



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **60950** (13) **U**
(51) МПК (2011.01)
A61P 9/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС**
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ ПОПЕРЕДЖЕННЯ РЕМОДЕЛЮВАННЯ МІОКАРДА**

1

2

(21) u201103946

(22) 01.04.2011

(24) 25.06.2011

(46) 25.06.2011, Бюл.№ 12, 2011 р.

(72) МОЙБЕНКО ОЛЕКСІЙ ОЛЕКСІЙОВИЧ, КУЗЬ-
МЕНКО МАРІЯ ОЛЕКСІВНА, ПАВЛЮЧЕНКО ВІК-
ТОРІЯ БОРИСІВНА, ДОСЕНКО ВІКТОР ЄВГЕНО-
ВИЧ, ТУМАНОВСЬКА ЛЕСЯ ВОЛОДИМИРІВНА(73) ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬ-
ЦЯ НАН УКРАЇНИ(57) Спосіб попередження ремоделювання міокар-
да, що базується на використанні препаратів рос-
линного походження, який **відрізняється** тим, що
використовують препарат Кверцетин, який вводять
з 1-ої по 5-ту добу одноразово внутрішньовенно в
дозі 5 мг/кг на добу, а з 6-ої по 26-ту добу його
вводять перорально в дозі 15 мг/кг на добу.

Корисна модель відноситься до медицини, може бути використана для попередження структурно-функціональних змін (ремоделювання) міокарда після його uszkodження, зокрема за наявності гіпертрофії міокарда.

Процес ремоделювання міокарда розвивається після дії різних ушкоджуючих впливів, що призводить в подальшому до порушення роботи серця і прогресування серцевої недостатності [1]. Запобігання процесам перебудови міокарда полягає у попередженні розвитку дилатації лівого шлуночка внаслідок втрати великої кількості кардіоміоцитів, а також пов'язаних з цим надлишкової гіпертрофії та розростання сполучної тканини (фіброзу). Перебудові значною мірою сприяє підвищення активності симпатико-адреналової та реніна-гіпертензін-альдостеронової систем, що відмічається навіть за відсутності клінічних ознак серцевої недостатності. Показано, що власне тривала активація бета-адренергічних рецепторів призводить до розвитку гіпертрофії та інших ознак ремоделювання міокарда і широко використовується у світі в якості моделі для скринінгу препаратів, що здатні попереджувати ремоделювання серця [2].

Найближчим аналогом є препарат Ліпотаб, який має рослинне походження і містить витяжки декількох рослин: *Allium sativum* (часник), *Curcuma longa* (куркума), *Nepeta hindostana* (котятчий котовник). Встановлено сприятливі ефекти впливу цього препарату при багатьох порушеннях роботи серцево-судинної системи. Окремо слід відмітити, що препарат може застосовуватися для попередження ремоделювання міокарда [3]. Показано, що Ліпотаб у терапевтичних дозах виявляв антиоксидантну та протизапальну дію. Разом з тим,

застосування препарату Ліпотаб в перші дні після ішемічного впливу дозволяло лише частково зменшити пошкодження клітин міокарда, а значний протективний вплив спостерігався лише за умов тривалого попереднього прийому препарату. Крім того, застосування препарату

Ліпотаб в перші дні після пошкодження серця не сприяло достовірному відновленню хвилинного об'єму крові, що свідчить про порушення роботи серця і нестачу оксигенації тканин організму. Таким чином, препарат Ліпотаб більшою мірою може використовуватися в профілактичних цілях, тоді як для терапії ремоделювання серця він має певні обмеження, оскільки лише частково сприяє зниженню зони фіброзу міокарда та не дозволяє відновити рівень хвилинного об'єму крові.

Зважаючи на вищесказане, ми пропонуємо використання вітчизняного препарату Кверцетину, а також його таблетованої форми для більш сприятливої та комплексної корекції змін структурного та функціонального характеру при ремоделюванні міокарда. Кверцетин належить до групи природних речовин - біофлавоноїдів, - і міститься у багатьох овочах та фруктах, зокрема червоному винограді, помідорах тощо. Показано, що Кверцетин справляє захисний вплив на серце і судини за умов ішемії-реперфузії, при діабеті [4], старінні [5] тощо. На сьогодні загально прийнято, що Кверцетин є потужним антиоксидантом та проявляє протизапальну дію. Крім цього, комплекс позитивних ефектів застосування Кверцетину пов'язаний зі здатністю до гальмування деградації мембранних фосфоліпідів і накопичення вільних жирних кислот в ділянці ішемії міокарда, гальмування акумуляції нейтрофілів та прооксидантних процесів в зоні ішемії міо-

(19) **UA** (11) **60950** (13) **U**

карда, сприяння збереженню оксиду азоту (NO, eNOS) в ділянці ішемії, гальмування активності протеасоми, зменшення перевантаження мітохондрій кальцієм та їх набухання, зменшення кількості некротичних та апоптотичних клітин в культурі неонатальних кардіоміоцитів тощо [6]. Таким чином, Кверцетин має більш широкий спектр дії, ніж вищезгаданий препарат, та може виявитися більш ефективним для комплексного запобігання процесам ремоделювання міокарда.

