

on the weight of animals from 11 to 19 days of pregnancy pharmaceutical composition. Groups 7 and 8 – young and mature animals with experimental FPI, to which was added to the food comparison drug – dipyridamole. Modeling of FPI was performed by daily subcutaneous injection to females from the 12th to the 18th day of pregnancy 50% oil solution of carbon tetrachloride at a dose of 2 ml/kg body weight.

Sexual behavior was studied in adult male offspring, and serum samples were taken during decapitation to determine estradiol and testosterone concentrations.

FPI leads to hormonal imbalance in the perinatal period of individual development of the organism and causes a significant modifying effect on the formation of neuroendocrine mechanisms of behavior regulation. The study found that animals born to reproductively mature and young females with FPI have disorders at the central and peripheral levels of regulation, while the concentration of testosterone is reduced and relative hyperestrogenism is detected. Significantly reduces the number of males who completed their sexual intercourse with ejaculation, increases the temporal behavior but decreases in quantity.

A positive correction of the pharmaceutical composition on the number of animals that completed their sexual intercourse by ejaculation, but the temporal and quantitative indicators of sexual behavior and low testosterone levels in males remained at the level of pathology.

Key words: fetoplacental insufficiency, sexual behavior, mother's age, pharmaceutical composition.

Рецензент – проф. Небесна З. М.

Стаття надійшла 29.09.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-4-158-78-83

УДК 615.361:615.451.1:611.12]:57.086.13:616.12-005.8-092.9

Чиж М. О., Бабаєва Г. Г., Рогоза Л. А., Гальченко С. Є.

ЕКСТРАКТ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕРЦЯ ПОРОСЯТ ЯК РЕГУЛЯТОР СТАНУ СЕРЦЕВОГО М'ЯЗА ЩУРІВ НА МОДЕЛІ НЕКРОЗУ МІОКАРДА

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків)

n.chizh@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана в рамках наукової роботи Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України «Визначення пептидного складу сироватки крові при ішемії і некрозі міокарда та під час ремодуляції серця», державний реєстраційний номер роботи 0117U000851.

Вступ. За даними Національної статистики ЄС у 2017 р в 54 країнах-членах ЄС 108,7 мільйонів людей хворіють на серцево-судинні захворювання. Середня стандартизована за віком поширеність цих захворювань на 100 тис. жителів кожної країни становить 6595 чоловік [1]. Однією з найважливіших проблем сучасної кардіології є ішемічна хвороба серця (ІХС). Поширюваність цієї патології швидко збільшується, а висока летальність обумовлена одним з її грізних ускладнень – інфаркту міокарда (ІМ).

Лікування та вторинна профілактика ІМ включає в себе комплекс заходів, в тому числі медикаментозну терапію, зокрема, застосування антиангінальних, кардіопротекторних, а при необхідності також протиаритмічних засобів та ін. [2]. Тривале застосування такого роду препаратів призводить до звикання та можливих побічних реакцій, що погіршує стан пацієнтів. Крім того, при ІХС в серцевому м'язі відмічається низька здатність до проліферації кардіоміоцитів, що сприяє прогресуванню захворювання. Тому в теперішній час здійснюються спроби відновлення пошкодженого міокарда шляхом застосування препаратів біологічного походження, які здатні стимулювати репаративну регенерацію [3,4]. З літературних даних відомо, що в навіть у дорослому серці є власні стовбурові клітини і клітини-попередники серцевих міоцитів. Їх кількість може зростати при гострому і, в меншій мірі, при хронічному пошкодженні серця [5]. Отже, проблема стимуляції репаративної регенерації міокарда після

перенесеного ІМ актуальна і вимагає поглиблених експериментальних і клінічних досліджень.

В останні десятиліття значно зріс інтерес до використання регуляторних пептидів при лікуванні різних захворювань, в тому числі і при ІМ [6]. Нами було показано, що використання кріобіологічних технологій дозволяє отримати екстракти фрагментів органів свиней і поросят з високою біологічною активністю. Їх дія проявляється в стимуляції процесів репаративної регенерації при експериментальних патологіях відповідних органів, яка пов'язана з наявністю в екстрактах регуляторних пептидів. До властивостей екстрактів, отриманих з кріоконсервованих фрагментів органів слід зазначити їх органоспецифічність та видонеспецифічність [7].

Мета досліджень. Охарактеризувати вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСцП) на електрокардіографічні показники, ВСР та на пептидний склад сироватки крові щурів з експериментальним некрозом міокарда (НМ).

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження було проведено на 63 безпородних білих щурах, віком 9 місяців. Експерименти проведені за регламентом, затвердженим Комітетом з біоетики ІПКіК НАН України, який було розроблено відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», схвалених III Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2007) і узгоджених з положеннями «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, Франція, 1986).

Некроз міокарда відтворювали шляхом локального кровопливу на передньо-бокову поверхню серця під час торакотомії в 3-4 міжребір'ї зліва. Діаметр аплікатора складав 3 мм, експозиція – 15 с [8].

