі людини) є високо диференційованими клітинами, спеціалізованими для виконання скоротливої функції [1, 11]. У той же час, при дії ішемічного чинника, наприклад в умовах інфаркту міокарда (ІМ), вони здатні досить швидко модулювати свої морфофункціональні властивості за рахунок посилення або послаблення процесів внутрішньоклітинної реорганізації [8]. При цьому репарація відбувається шляхом регенерації без збільшення кількості клітин (поліплоїдія). Поліплоїдизація є різновидом проліферації, при якій мітотичний цикл відбувається не до кінця. Цей процес поряд зі збільшенням «доз» генів може підвищити транскрипційну, а також метаболічну активність у поліплоїдних клітинах [2, 7]. Мультиплікація геному сприяє

диференціюванню клітин як частини програми їх розвитку, а множинні генні копії можуть мати велике захисне значення при фрагментації ДНК (еквівалент апоптозу) [9]. Крім того, поліплоїдизація не потребує реорганізації цитоскелету та може сприяти більш швидкому росту кардіоміоцитів (компенсаторній гіпертрофії) [6, 10].

Пошук нових потенційних кардіопротекторів із коригувальним впливом на морфофункціональний стан кардіоміоцитів у ранньому періоді ІМ є актуальною задачею фармакології. Однією з таких перспективних сполук, на нашу думку, може стати похідне адамантану 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанол гідрохлорид (умовна назва «Адемо́л»). За даними попередніх досліджень адемо́л володіє захисною дією на ішемізований міокард [3]. Мета

дослідження – охарактеризувати вплив адемо́лу на мікроморфометричні зміни в кардіоміоцитах у ранньому періоді модельного дрібновогнищевого ІМ.

Матеріали та методи

Досліди проведені на білих щурах-самцях масою 160-170 г. Дрібновогнищевий ІМ моделювали шляхом введення протягом 3 діб коронароспастичного агента пітуїтрину (1 Од/кг) підшкірно, а потім – β -адреноміметика ізопреналіну (ізадрину, 200 мг/кг внутрішньом'язово). Адемо́л та препарат порівняння корвітин вводили також протягом 3 діб в однаковій дозі 10 мг/кг внутрішньоочеревинно (в/о) через 20 хв після введення ізадрину [4]. Після завершення досліду на 4-ту добу після початку моделювання ІМ тварин виводили з експерименту шляхом передозування тіопенталу натрію. Для морфологічних досліджень брали верхівку серця та після 24 год фіксації у 10% нейтральному формаліні за стандартною методикою

О.А.Ходаківський – канд. мед. наук, доцент кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова

С.В.Павлов – канд. біол. наук, старший викладач кафедри фармакології Запорізького державного медичного університету

Таблиця

**Морфофункціональна характеристика кардіоміоцитів щурів
на 4-ту добу пітуїтрин-ізадринового інфаркту міокарда на тлі лікувального
введення адемола та корвітину (M±m, n=10)**

Показники	Інтактна група	ІМ + 0,9 % NaCl (контрольна група)	ІМ + адемола (10 мг/кг в/о)	ІМ + корвітин (10 мг/кг в/о)
Площа ядер, мкм ²	12,030±0,042	17,230±0,483* (+43,2 %)	13,990±0,166**^ (+16,3 %) [-18,9 %]	17,890±0,149* (+48,7 %) [+3,8 %]
Щільність ядер на 1 мм ²	9116,9±65,23	7627,2±57,52* (-16,3 %)	9303,8±37,78#^ (+2,1 %) [+22,0 %]	8085,0±49,25** (-11,3 %) [+6,0 %]
Концентрація НК в ядрах, ОД _{ощ}	0,272±0,001	0,217±0,001** (-20,2 %)	0,256±0,001**^ (-5,9 %) [+18,0 %]	0,224±0,001** (-17,7 %) [+3,2 %]

Примітки:

- 1) ІМ – інфаркт міокарда, в/о – внутрішньоочеревинно, НК – нуклеїнові кислоти; ОД_{ощ} – одиниці оптичної щільності;
- 2) * – p<0,05 відносно відповідного показника інтактних щурів;
- 3) # – p<0,05 відносно відповідного показника контрольної групи;
- 4) ^ – p<0,05 відносно відповідного показника групи корвітину;
- 5) У круглих дужках – зміна (%) відносно показника інтактних тварин, у квадратних дужках – відносно показника контрольної групи.