Задачею корисної моделі, що заявляється, є розробка найбільш економічно вигідного і ефективного способу попередження ремоделювання міокарда внаслідок його ушкодження за допомогою вітчизняного препарату Кверцетину.

Технічним результатом корисної моделі, що заявляється є суттєве зменшення розміру фібротично зміненого міокарда, а також достовірне підвищення хвилинного об'єму крові при застосуванні препарату Кверцетину у терапевтичних дозах, що є відмінним від результатів застосування препарату Ліпотаб.

Отже, нами вперше встановлено, що комплексна терапія із застосуванням препаратів Кверцетину дає змогу обмежити зону фіброзу міокарда, що зменшує жорсткість стінки лівого шлуночка та дозволяє розвантажити пошкоджене серце, що підтверджено ґрунтовними морфологічними та функціональними дослідженнями.

Відмінними ознаками способу попередження змін міокарда після його пошкодження є комплексний протекторний вплив препаратів Кверцетину: як на рівні структури, а саме - зменшення зони фібротично зміненого міокарда, так і на функціональному рівні - покращення роботи серцево-судинної системи.

Суть способу полягає в наступному.

Після дії стресорного чинника лікування Кверцетиною починають за наступною схемою: з 1-ої по 5-ту добу Кверцетин одноразово вводять внутрішньовенно в дозі 5 мг/кг на добу. Далі, з 6-ої по 26-ту добу Кверцетин вводять перорально в дозі 15 мг/кг на добу.

Результати використання Кверцетину призводять до гальмування прооксидантних процесів в зоні ішемії міокарда, зменшення кількості некротичних та апоптотичних клітин, збереження більшої кількості скоротливих елементів серця, зменшення зони фібротично зміненого міокарда, відновлення функціонального стану серця.

Приклад конкретного виконання.

Досліди проведено на 30 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 280-320г, яких було рівномірно розподілено на три групи: контрольну і дві дослідні. Ушкодження серця моделювали за допомогою неспецифічного агоніста бета-адренорецепторів ізопротеренолу (Sigma, USA), який вводили тваринам двох дослідних груп у концентрації 5 мг/кг (в об'ємі приблизно 0,5 мл) підшкірно щоденно протягом 7 днів. Тварини контрольної групи отримували ін'єкції фізіологічного розчину. Одна з дослідних груп тварин по закінченню зазначеного терміну отримувала внутрішньовенні Ін'єкції (через хвостову вену) розчинної форми Кверцетину (у дозі 5 мг/кг) протягом 5 діб, а

після цього протягом трьох тижнів отримували таблетовану форму Кверцетину (15 мг/кг) перорально у складі корму. Тварин інших двох груп утримували за звичайних умов протягом 26 діб. Після закінчення терміну лікування або еквівалентного періоду утримання за звичайних умов усіх тварин було використано для функціональних та гістологічних досліджень для оцінки ступеня ураження міокарда.

Щурів анестезували за допомогою уретану (125 мг/кг, внутрішньоочеревинно), фіксували і препарували праву сонну артерію. Ультрамینیатюрний катетер 2F («Millar Instruments», США) вводили через праву сонну артерію ретроградно у лівий шлуночок серця, що давало змогу визначити основні показники кардіогемодинаміки.

Для визначення розвитку фіброзу в міокарді застосовувався метод виявлення сполучної тканини по Ван-Гізону. Для об'єктивного оцінювання рівня розвитку фібротичних процесів заморожені серця розрізали на чотири частини товщиною 3-4 мм (поперечні зрізи), після чого за допомогою мікротому з кожної частини серця отримували тонкі заморожені зрізи (10-12 мкм), які фіксувалися в 96% етанолі протягом 20 хв. та інкубувалися в насиченому розчині пікринової кислоти протягом однієї години. Надалі послідовно здійснювали наступні операції: інкубація в 0,5% розчині льодяної оцтової кислоти 10-30 сек., інкубація в суміші кислого фуксину та насиченого розчину пікринової кислоти 1:10, промивка у дистильованій воді, фіксація в 96% етанолі. Пофарбовані зрізи було проскановано, загальну площу фіброзу було визначено планіметрично за допомогою спеціалізованої морфометричної програми Image J (National Institutes of Health, США).