Експериментальні тварини були розподілені на дві групи. Тваринам дослідної групи (НМ+ ЕСцП), яка

складала 28 щурів, після моделювання НМ вводили ЕСЦП в черевну порожнину один раз на добу об'ємом 1 мл протягом усього експерименту. Доза пептидів становила 50 мкг на 100 г маси тварини. Щурам контрольної групи на тлі НМ (28 тварин) вводили 1 мл фізіологічного розчину. Групу норми склали 7 щурів.

Реєстрацію ЕКГ проводили протягом 5 хв на апаратно-програмному комплексі «Полі-Спектр 8/В» з використанням програмного забезпечення «Полі-Спектр-Ритм» версії 4.8 («Нейрософт», Росія) в стандартних (I, II, III) і додаткових (avL, avR і avF) відведеннях на 1, 7, 14 та 30 добу [9]. Параметри спектрального аналізу ВСР у щурів відповідали раніше встановленим: TP (0,015-3 Гц); VLF (0,015-0,04 Гц); LF (0,05-0,79 Гц); HF (0,8-3 Гц) [10]. По ЕКГ визначали частоту серцевих скорочень (ЧСС) за хвилину та проводили контурний аналіз. З показників ВСР обчислювали: SDNN – стандартне відхилення тривалості RR інтервалів та спектральні компоненти ВСР.

Серця новонароджених поросят, яких доставляли з агрокомбінату «Слобожанський» Чугуєвського району Харківської області отримували в операційній віварію ІПКіК НАН України. Одержання кріоконсервованих фрагментів сердець проводили згідно роботи С.Є. Гальченка та співавторів [11].

Концентрацію пептидів визначали спектрофотометричним методом при довжинах хвиль 280 нм і 260 нм на спектрофотометрі «Perkin Elmer Lambda» («Perkin Elmer», США) [12].

Мас-спектрометричні дослідження пептидів в сироватці крові методом MALDI-ToF було проведено з використанням приладу MALDI MS Autoflex II (Bruker Daltonik GmbH, Німеччина), обладнаного азотним лазером з довжиною хвилі $\lambda = 337$ нм. Кожний спектр позитивних іонів отримували в лінійному режимі сканування, шляхом накопичення 100 одинарних спектрів із різних точок зразка (мішені), з прискоренням іонів до 20 кеВ. Енергія лазерного пучка становила 60-90% від повної його потужності. Час затримки аналізатора 180 нсек.

Сироватку крові змішували із матрицею та наносили на сталеву пластинку (підложку) за загально прийнятою методикою. Нанесення проводили за кімнатної температури до повної кристалізації зразків, із витримкою на повітрі не більше 10 хвилин. Для дослідження молекул пептидної природи використовували матрицю на основі синапової кислоти (sinapic acid – SA) (Fluka, Німеччина). Матрицю готували наступним чином: 12 мг SA розчиняли в 1 мл суміші вода-ізопропанол 1:1, потім до розчину додавали 0,1% трифтороцтової кислоти. В якості розчинника використовували деіонізовану воду, приготовану за допомогою приладу для очистки води EASYpure II (Thermo Scientific Barnstead Nanopure, США). Обробляли отримані спектри за допомогою програмного забезпечення mMass 3.0, що має відкритий доступ (mMass 3: A Cross-Platform Software 2010).

Співставлення отриманих даних проводили порівнюючи зареєстровані піки на мас-спектрах, що можуть відповідати окремим пептидним молекулам, із даними, що містяться в базі даних Protein Knowledgebase (UniProtKB) інтернет ресурсу Uniprot.org.

Для гістологічних досліджень серця тварин фіксували в 10%-му розчині нейтрального формаліну з подальшою заливкою в парафін. З парафінових блоків одержували зрізи тканини завтовшки 6-8 мкм. Мікро-

препарати забарвлювали гематоксиліном і еозинном. Дослідження та фотографування препаратів проводили на мікроскопі MEIJI Techno TC5200 («MEIJI Techno» Японія). Для обробки зображень з подальшим обчисленням площі перерізу по центру кріонекрозу та площі перерізу по центру паранекротичної зони використовували програму BioVision 4.0 («BioVision Technologies», USA).

Статистичну обробку результатів проводили використовуючи критерій Краскела-Уолліса за допомогою пакета програм STATISTICA 6.0 («StatSoft», USA).

Результати досліджень та їх обговорення. По результатам ЕКГ у щурів із групи норми і щурів перед операцією встановлено, що в них був правильний синусовий ритм, відсутні порушення провідності і не відбувалося змін в комплексі QRS-T.

На 1 добу після операції у тварин контрольної та дослідної групи на ЕКГ в I і avL відведеннях відзначали зниження амплітуди зубця R та появу зубця q, який дорівнював 1/4R. Сегмент ST був нижче ізолінії (депресія), що свідчило про порушення реполяризації шлуночків (фаза 2 потенціалу дії). Також визначали інверсію зубця T, що підтверджувало порушення швидкої реполяризації шлуночків (фаза 3) (табл. 1).