заливали у парафінні блоки, з яких готували 5-мікронні гістологічні зрізи різних ділянок міокарда. Для вивчення морфофункціонального стану міокарда зрізи депарафінували за стандартною методикою та забарвлювали галоціанін-хромовими квасцями за Ейнарсоном для специфічного виявлення нуклеїнових кислот (НК). Зображення кардіоміоцитів отримували на мікроскопі Axioskop (Zeiss, Німеччина) та за допомогою 8-бітної CCD-камери COHU-4922 (COHU Inc, США) вводили в комп'ютерну систему аналізу зображень VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Морфометричний аналіз кардіоміоцитів проводили в автоматичному режимі за допомогою макропрограми, розробленої у спеціалізованому середовищі програмування VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина).

Визначали середню площу ядер кардіоміоцитів (мкм²), їхню щільність (кількість ядер на 1 мм² площі міокарда) та концентрацію НК в ядрах (одиниці оптичної густини, E_{ощ}), яку розраховували, як логарифм відношен-

ня оптичної густини ядра до оптичної густини міжклітинної речовини [4]. Результати обробляли статистично за допомогою програми Statistika 6.0, використовуючи t-критерій Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Триденне введення пітуїтрину в комбінації з ізадринном супроводжувалось вірогідним по відношенню до інтактних тварин збільшенням площі ядер кар-

діоміоцитів (у середньому на 43,2%) поряд зі зменшенням їх щільності (у середньому на 16,3%) та концентрації в них РНК (у середньому на 20,2%) (табл., рис. 1 та 2).

Зазначені зміни характеризують наявність дрібних вогнищ ішемізованого міокарда, в яких за рахунок довготривалої ішемії загибель кардіоміоцитів відбувалась за некротичним типом (цей процес віддзеркалюється у зменшенні показника

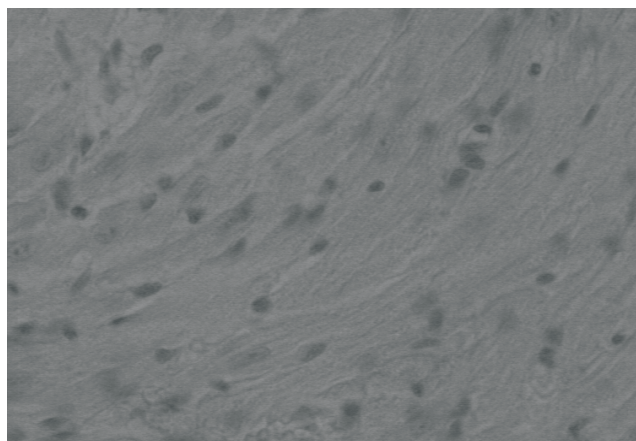


Рис. 1. Міокард лівого шлуночка інтактного щура. Відсутність поліплоїдних кардіоміоцитів та клітин з явищами каріопікнозу, каріорексису та цитолізу. Усі клітини в площині зрізу містять ядрець. × 600, забарвлення за Ейнарсоном

