Міністерство охорони здоров’я України
Буковинський державний медичний університет

Міністерство охорони здоров’я України
Національний фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Ковпак Альона Василівна

УДК 615.01-615.015.2: 616.1

ДИСЕРТАЦІЯ

Експериментальне обґрунтування оптимізації лікування артеріальної гіпертензії комбінаціями раміприлу та кандесартану із корвітином

14.03.05 – фармакологія

22 – охорона здоров’я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____А. В. Ковпак

Науковий керівник: Шоріков Євген Іванович, доктор медичних наук, доцент

Чернівці – 2021

АНОТАЦІЯ

Ковпак А. В. Експериментальне обґрунтування оптимізації лікування артеріальної гіпертензії комбінаціями раміприлу та кандесартану із корвітином. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.03.05 – «Фармакологія» (22 – охорона здоров'я). Буковинський державний медичний університет, МОЗ України, Чернівці, 2021; Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2021.

Дисертаційна робота присвячена особливостям перебігу артеріальної гіпертензії на моделі експериментальних тварин (щурів лінії SHR) за умови лікування препаратами раміприлу та кандесартану в комбінації з корвітином; вперше комплексно проаналізовано стан оксидантно-протиоксидантного гомеостазу та протеїназо-інгібіторної системи у експериментальній моделі артеріальної гіпертензії; розглянуто стан окремих факторів систем гемостазу і фібринолізу та їхніх змін в експериментальній моделі артеріальної гіпертензії.

У дисертаційній роботі вирішено одне з ключових завдань сучасної практичної медицини – удосконалення лікування артеріальної гіпертензії через корекцію використання різних груп препаратів, зокрема інгібіторів ангіотензин-перетворювального ферменту і блокаторів рецепторів ангіотензину II та можливості їх комбінації з корвітином.

Вивчено залежність стану оксидантно-протиоксидантного гомеостазу, протеїназо-інгібіторної системи, систем гемостазу і фібринолізу та їх змін у експериментальній моделі артеріальної гіпертензії.

Експериментальні дослідження проведено на 140 спонтанно-гіпертензивних щурах лінії SHR обох статей та 78 білих рандомбредних щурах масою 220-160 г.

Отримано нові дані щодо впливу препаратів інгібіторів ангіотензин-перетворювального ферменту та блокаторів рецепторів ангіотензину II на експериментальній моделі при лікуванні артеріальної гіпертензії, що є підґрунтям для проведення заходів з вторинної профілактики захворювання. Виявлено, що найбільш вираженими є зміни в таких органах, як серце, печінка та нирки, а також змінені показники оксидантно-протиоксидантного гомеостазу та протеїназо-інгібіторної системи.

Встановлено, що у тварин з артеріальною гіпертензією спостерігаються зміни фібринолітичних властивостей плазми, що може свідчити про зменшення інтенсивності розпаду високомолекулярних комплексів і про збільшення вмісту високомолекулярних антипротеаз. Опосередковано про це ж може свідчити тенденція до збільшення протеолітичної активності плазми за азоказеїном та азоколом у щурів з АГ. Збільшення кількості часток високо- і низькомолекулярних комплексів у плазмі крові може призводити до відкладання їх у стінці судин і призводити до порушень внутрішньопечінкової мікроциркуляції. Зниження фібринолітичної активності плазми і збільшення кількості часток середньо- і високомолекулярних білків може призвести до збільшення в’язкості пристінкового шару плазми у дрібних капілярах і призводити до підвищення гіперв’язкості за рахунок плазмового компоненту.

Експериментальна АГ характеризується підвищеними ризиками тромбоутворення та значним дисбалансом ПОЛ-АОС і якщо деякі антигіпертензивні ЛП, наприклад із груп іАПФ та БРА чинять фібринолітичну дію, то для компенсації неконтрольованих процесів оксидативного стресу потрібно введення лікарського засобу з антиоксидантною дією. Як відомий препарат вітчизняного виробництва, було обрано кверцетин у комплексі із повідоном («Корвітин» НПЦ «БХФЗ» Україна). Гіпертензія характеризується вірогідним збільшенням часу згортання крові гіпертензивних щурів відносно групи інтактного контролю. Монотерапія раміприлом та кандесартаном, дещо збільшує цей показник, але ці зміни не є статистично значущими. Комбінація іАПф та БРА із корвітином, достовірно збільшує час згортання крові у 1,2 рази

($p \leq 0,05$) відносно групи гіпертензивних нелікованих щурів і доводить його до меж фізіологічної норми.