Електрокардіографічна картина, яка була зареєстрована на 1 добу в контрольній групі, зберігалася протягом усього терміну спостереження.

Таблиця 1 – Параметри ЕКГ щурів після локальної кріодеструкції серця (в I та avL відведеннях)

Групи	Термін спостереження, доба	Параметри		
		Амплітуда зубця q	Сегмент ST	Зубець T
Норма		$q < \frac{1}{4} R$	–	$T \leq \frac{1}{2} R$
(НМ)	1	$q = \frac{1}{4} R$	Депресія	Від'ємний
	7			
	14			
	30			
НМ+ ЕСЦП	1	$q = \frac{1}{4} R$	Депресія	Від'ємний
	7			
	14			
	30			
		$q < \frac{1}{4} R$	–	$T \leq \frac{1}{2} R$

Відновлення амплітуди зубця R у дослідній групі з введенням щурам ЕСЦП на тлі некрозу міокарда визначали на 7 добу. В відведенні I цей показник склав $0,10 \pm 0,03$ мВ, а в відведенні avL – зберігався сегмент ST на рівні $0,05 \pm 0,01$ мВ нижче ізолінії (рис. 1).

На 14 добу після введення ЕСЦП показники контурного аналізу практично не відрізнявся від показників норми. Амплітуда зубця q була значно менше R, в той час як амплітуда самого зубця R дорівнювала відповідному показнику в нормі ($0,14 \pm 0,03$ мВ).

Результати електрокардіологічного дослідження корелювали зі змінами в морфології серця. На 1 добу після кровопливу на серце відзначали зону некрозу, яка на поверхні епікарду повторювала розміри кріо-аплікатора, і за глибиною у тварин контрольної групи поширювалася до 1/2 товщини стінки міокарда, що підтверджувало формування у щурів субепікардального НМ. Площа перерізу по центру некрозу при введенні ЕСЦП була менше в 2,4 рази, а площа паранекротичної зони – менше в 3,6 рази відносно контрольної групи (табл. 2).

На 7 добу була чітко сформована демаркаційна лінія, яка відділяла зону запалення від неушкодженого міокарда. У тварин контрольної групи вогнища деструкції та запальної реакції характеризувалися руйнуванням пучків кардіоміоцитів, дилатацією судин і скупченням нейтрофілів. У щурів, яким вводили ЕСЦП, процес запалення був виражений менше. На цей строк спостереження у тварин піддослідної групи, крім лейкоцитарно-макрофагальної інфільтрації на гістологічних зрізах відзначали наявність фіброblastів та початок утворення пухкої сполучної тканини (рис. 2). Відмічалось зменшення площі перерізу по центру зони кріонекрозу в контролі (в 1,4 рази). При введенні ЕСЦП цей показник, порівняно з 1 добою, зменшувався в 2,5 рази. Площа паранекротичної зони в цей термін була меншою ніж в контролі в 1,6 рази.

На 14 добу зменшувалась площа перерізу по центру зони кріонекрозу у тварин, яким вводили ЕСЦП і була статистично достовірно менше порівняно з контролем.

На 30 добу експерименту в обох групах відмічали

Таблиця 2 – Морфометричні показники серця щурів після локальної кріодеструкції серця

Групи	Доба	Площа перерізу по центру кріонекрозу, мм ²	Площа перерізу по центру паранекротичної зони, мм ²
НМ	1	6,24±0,04	2,88±0,01
НМ+ЕСЦП		2,57±0,03 ¹	0,79±0,03 ¹
НМ	7	4,36±0,37	0,34±0,06
НМ+ЕСЦП		1,03±0,24 ¹	0,21±0,01 ¹
НМ	14	3,55±0,20	0,11±0,02
НМ+ЕСЦП		1,06±0,06 ¹	0,10±0,02
НМ	30	2,02±0,05	0,04±0,01
НМ+ЕСЦП		0,65±0,08 ¹	0,01±0,01 ¹

Примітка. 1 – відмінності статистично значимі порівняно з контролем, $p < 0,05$.

подальше дозрівання сполучної тканини та формування рубця. У сполучній тканині відмічали значну кількість судин синусоїдного типу.

Частота серцевих скорочень (ЧСС) становила 420 ± 25 за хв. Відразу після проведення оперативних втручань на серці спостерігалось зниження ЧСС до 348 ± 12 за хв. Надалі на всіх строках спостереження в контрольній та дослідній групах відзначали відновлення цього показника, і, починаючи з 1 доби ЧСС достовірно не відрізнялася від показників норми (табл. 3).