Першочергово ми виявили, які зміни відбуваються в серці експериментальних тварин після його пошкодження під впливом ізопротеренолу. Показано, що через 2 тижні після останньої ін'єкції Ізопротеренолу розвивається помірна гіпертрофія міокарда, на що вказує достовірне підвищення індексу маси серця до $3,53 \pm 0,05$ мг/г порівняно з контрольним рівнем у $3,22 \pm 0,12$ мг/г ($P < 0,05$).

Мікроскопія зрізів серця, забарвлених для виявлення колагенових структур, показала, що на 34-у добу після початку ін'єкцій ізопротеренолу переважно в ендокарді серця щура спостерігалось значне розростання сполучнотканинних волокон, які частково заміщували кардіоміоцити, в той час як в контрольних дослідях таких фібротичних змін міокарда не виявлялось (фіг. 1). Найбільш виражені фібротичні зміни спостерігалися у зоні верхівки серця, що може пояснюватися більшою щільністю бета-адренорецепторів. Проведена терапія препаратами, що містять Кверцетин, в значній мірі попередила розвиток як дифузних інтерстиціальних, так і вогнищевих (ендокард) фібротичних процесів в міокарді.

У відсотковому співвідношенні площа фіброзу в контрольній групі склала $2,7 \pm 0,9$ % по відношенню до площі лівого шлуночка, у групі з адренергічною стимуляцією - $14,6 \pm 1,5$ % ($P < 0,05$), а в групі із застосуванням препаратів Кверцетину - $5,8 \pm 1,0$ % ($P < 0,05$) (фіг. 2). Таким чином, зона фіброзу у тва-

рин з тривалою адренергічною стимуляцією переважала контрольний рівень у 5,5 разів, а експериментальна терапія препаратами Кверцетину сприяла зниженню фібротично зміненої зони міокарда практично в 3 рази.

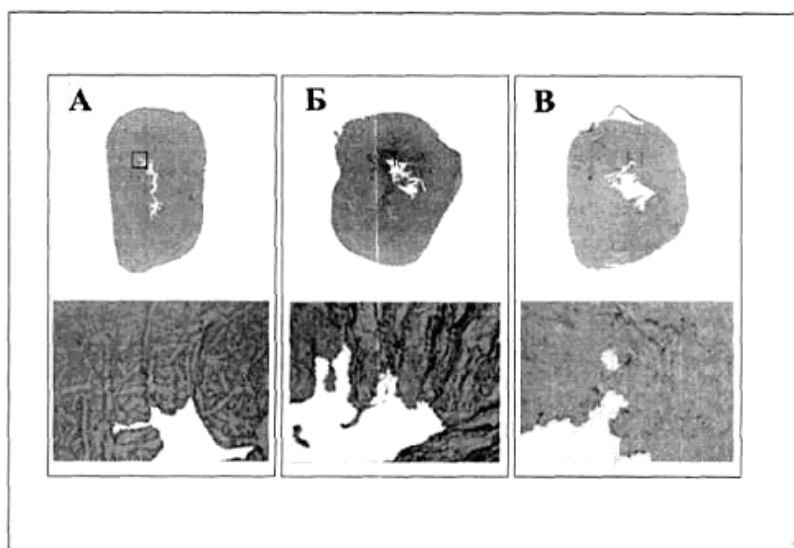
Функціональні дослідження показали, що на фоні застосування препаратів Кверцетину у тварин, які отримували ін'єкції ізопроterenолу, значно покращуються показники роботи серця. Встановлено, що ударний об'єм лівого шлуночка збільшується на 61,80% ($P < 0,05$) (фіг.3), відновлюючись при цьому до контрольного рівня, а також підвищується хвилинний об'єм крові - на 27,6% ($P < 0,05$) (фіг.4). Нормалізація цих показників вказує на оптимізацію роботи серцево-судинної системи після застосування препаратів Кверцетину.

Отримані нами результати дають підстави вважати, що розширення спектру дії біофлавоноїду Кверцетину є досить перспективним, зокрема, за рахунок встановленої нами здатності Кверцетину обмежувати зону фібротично зміненого міокарду. Переваги нашої схеми застосування препаратів Кверцетину полягають у його пролонгованому комплексному впливі на механізми ремоделювання міокарду людини. Таблетована форма препарату, що створена останніми роками ЗАТ «Борщівський хіміко-фармацевтичний завод» -Квертин -

може знайти подальше застосування після терапії ін'єкційною формою Кверцетину.