Встановлено, що суттєвої статистичної різниці щодо мембраностабілізувальної активності корвітину не було (в дозі 30 мг/кг при в/в введенні становить 64%, а при в/ш введенні – 57%), через це для подальших досліджень обрано пероральний шлях введення корвітину у дозі 30 мг/кг, який поєднували з найбільш уживаними антигіпертензивними ЛП: іАПФ – раміприлом та БРА – кандесартаном у мінімальних терапевтичних дозах.

Вперше розроблено та науково обґрунтовано спосіб комбінованого антигіпертензивного, метаболічного, антитромботичного лікування хворих на ГХ, лікування раміприлом та кандесартаном під час нетривалого (7 днів) та тривалого застосування (21 день), що позитивно впливає на показники метаболічного обміну, знижує пероксидне окислення ліпідів, покращує антиоксидантний захист, сприяє збільшенню вмісту кінцевих метаболітів NO крові.

Встановлено, що застосування раміприлу в комбінації з корвітином чинить виражений системний антиоксидантний захист та захист органів мішеней. Антиоксидантна дія комбінації реалізується виключно введенням до її складу корвітину. Застосування раміприлу та раміприлу із корвітином за умов експериментальної АГ немає гендерних відмінностей.

Вперше доведено, що застосування кандесартану в комбінації з корвітином, чинило вплив на показники згортання крові та фібринолізу суто за рахунок фармакологічної дії кандесартану. Застосування кандесартану із корвітином викликало вірогідне зростання рівнів NO. Позитивний вплив комбінації на ендотеліальну функцію зростає при збільшенні тривалості застосування. Так, у щурів серії SHR, які отримували лікування, рівень метаболітів NO збільшився на 35% при лікуванні протягом 7 днів, а при тривалому лікуванні на 87% і досягав рівня показників інтактних тварин.

За рахунок введення корвітину в комбінації з кандесартаном, відбувається значний антиоксидантний вплив на показники ПОЛ (МДА, ДК) та АОС (СОД,

ГП, каталаза) у плазмі крові та органах мішенях (міокард, нирки, печінка). Системний антиоксидантний вплив комбінації кандесартану та корвітину нівелює оксидативний стрес, який є вагомим фактором патогенезу АГ. Застосування кандесартану як в монотерапії так і в комбінації з корвітином за умов експериментальної АГ також немає гендерних відмінностей.

Встановлено, що вміст фібриногену є вірогідно вищим у щурів гіпертензивної лінії порівняно із вмістом (2,89 ± 0,63 г/л) у щурів інтактної лінії ($F = 3,86$; $p = 0,004$). Рівень активності XIII фактора не мав змін із показниками інтактних щурів. Аналіз вмісту АТ III у плазмі та серцевому м’язі як інтактних щурів, так і щурів лінії SHR виявив значне відхилення показників від нормального розподілу (W у тесті Шапіро-Уїлка ~ 0,87; $p < 0,001$; у тесті Ліллієфорса $p < 0,01$). Також у групі спонтанно гіпертензивних щурів спостерігалось зниження ПАП порівняно із групою інтактних щурів. Доведено, що гіпертензовані щурі серії SHR мають патологічні зсуви у балансі системи згортання крові та фібринолітичної активності, і встановлені зміни подібні до тромботичних змін у пацієнтів на АГ.

Фармакологічна ефективність нових комбінацій була підтверджена гістологічними дослідженнями, де встановлено, що гіпертензивні щурі серії SHR мають значно виражені патологічні зміни основних структур органів-мішеней, що зазнають впливу високого тиску, порівняно з інтактними щурами. При використанні монотерапії як раміприлу так і кандесартану дещо зменшилася площа атрофії та склероз ниркових клубочків і канальців нефрону, екскреція загального білка з сечею. Комбінована терапія раміприлу з корвітином та кандесартану з корвітином значно покращила морфологічну картину в усіх досліджуваних гістоструктурах, порівняно з показниками інтактної групи, та у тварин, які отримували терапію моно препаратами тільки раміприлу і кандесартану. Проте значна нормалізація структури клітин нирок, міокарда та печінки встановлена лише за умов застосування саме нової комбінації даних антигіпертензивних засобів із корвітином, які мінімізують

наслідки патологічних процесів у клітинах органів-мішеней та відновлюють їх практично до фізіологічної норми.