Зміни ВСР у тварин в експериментальних групах мали достовірні відмінності по відношенню до щурів з нормою. У тварин на 1 добу після операції було виявлено зниження стандартного відхилення тривалості інтервалів NN в 2 рази. Крім цього відзначали 10-кратне зниження загальної потужності спектра нейрогуморальної модуляції (табл. 3). Таке транзиторне зниження ВСР після моделювання НМ є реакцією нервової системи на гостру фазу НМ.

У процесі лікування, під впливом ЕСЦП, починаючи з 7 доби, спостерігалось збільшення загальної потужності спектра, за рахунок всіх компонентів.

На 14 добу у тварин з НМ стандартне відхилення залишалось в 2 рази нижче норми, а в групі тварин, яким вводили ЕСЦП до цього терміну спостереження SDNN відновлювалось до рівня норми. Загальна потужність спектра, як і співвідношення LF/HF у щурів

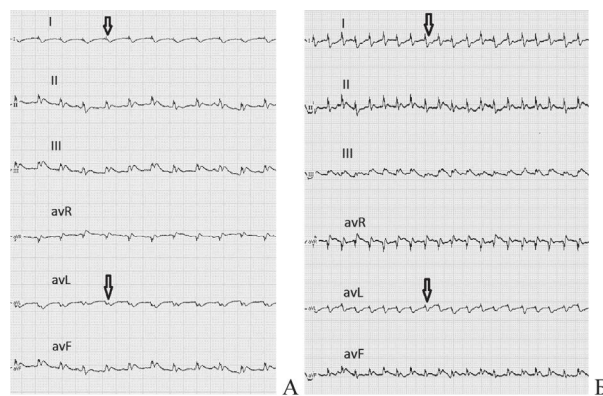


Рисунок 1 – Електрокардіографія щурів на 7 добу. А – з експериментальним некрозом міокарда; Б – з експериментальним некрозом міокарда та введенням екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят. Стрілочкою показані зміни в I та aVL відведеннях.

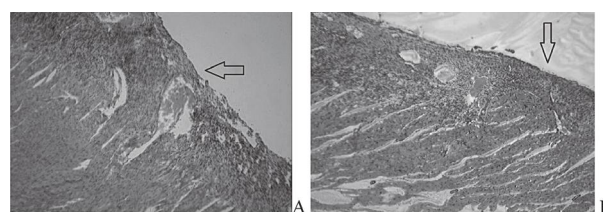


Рисунок 2 – Серце щура на 7 добу після операції: А – кріонекроз міокарда 15 с; Б – кріонекроз міокарда+ЕСЦП. Забарвлення гематоксилином і еозином, Зб. x100. Стрілочкою позначено епікард.

дослідної групи статистично значимо не відрізнялась від показників норми.

На 30 добу в обох експериментальних групах відмічали повне відновлювання показників ВСР до норми.

При ідентифікації пептидів, які рееструються в сироватці крові методом МАЛДІ встановлено, що в нормі було зареєстровано та ідентифіковано 8 пептидів, а на 1 добу після кріодеструкції кількість зареєстрованих пептидів збільшувалась до 16 (табл. 4). На 7 добу та в подальшому не рееструвалися пептиди C5IY15 та C5IY15. На 14 добу в спектрі не рееструвалися пептиди P62968, Q9TTE3, Q0Q4H2 та P79301. На 30 добу експерименту в сироватці крові було зареєстровано тільки пептиди, характерні для норми.

У тварин з некрозом міокарда, яким вводили ЕСЦП, рееструвалися пептиди так, як наведено в табл. 4. За виключенням того, що пептид P79301 не визначався вже на 7 добу. Але на мас-спектрах рееструвалися

Таблиця 3 – Показники варіабельності серцевого ритму у щурів

Група тварин	Доба	Показники				
		ЧСС, скор/хв	SDNN, мс	VLF, мс ²	LF, мс ²	HF ₂ , мс ²
НМ	1	348±11	6,0±0,8 ¹	9±1 ¹	5±1 ¹	2±1 ¹
НМ+ЕСЦП		445±20	6,4±0,4 ¹	17±4 ¹	6±1 ¹	4±1 ¹
НМ	7	418±15	6,8±1,1 ¹	22±5 ¹	6±1 ¹	3±1 ¹
НМ+ЕСЦП		401±21	8,0±0,6 ²	63±4 ^{1,2}	13±1 ^{1,2}	8±2 ^{1,2}
НМ	14	429±19	5,0±2,1	15±2	6±1	4±1
НМ+ЕСЦП		415±25	10,3±2,5	78±27 ²	16±3 ²	10±1
НМ	30	429±19	10,9±0,9	173±25	79±4 ¹	53±3
НМ+ЕСЦП		419±24	10,7±1,0	132±20	37±7 ²	27±5 ²
Норма		420±15	10,4±0,8	129±58	26±4	15±1

Примітки: 1 – відмінності статистично значимі порівняно з нормою, $p < 0,05$; 2 – відмінності статистично значимі порівняно з НМ того ж терміну спостереження, $p < 0,05$.