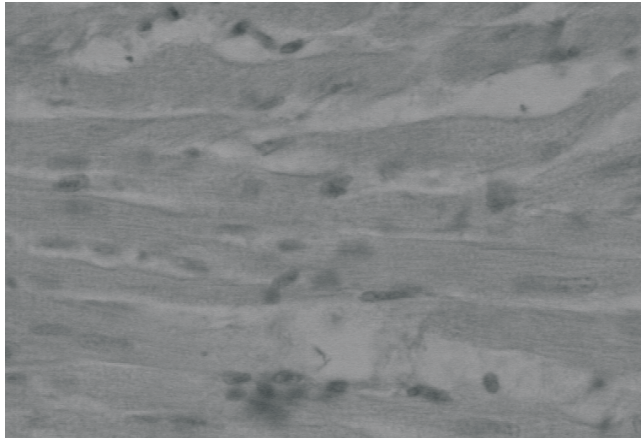


Рис. 2. Міокард лівого шлуночка щура з дрібновогнищевим пітуїтрин-ізадриним інфарктом без лікування (контрольна група). Поява багатоядерних кардіоміоцитів, збільшення площі їх ядер при одночасному зменшенні щільності клітин. Наявні морфологічні порушення окремих міофібрил поряд із дрібними вогнищами ішемії. $\times 600$, забарвлення за Ейнарсоном

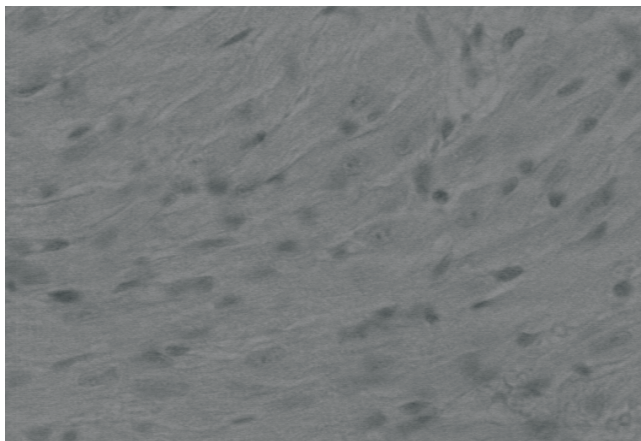


Рис. 3. Міокард лівого шлуночка щура з дрібновогнищевим пітуїтрин-ізадриним інфарктом на тлі курсової терапії адемолом, 10 мг/кг внутрішньоочеревинно (4-та доба). Збереження морфологічної організації міофібрил, зменшення кількості поліплоїдних ядер та їх площі поряд зі збереженням щільності клітин. $\times 600$, забарвлення за Ейнарсоном

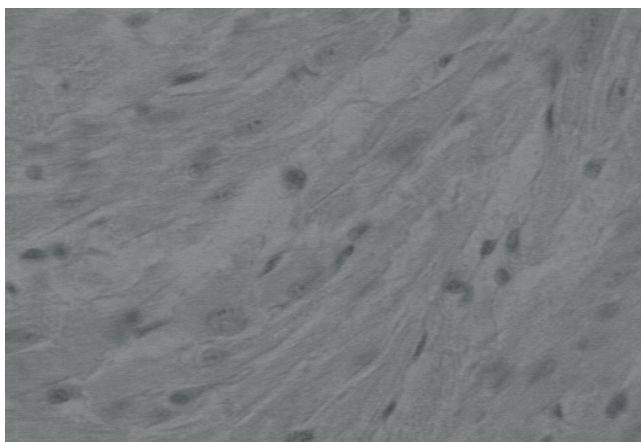


Рис. 4. Міокард лівого шлуночка щура з дрібновогнищевим пітуїтрин-ізадриним інфарктом на тлі курсової терапії корвітином, 10 мг/кг внутрішньоочеревинно (4-та доба). Збереження морфологічної організації окремих міофібрил, зменшення кількості поліплоїдних ядер та їх площі поряд зі збереженням щільності клітин. $\times 600$, забарвлення за Ейнарсоном

щільності їх ядер). В ядрах тих кардіоміоцитів, що знаходились в перехідній зоні з мінімальним кровопостачанням, очевидно, мав місце розвиток компенсаторної поліплоїдії, на що вказувало збільшення площі ядер. Лікувальне введення адемолу супроводжувалось збереженням щільності ядер (вона достовірно не відрізнялася від такої у групі інтактних щурів) разом із вірогідним зменшенням їх площі відносно контролю (в середньому на 18,9%) та підвищенням вмісту в них НК (в середньому на 18,0%) (див. табл., рис. 1, 3).