Також у рамках проведеного гістологічного дослідження нами було встановлено відсутність гендерних відмінностей фармакологічного впливу раміприлу з кандесартаном та їх комбінацій із корвітином за умов гіпертензії.

За результатами дисертаційної роботи запропоновано спосіб лікування артеріальної гіпертензії, поєднаної з ішемічною хворобою серця у спонтанно-гіпертензивних щурів (патент на корисну модель № 111343 Україна № u 201604140 / А. В. Марущак, Є. І. Шоріков, І. Р. Тимофійчук; заявл. 15.04.2016; опубл. 10.11.2016, Бюл. № 21.).

Фрагменти дисертаційної роботи впроваджено у науково-педагогічний процес кафедр: клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол № 4 від 06.11.2018 р.), фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету (протокол № 8 від 3.10.2018 р.), фармакології Одеського національного медичного університету (протокол № 3 від 02.10.2018 р.), внутрішньої медицини № 2 з курсом клінічної фармакології Одеського національного медичного університету (протокол № 4 від 05.11.2018 р.), та у лікувально-профілактичну роботу Чернівецького обласного госпіталю ветеранів війни (2018 р.), та лікарні швидкої медичної допомоги м. Чернівці (2018 р.).

Ключові слова: гіпертонічна хвороба (ГХ), раміприл, кандесартан, корвітин, антиоксидантна активність, фібринолітична активність.

Список публікацій здобувача

1. Марущак А. В., Шоріков Є. І., Шорікова Д. В., Тимофійчук І. Р., Гайдичук В. С. Зміни пероксидного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в спонтанно-гіпертензивних щурів під час експериментального лікування раміприлом та кандесартаном. *Медична та клінічна хімія.* 2016. Т. 18 № 1. С. 5-51. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i1.6183 *(Особистий внесок*

– аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів, оформлення статті).

2. Марущак А. В. Особливості змін показників фібринолізу та протеолізу у спонтанно-гіпертензивних щурів за умови лікування раміприлом. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2016. № 11 (3). С. 87-91. *(Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті).*

3. Maruschak A. V. Lipid peroxidation and state of antioxidant protection in spontaneously hypertensive rats during and experimental treatment ramipril and candesartan. *The unity of science: International scientific periodical journal.* 2016. № 3. P. 131-134. *(Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів, оформлення статті та аналіз літератури).*

4. Марущак А. В., Шоріков Є. І., Тимофійчук І. Р. Особливості впливу лікування раміприлом і кандесартаном коротко і довготривалої дії на показники рівня метаболітів монооксиду нітрогену у щурів серії SHR. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2017. № 12 (2). С. 21-6. *(Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів, оформлення статті та аналіз літератури).*

5. Maruschak A. V. The impact of modern antihypertensive drugs on microcirculation in patients with arterial hypertension. *The unity of science: International scientific periodical journal.* 2017. № 3. P. 84-87. *(Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів, оформлення статті та аналіз літератури).*

6. Maruschak A. V., Shorikova D. V., Shorikov E. I., Tymofiychuk I. R. Features changes parameters fibrinolysis and proteolysis in spontaneously hypertensive rats, if treatment Ramipril. *The unity of science: International scientific periodical journal.* 2017. № 1. P.116-118. *(Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів та оформлення статті).*

7. Maruschak A., Shorikov E., Timofiichuk I., Davydenko I., Slobodyan K. Pathomorphology of the myocardium, kidney and liver in spontaneously hypertensive rats treated with short and long-term use ramipril and candesartan. *Georgian medical news.* 2018. № 3 (276). P. 135-43. *(Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів досліджень).*

8. Maruschak A. V., Shorikov E. I. Pharmacoeconomic analysis of the use of ramipril and candesartan in patients with arterial hypertension. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science».* 2018. № 3 (13). С. 8-13. *(Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів та оформлення статті).*

9. Maruschak A. V. Hypertension models spontaneously hypertensive rats. *International scientific-practical congress «Mind technologies: investments in innovation».* 2018. № 1. P. 94-97. *(Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів досліджень).*

10. Maruschak A. V., Shorikov E. I., Shorikova D. V., Tymofiychuk I. R., Savchyk T.P. Influence of candesartan on the activity of free radical lipid peroxidation in rats with congenital arterial hypertension. *International scientific-practical congress «Mind technologies: investments in innovation».* 2018. № 1. P. 98-104. *(Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних).*