додаткові піки, які відповідали пептидам наведеним в табл. 5. На 7 та 14 добу кількість додатково зареєстрованих пептидів зменшується, а на 30 добу спектр відповідав нормі.

В клінічній практиці електрокардіографічні зміни при інфаркті міокарда пов'язані в першу чергу з розвитком гіпоксії в ендокардіальному шарі серцевого м'язу, що супроводжується появою на ЕКГ високого «ішемічного» зубця Т. У випадку якщо закупорка коронарної артерії триває, то ішемія переходить в ішемічне ушкодження, яке проявляється спочатку депресією (пошкодження ендокардіального шару), а потім елевацією сегменту ST (крива Парді при трансмуральному інфаркті) [13]. Подібні зміни ми відзначали у наших попередніх експериментальних роботах, в яких інфаркт міокарда моделювали перев'язкою низхідної гілки лівої коронарної артерії [14].

При локальній кріодеструкції серця протягом 15 с електрокардіографічна картина була характерна для субепікардіального інфаркта міокарда за рахунок того, що ушкодження серцевого м'язу відбувалось з боку епікарда. Це підтверджується появою від'ємних зубців Т та депресією сегменту ST, як наслідок ішемії та ішемічного пошкодження субепікардіального шару. Оскільки кріодеструкцію проводили на передньо-боковій поверхні серця, тому і прояви гіпоксії і ішемічного пошкодження відмічали в I і aVL відведеннях.

Процес відновлення серця у щурів, яким вводили ЕСцП після локального НМ, супроводжувався відповідними змінами на кардіограмі, які свідчили про кардіопротекторну дію екстракту. Перш за все це стосується показника амплітуди зубця R, який на 7 добу експерименту не відрізнявся від норми. Крім того, відбувалося відновлення сегменту ST та амплітуди зубця Т, що свідчило про швидке пристосування збережених кардіоміоцитів до патологічних процесів, які відбувались у кріпошкодженному серцевому м'язі.

Як в контрольній групі, так і в щурів піддослідної групи наявних змін в геометрії серця, які б свідчили про його ремоделювання не спостерігали. Це обумовлено тим, що тривалість кріпошкодження тривала лише 15 с, і цього часу достатньо мало для виникнення трансмурального некрозу, який може призвести до структурної перебудови серця. Зникнення зони ішемічного ушкодження свідчить про часткову некротизацію м'язових волокон і відновлення серцевого м'язу за рахунок поліпшеного колатерального кровопостачання.

В якості інтегрального критерію функціонального стану організму в діагностичному аспекті виступає ВСР. Характеристика ВСР дозволяє оцінити сукупну потужність енергетичного спектра нейрогуморальної регуляції, індивідуальні та типологічні особливості фізіологічних реакцій на мінливі умови внутрішнього і зовнішнього середовища [15].

У нормі основну модулюючу дію на серцевий ритм надає вегетативна нервова система. Центральна нервова система контролює відносні рівні активності симпатичного і парасимпатичного відділів звичайно за механізмом зворотного зв'язку [16]. Крім того, у формуванні картини ВСР крім вегетативних екстракардіальних впливів істотну роль грає електрофізіологічна активність власне міокарда і провідної системи серця.

Дослідження стандартного відхилення величин нормальних RR інтервалів (SDNN), яке є інтегральним

Таблиця 4 – Пептиди, які зареєстровані в сироватці крові щурів з некрозом міокарда методом MALDI-ToF

№ п/п	Код пептида	Молекулярна маса	Норма	Доба експерименту			
				1	7	14	30
1	P62968	379	-	+	+	-	-
2	Q5RLS9	919	+	+	+	+	+
3	C5IYI5	936	-	+	-	-	-
4	Q009B3	953	+	+	+	+	+
5	Q9TTE3	1308	-	+	+	-	-
6	A9LNN3	1942	-	+	-	-	-
7	B6C6Q1	3057	+	+	+	+	+
8	Q29066	3453	+	+	+	+	+
9	K7GRV7	3640	+	+	+	+	+
10	K7GPL9	3689	+	+	+	+	+
11	Q0Q4H2	3720	-	+	+	-	-
12	B3LDT2	3770	+	+	+	+	+
13	Q9TRI6	3755	-	+	+	+	-
14	Q647I2	4381	+	+	+	+	+
15	P79301	4556	-	+	+	-	-
16	Q6QAR8	4735	-	+	+	+	-

Примітки: + – пептид зареєстровано; - - пептид не зареєстровано.