Збереження щільності ядер в осередку ішемічних вогнищ могло відбуватись, по-перше, за рахунок трансформації некрозу в апоптоз і, по-друге, за рахунок компенсаторної поліплоїдизації як самих кардіоміоцитів, що перебувають на ранніх, умовно-зворотних стадіях апоптозу, так і за рахунок оточуючих клітин (поява двоядерних кардіоміоцитів). У перифокальних ділянках щільність кардіоміоцитів, можливо, підвищилась за рахунок синтезу антиапоптотичних білків, що дозволило відновити морфологічну структуру та функціональну активність цих клітин, про що свідчило збільшення концентрації НК в їх ядрах.

Експериментальна терапія щурів із дрібновогнищевим ІМ референс-препаратом мала подібний за спрямованістю, але менший кардіопротекторний ефект. Так, лікувальне введення корвітину не сприяло зменшенню площі ядер кардіоміоцитів порівняно з контрольною групою щурів. Це може бути свідченням розвитку компенсаторної поліплоїдії за рахунок трансформації некротичного типу загибелі нейронів в апоптотичний. При цьому гальмування апоптозу на ранніх стадіях створило умови для реалізації поліплоїдії та появи клітин з двома ядрами (див. табл., рис. 1 та 4). Додатковим доказом перебігу в цих кардіоміоцитах біосинтетичних

процесів було вірогідне підвищення концентрації в них НК відносно контрольних тварин у середньому на 3,2%. За рахунок зазначених функціональних змін у метаболізмі кардіоміоцитів їх щільність зменшилась відносно інтактних щурів лише на 11,3% ($p < 0,05$).

Отже, адемола (10 мг/кг в/о) виявляє виразні кардіопротекторні властивості на моделі пітуїтрин-ізадринного ІМ. На нашу думку, при формуванні дрібновогнещого ІМ на тлі адемола відбувається трансформація морфологічного виду загибелі кардіоміоцитів з некротичного на більш «м'який» апоптотичний. Одночасно в зоні ішемії відбувається гальмування апоптозу, що дозволяє зберег-

ти щільність ядер. Має місце також зменшення їх питомої площі за рахунок переважання двоядерних клітин, що певним чином пов'язано із підвищенням вмісту НК і супроводжується підвищеною транскрипційною активністю. Ці зміни є підґрунтям для зменшення кількості гібернованих кардіоміоцитів шляхом гальмування апоптотичних процесів і відновлення морфофункціональних характеристик, що сприяє збереженню скоротливості серця. За захисним впливом на ішемізований міокард адемола не тільки не поступається, а й подекуди перевершує референс-препарат.

ВИСНОВКИ

1. Досліджуваний модельний пітуїтрин-ізадринний інфаркт

міокарда супроводжується збільшенням площі ядер кардіоміоцитів поряд зі зменшенням їх щільності та концентрації в них нуклеїнових кислот, що свідчить про переважання процесів некрозу у вогнищі ішемії.

2. Оригінальне похідне адамантану 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанол (умовна назва «Адемола») сприяє збереженню щільності ядер, вмісту в них нуклеїнових кислот поряд зі зменшенням їх площі за рахунок переважання двоядерних клітин, вірогідно перевершуючи корвітин, що свідчить про збереження морфофункціональних характеристик кардіоміоцитів.

3. Адемола можна вважати перспективним кардіопротектором.