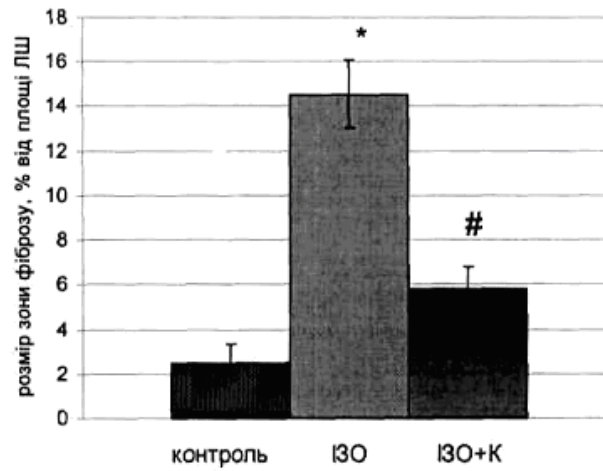
Література.

1. Cokkinos D.V., Pantos C. Myocardial remodeling, an overview // Heart Fail. Rev. -2011. - Vol. 16. - P. 1 -4.
2. Osadchii O.E. Cardiac hypertrophy induced by sustained b-adrenoreceptor activation: pathophysiological aspects // Heart Fail. Rev. - 2007. - Vol. 12. - №1. -P.66-86.
3. Sharma A., Mediratta P.K., Sharma K.K., Fahim M. Lipotab, a polyherbal formulation, attenuates isoprenaline-induced left ventricular remodeling and heart failure in rats // Hum. Exp. Toxicol. - 2010. - In press.
4. Annapurna A, Reddy CS, Akondi RB, Rao SR. Cardioprotective actions of two bioflavonoids, quercetin and rutin, in experimental myocardial infarction in both normal and streptozotocin-induced type I diabetic rats // J. Pharm. Pharmacol. -2009. - Vol. 61. - #10. - P.1365-74.
5. Janson M. Orthomolecular medicine: the therapeutic use of dietary supplements for anti-aging // Clin. Interv. Aging. - 2006. - Vol.1. - #3. - P.261-5.
6. Ковалев В.Б. Механізми ліцебного действа биофлавоноида Кверцетина (обзор литературы) / В.Б.Ковалев, В.В.Ковган, Е.Ю.Колчина // Укр. мед. альманах. - 1994.-№4.-С. 176-184.



Зрізи препаратів сердець щурів після специфічного забарвлення для виявлення еластинових та колагенових волокон. А- контроль, Б-міокард під час ремоделювання, В-міокард після засосування кверцетину.

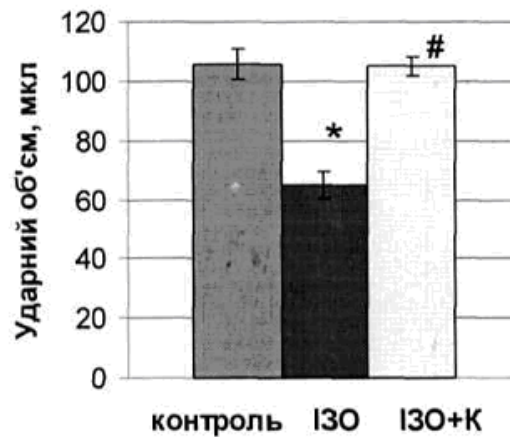
Фіг. 1



Розмір площі фібричного змінення міокарда у тварин контрольної групи, під час його ремоделювання (ІЗО) та після застосування кверцетину (ІЗО +К).

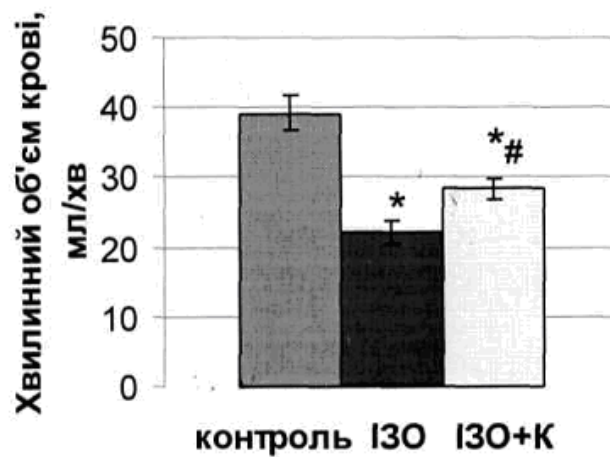
*- $P < 0,05$ по відношенню до контролю, # - $P < 0,05$ по відношенню до ІЗО-групи.

Фіг. 2



Ударний об'єм ЛШ у тварин контрольної групи, під час ремоделювання міокарда (ІЗО) та після застосування кверцетину (ІЗО+К). * - $P < 0,05$ по відношенню до контролю, # - $P < 0,05$ по відношенню до ІЗО-групи.

Фіг. 3



Хвилиний об'єм крові у тварин контрольної групи, під час ремоделювання міокарда (ІЗО) та після застосування кварцетину (ІЗО + К).

* - $P < 0,05$ по відношенню до контролю,

- $P < 0,05$ по відношенню до ІЗО-групи.

Фіг. 4