показником ВСР в цілому, показали, що SDNN після моделювання кріонекрозу міокарда знижувалось у 2 рази відносно групи норми. Отримані результати свідчать про зниження ВСР після кріодеструкції міокарда, тону су симпатичного відділу автономної нервової системи, а також збільшенні парасимпатичних впливів на серце у щурів. Після моделювання НМ спостерігалось зменшення вкладу гуморально-метаболічної складової в спектр і посиленню впливу вегетативної регуляції на синусовий ритм, що може свідчити про активацію регуляторного впливу з боку центральної нервової системи. Аналіз спектра ВСР тварин після показав, що введення ЕСцП сприяє більш ранньому зростанню потужності спектра до показників норми, а також відновленню SDNN, яке спостерігалось на 14 добу експерименту. Слід зазначити, що підйом загальною спектральною потужності відбувався не за рахунок активації однієї ланки регуляції, а завдяки збалансованому підвищенню активності всіх ланок. Це свідчить про те, що даний спосіб лікування спрямований, перш за все, на активацію власних гомеостатичних регуляторних систем.

Таблиця 5 – Пептиди, які додатково зареєстровані в сироватці крові щурів з некрозом міокарда та введення ЕСцП методом MALDI-ToF

№ п/п	Код	Молекулярна маса	Доба експерименту		
			1	7	14
1	C6L267	2305	+	+	+
2	C7C1J4	3216	+	+	+
3	Q7M3H2	3540	+		-
4	A0FEV8	5735	+	+	-
5	Q6UK26	5891	+	+	+
6	P82126	6015	+	+	+
7	Q7M2W3	6707	+	+	-
8	Q5S3P3	7483	+	-	-
9	Q5K2Q1	8455	+	+	+

Примітки: + – пептид зареєстровано; - - пептид не зареєстровано.

Завдяки чутливості, інформативності, експресності, можливості працювати з сумішами, мас-спектрометрія сьогодні – основний метод аналізу цих складних для вивчення об'єктів [17]. Найважливіші досягнення мас-спектрометрії за останні роки пов'язані з дослідженнями природних сполук, включаючи біополімери. З появою методів іонізації електророзпиленням і матрично-активованої лазерної десорбції / іонізації для мас-спектрометрії стали доступні нуклеїнові кислоти, білки, пептиди, ліпіди та інші біоорганічні макромолекули. Найбільших успіхів вдалося досягти в дослідженні білків і пептидів.

Отримані дані методом MALDI-ToF щодо молекулярно-масового розподілу пептидів в сироватці крові свідчать про різний її якісний пептидний склад у щурів в нормі, з некрозом міокарда та з некрозом і введення ЕСЦП, а також цей склад змінюється в різні терміни спостереження після моделювання патології. Дані по наявності відповідних пептидів можуть знайти використання при з'ясуванні механізму стимуляції регенерації органів екстрактами кріоконсервованих фрагментів органів поросят при відповідних патологічних станах.

Висновки. Аналіз ЕКГ показав, що у тварин з субепікардіальним кріонекрозом міокарда, яким вводили ЕСЦП, вже на 7-му добу експерименту спостерігається нормалізація електрофізіологічних показників стану серця, в тому числі відновлення амплітуди зубця R та T.

За даними морфологічного дослідження встановлено, що введення ЕСЦП сприяє зменшенню зони кріонекрозу міокарда завдяки відновленню паранекротичної зони та більш швидкому формуванню сполучно-тканинного рубця по відношенню до групи без лікування.

Введення ЕСЦП здатне значно підвищувати функціональні можливості організму тварин і сприяє більш ранньому на 14 добу, відновленню стандартного відхилення величин нормальних RR інтервалів, загальної потужності спектру, співвідношення внеску в спектр симпатичного і парасимпатичного відділу вегетативної системи в порівнянні з контрольною групою.

Пептидний склад сироватки крові щурів залежить від строку після моделювання некрозу міокарда, і одержані дані можуть бути використані при встановленні діагнозу, стадії захворювання, а також при встановленні ролі відповідних пептидів в розвитку некрозу міокарда та його відновлення.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується провести аналіз біологічної дії виявлених в сироватці крові пептидів з метою встановлення їх можливої ролі в розвитку некрозу міокарда та відновлення серцевого м'язу.

Подяка. Виражаємо подяку канд. хім. наук, ст. наук. спів. відділу мас-спектрометрії нанорозмірних систем Інституту хімії поверхні імені О.О. Чуйка НАН України Тарасові Юрійовичу Громовому за допомогу в проведенні мас-спектрометричних досліджень та професійній консультації.