ЛІТЕРАТУРА

1. Виноградов А.Е., Анацкая О.В. // *Цитол.* – 2010. – Т. 52, №1. – С. 52-62.
2. Гаман Д.В., Кононенко Н., Губина-Вакулик Г.И. и др. // *Укр. біофармац. журн.* – 2011. – №5 (16). – С. 16-20.
3. Ходаківський О.А. // *Вісник морфол.* – 2010. – Т. 16, №3. – С. 564-568.
4. Чекман И.С., Колесник Ю.М., Мазур И.А. и др. // *Запорожский мед. журн.* – 2010. – Т. 12, №5. – С. 198-201.
5. Шляхто Е.В., Бокерия Л.А., Рыбакова М.Г. и др. // *Цитол.* – 2007. – Т. 49, №10. – С. 817-823.
6. Chudinovskikh J., Ereemeeva M., Suhachova T. et al. // *Clin. Res. Cardiol.* – 2010. – Vol. 99, Suppl. 2. – P. 386.
7. Favaloro B., Allocati N., Graziano V. et al. // *Aging.* – 2012. – Vol. 4, №5. – P. 330-349.
8. Gucek M., Murphy E. // *Cardiovascular Res.* – 2010. – Vol. 88. – P. 211-218.
9. Knight R.A., Melino G. // *Cell Death Dis.* – 2011. – Vol. 2. – P. 202.
10. Liang H.L., Sedlic F., Bosnjak Z. et al. // *Free Radical Biol. and Medicine.* – 2010. – Vol. 49, №10. – P. 1550-1560.
11. Waring P., Kos F.J., Mullbacher A. // *Med. Res. Rev.* – 2008. – №11. – P. 219-236.

ОЦІНКА ПРОТИШЕМІЧНОЇ ДІЇ АДЕМОЛУ ЗА МОРФОМЕТРИЧНИМИ ЗМІНАМИ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА

О.А.Ходаківський, С.В.Павлов*, Н.В.Бухтіярова*

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова, Запорізький державний медичний університет*

Ключові слова: адемола; інфаркт міокарда; кардіопротекція

У досліді на щурах встановлено, що модельний дрібновогнещевий інфаркт міокарда (триденне підшкірне введення коронаростапичного агента пітуїтрину (1 Од/кг), а потім β-адреноміметика ізопреналіну (ізадрину), 200 мг/кг внутрішньом'язово) супроводжувався збільшенням площі ядер кардіоміоцитів поряд зі зменшенням їх щільності та концентрації в них нуклеїнових кислот. Зазначені зміни характеризують наявність дрібних вогнищ ішемізованого міокарда, в яких загибель кардіоміоцитів відбувалась за некротичним типом. На тлі експериментальної терапії щурів з інфарктом міокарда похідним адамантану 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолом (умовна назва «Адемола», 10 мг/кг внутрішньоочеревинно) зберігалася щільність та зменшувалася площа ядер кардіоміоцитів за рахунок переважання двоядерних клітин. Зазначені зміни сприяють збереженню морфофункціональних характеристик кардіоміоцитів. Такі властивості адемола свідчать про наявність у нього кардіопротекторної дії.

ОЦЕНКА ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АДЕМОЛА ПО МОРФОМЕТРИЧЕСКИМ ИЗМЕНЕНИЯМ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА**А.А.Ходаковский, С.В.Павлов*, Н.В.Бухтиярова*****Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И.Пирогова, Запорожский государственный медицинский университет*****Ключевые слова:** адемола; инфаркт миокарда; кардиопротекция

В опытах на крысах установлено, что модельный мелкоочаговый инфаркт миокарда (трёхдневное введение коронароспастического агента питуитрина (1 Ед/кг), а затем β -адреномиметика изопреналина (изадрина), 200 мг/кг внутримышечно) сопровождался увеличением площади ядер кардиомиоцитов наряду с уменьшением их плотности и концентрации в них нуклеиновых кислот. Подобные изменения характеризуют наличие мелких очагов ишемизированного миокарда, в которых гибель клеток происходит по типу некроза. На фоне экспериментальной терапии крыс производным адамантана 1-адамантилокси-3-морфолино-2-пропанолом (условное название «Адемола», 10 мг/кг внутривенно) сохранялась плотность и уменьшалась площадь ядер кардиомиоцитов за счет преобладания двуядерных клеток. Указанные изменения способствуют сохранению морфофункциональных характеристик кардиомиоцитов. Эти свойства адемола свидетельствуют о наличии у него кардиопротекторного действия.

Адреса для листування: 21018, м. Вінниця,
вул. Пирогова, 56. Тел. (98) 791-05-33.
E-mail: aleksey.hodakovskiy@bk.ru
Вінницький національний медичний університет
ім. М.І.Пирогова

Надійшла до редакції 10.01.2013 р.