Література

1. Timmis A, Townsend N, Gale CP, Torbica A, Lettino M, Petersen SE, et al. European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2019. *European Heart Journal*. 2020;41(1):12-85.
2. Mikhin VP. Czitoprotekciya v kardiologii: dostignutyje uspekhi i perspektivy. *Kardiologiya*. 2015;55(10):90-5. [in Russian].
3. Driessen HE, Van Veen AB, Boink GJJ. Emerging molecular therapies targeting myocardial infarction-related arrhythmias. *Europace*. 2016. p. 1-11.
4. Zorzi A, Deyle K, Heinis C. Cyclic peptide therapeutics: past, present and future. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2017;38:24-9.
5. Galipeau J, Sensébé L. Mesenchymal Stromal Cells: Clinical Challenges and Therapeutic Opportunities. *Cell Stem Cell*. 2018;22(6):824-33.
6. Sosunov EA, Anyukhovskiy EP, Sosunov AA. pH (low) insertion peptide (pHLIP) targets ischemic myocardium. *PNAS*. 2013;110(10):82-6.
7. Halchenko SYe. Extracts of cryopreserved fragments of xenoorgans: deriving and biological activity. *Problems of Cryobiology*. 2005;15(3):403-6.
8. Babayeva GG, Chizh MO, Halchenko SYe, Sandomirskij BP, vynakhidnyky. IPKiK NAN Ukrainy, patentovlasnyk. Sposib modelyuvannya infarktu miokarda. Patent Ukrainy № 65535 G09B. 2011 12 12. [in Ukrainian].
9. Chizh NA. Sposoby registracii elektrokardiogramu u krysu dlya analiza variabel'nosti serdechnogo ritma. *Eksperiment i klin medicina*. 2015;68(3):44-7. [in Russian].
10. Chizh NA. Parameters of spectral analysis of heart rate variability in rats. *Probl Cryobiol Cryomed*. 2015;25(3):235-45.
11. Halchenko SYe, Shkodovska NYu, Sandomyrskiy BP, Hryshchenko VI, vynakhidnyky. IPKiK NAN Ukrainy, patentovlasnyk. Sposib otrymannia ekstraktiv ksenohennykh orhaniv. Patent Ukrainy № 64381 A. 2004 02 16. [in Ukrainian].
12. Walker JM. The protein protocols handbook. NJ: Humana Press. 2009. p. 3-6.
13. Murashko VV, Strutynskiy AV. Elektrokardiografiya. Moskva: MEDpres; 2020. 360 s. [in Russian].
14. Chyzh MO, Halchenko SYe. Elektrofiziologichni pokaznyky sercyta ta molekulyarno-masovyy rozpodil peptydiv v syrovatci krovi shhuriv z eksperymentalnym infarktom miokarda. *Visnyk problem biologiyi i medycyny*. 2019;2(1):192-7. [in Ukrainian].
15. Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*. 1996;93(5):1043-65.
16. Yabluchanskij NY, Martynenko AV. Varyabelnost serdechnogo rytma v pomoshh prakticheskomu vrachu. Kharkov: 2010. 131 s. [in Russian].
17. Lebedev AT, Artemenko KA, Samgyna TYu. Osnovy mass-spektrometry belkov i peptydov. Moskva: Texnosfera; 2012. 176 s. [in Russian].

ЕКСТРАКТ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СЕРЦЯ ПОРОСЯТ ЯК РЕГУЛЯТОР СТАНУ СЕРЦЕВОГО М'ЯЗА ЩУРІВ НА МОДЕЛІ НЕКРОЗУ МІОКАРДА

Чиж М. О., Бабаєва Г. Г., Рогоза Л. А., Гальченко С. Є.

Резюме. Однією з найважливіших проблем сучасної кардіології є ішемічна хвороба серця та її грізне ускладнення – інфаркт міокарда. В теперішній час здійснюються спроби відновлення пошкодженого міокарда шляхом застосування препаратів біологічного походження, які здатні стимулювати репаративну регенерацію. *Мета досліджень:* охарактеризувати вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕСЦП) на електрокардіографічні показники, варіабельність серцевого ритму (ВСР) та на пептидний склад сироватки крові щурів з експериментальним некрозом міокарда. *Об'єкт і методи дослідження.* Дослідження було проведено на 63 безпородних білих щурах, віком 9 місяців. Некроз міокарда відтворювали шляхом локального кровопливу на передньо-бокову поверхню серця. ЕСЦП вводили в черевну порожнину один раз на добу. Доза пептидів становила 50 мкг на 100 г маси тварини. Аналіз ЕКГ проводили на апаратно-програмному комплексі

«Полі-Спектр 8/В». Дослідження ВСП проводили з використанням програмного забезпечення «Полі-Спектр-Ритм». Мас-спектрометричні дослідження пептидів в сироватці крові методом MALDI-ToF було проведено з використанням приладу MALDI MS Autoflex II. Дослідження гістологічних препаратів проводили на мікроскопі MEIJI Techno TC5200. *Висновки.* Аналіз ЕКГ показав, що у тварин з субепікардіальним кріонекрозом міокарда, яким вводили ЕСцП, вже на 7-му добу експерименту спостерігається нормалізація електрофізіологічних показників стану серця. Введення ЕСцП здатне значно підвищувати функціональні можливості організму тварин і сприяє більш ранньому на 14 добу, відновленню стандартного відхилення величин нормальних RR інтервалів, загальної потужності спектру та співвідношення спектральних компонентів. Пептидний склад сироватки крові щурів залежить від строку після моделювання некрозу міокарда, і одержані дані можуть бути використані при встановленні діагнозу, стадії захворювання, а також при встановленні ролі відповідних пептидів в розвитку некрозу міокарда та його відновлення.

Ключові слова: інфаркт міокарда, електрокардіографія, варіабельність серцевого ритму, сироватка крові, пептиди.

ЭКСТРАКТ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ФРАГМЕНТОВ СЕРДЦА ПОРОСЯТ КАК РЕГУЛЯТОР СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ КРЫС НА МОДЕЛИ НЕКРОЗА МИОКАРДА

Чиж Н. А., Бабаева А. Г., Рогоза Л. А., Гальченко С. Е.

Резюме. Одной из важнейших проблем современной кардиологии является ишемическая болезнь сердца и ее грозное осложнение – инфаркт миокарда. В настоящее время предпринимаются попытки восстановления поврежденного миокарда путем применения препаратов биологического происхождения, которые способны стимулировать репаративную регенерацию. *Цель исследований:* охарактеризовать влияние экстракта криоконсервированных фрагментов сердца поросят (ЕСцП) на электрокардиографические показатели, вариабельность сердечного ритма (ВСП) и на пептидный состав сыворотки крови крыс с экспериментальным некрозом миокарда. *Объект и методы исследования.* Исследование было проведено на 63 беспородных белых крысах в возрасте 9 месяцев. Некроз миокарда воспроизводили путем локального криовоздействия на передне-боковую поверхность сердца. ЕСцП вводили в брюшную полость один раз в сутки. Доза пептидов составляла 50 мкг на 100 г массы животного. Анализ ЭКГ проводили на аппаратно-программном комплексе «Поли-Спектр 8/В». Исследование ВСП проводили с использованием программного обеспечения «Поли-Спектр-Ритм». Масс-спектрометрические исследования пептидов в сыворотке крови методом MALDI-ToF было проведено с использованием прибора MALDI MS Autoflex II. Исследование гистологических препаратов проводили на микроскопе MEIJI Techno TC5200. *Выводы.* Анализ ЭКГ показал, что у животных с субэпикардиальным крионекрозом миокарда, которым вводили ЕСцП, уже на 7-е сутки эксперимента наблюдается нормализация электрофизиологических показателей состояния сердца. Введение ЕСцП приводит к значительному повышению функциональных возможностей организма животных и способствует более раннему на 14 сутки, восстановлению стандартного отклонения величин нормальных RR интервалов, общей мощности спектра и соотношения спектральных компонентов. Пептидный состав сыворотки крови крыс зависит от срока после моделирования некроза миокарда, и полученные данные могут быть использованы при постановке диагноза, стадии заболевания, а также при установлении роли соответствующих пептидов в развитии некроза миокарда и его восстановления.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, электрокардиография, вариабельность сердечного ритма, сыворотка крови, пептиды.

EXTRACT OF PIGS' HEART CRYOPRESERVED FRAGMENTS AS A REGULATOR OF STATE OF RATS HEART MUSCLE IN MYOCARDIAL NECROSIS MODEL

Chyzh M. O., Babaieva G. G., Rohoza L. A., Halchenko S. Ye.

Abstract. One of the most important problems of modern cardiology is ischemic heart disease and its formidable complication, i.e. myocardial infarction. Currently, attempts are being made to restore the damaged myocardium by using the drugs of biological origin, which are capable of stimulating a reparative regeneration. *The research aim* was to characterize the effect of the extract of the pigs' heart cryopreserved fragments (EPHCF) on electrocardiographic parameters, heart rate variability (HRV) and peptide composition of blood serum of rats with experimental myocardial necrosis (MN). *Research object and methods.* The study was conducted in 63 outbred white 9 months-aged rats. Myocardial necrosis was simulated by local cryotherapy on the anterior-lateral surface of heart. EPHCF was injected into abdominal cavity once a day. The dose of peptides made 50 µg per 100 g of animal weight. ECG was analyzed by means of «Poly-Spectrum 8/В» hardware-software complex. HRV was examined using the Poly-Spectrum-Rhythm software. Peptides in blood serum were studied by the MALDI-ToF with mass spectroscopy using a MALDI MS Autoflex II. The histological samples were investigated with a MEIJI Techno TC5200 microscope. *Conclusions.* ECG analysis showed that in the animals with subepicardial cryonecrosis of the myocardium, which were injected with EPHCF already on day 7 of the experiment, the electrophysiological indices of the heart state were normalized. The introduction of EPHCF led to a notable rise in functional capabilities of animal body and promoted an earlier restoration (on day 14) of the standard deviation of the normal RR intervals values, the total power of the spectrum and the ratio of spectral components. The peptide composition of rat blood serum depends on the period after myocardial necrosis modeling, and the data obtained can be used in diagnosis, stage of the disease, as well as in establishing the role of corresponding peptides in development of myocardium necrosis and its recovery.

Key words: myocardial infarction, electrocardiography, heart rate variability, blood serum, peptides.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 11.11.2020 року*