11. Maruschak A. V. Short and long-term use of candesartan and ramipril in spontaneously hypertensive rats, liver, kidney and heart morphology. *Journal of pharma research.* 2019. № 8 (1). P. 15-21. *(Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів).*

12. Maruschak A. V., Rogovyi Y. YE., Shvets V. I., Doroshko V. A., Savchuk T. P. Morphological changes in tissues of shr series bodies treatments with treatment of hypotensive medicines with ramipril and candesarthan) in combination with corvitin. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science».* 2020. № 1 (23). С. 39-44. *(Особистий внесок –відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів досліджень).*

13. Maruschak A. V., Rogovyi Y. YE., Savchuk T. P. Changes in the prooxidative-antioxidant system in shr series rats with treatment of hypotensive medicines (ramipril and candesartane) in combination with corvitin. *Ukrainian scientific medical youth journal:* наук.-практ. вид. / Нац. мед. ун-т ім. О. О. Богомольця. – Київ: 2020. № 1. С. 27-36. DOI: https://doi.org/10.32345/USMYJ.1(115).2020.27-36 *(Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних).*

14. Спосіб лікування артеріальної гіпертензії, поєднаної з ішемічною хворобою серця, у спонтанно-гіпертензивних щурів: пат. № 111343 на корисну модель Україна № u 201604140 / А. В. Марущак, Є. І. Шоріков, І. Р. Тимофійчук; заявл. 15.04.2016; опубл. 10.11.2016, Бюл. № 21. *(Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів).*

15. Марущак А. В., Шоріков Є. І. Оптимізація схем фармакотерапії хворих на артеріальну гіпертензію шляхом проведення фармакоекономічного аналізу використання інгібітора АПФ раміприлу. *Українські медичні вісті*: матеріали XV конгресу СФУЛТ, м. Чернівці-Київ-Чікаго, 16-18 жовтня, Чернівці, 2014. № 11 (1-4). С. 487. *(Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, оформлення тез).*

16. Shanker M., Marushchak A. A complex primary prophylaxis is a fight against arterial hypertension and cardiovascular diseases. *Хист: всеукраїнський медичний журнал молодих вчених*, м. Чернівці, 2015р. Т. 17. С. 141. *(Особистий внесок –підготовка матеріалу, аналіз результатів, оформлення тез).*

17. Марущак А. В., Шоріков Є. І., Шорікова Д. В., Тимофійчук І. Р. Зміни пероксидного окислення ліпідів та стану антиоксидантного захисту у спонтанно-гіпертензивних щурів. *Актуальні питання клінічної медицини*: матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф. молодих вчених; м. Запоріжжя, 30 листопада 2015р. Запоріжжя, 2015. С. 72-73. *(Особистий внесок – аналіз*

літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, оформлення тез).

18. Bonto M., Marushchak A., Amoah N. Changes in lipid peroxidation and antioxidant protection in spontaneously hypertensive rats. *Хист. всеукраїнський медичний журнал молодих вчених,* м. Чернівці, 2016р. Т. 18. С. 365. *(Особистий внесок – аналіз літератури, відбір матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення тез).*

19. Марущак А. В., Шоріков Є. І. Зміни пероксидного окислення ліпідів та стану антиоксидантного захисту в спонтанно-гіпертензивних щурів під час експериментального лікування раміприлом та кандесартаном. *Актуальні питання теоретичної та практичної медицини:* зб. тез доповідей IV міжнародної наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених; м. Суми, 21-22 квітня 2016р. Суми, 2016. С. 69-70. *(Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення тез).*

20. Марущак А. В., Шоріков Є. І., Шорікова Д. В. Пероксидне окислення ліпідів та стан антиоксидантного захисту в спонтанно-гіпертензивних щурів. *Українські медичні вісті*: матеріали XVI конгресу Світової Федерації Українських Лікарських Товариств, м. Берлін-Київ, 18-23 серпня, 2016р. Одеса, 2016. С. 209. *(Особистий внесок – аналіз літератури, відбір матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення тез).*

21. Марущак А. В., Шоріков Є. І. Ендокринна регуляція активності брадикінінів у спонтанно-гіпертензивних щурів лінії SHR при лікуванні раміприлом і кандесартаном коротко та довготривалої дії. *Вікові та хронобіологічні аспекти медицини та фармації:* матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю м. Чернівці 4-5 жовтня, Чернівці, 2018. С. 75-77. *(Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів та оформлення тез).*

ANNOTATION

Kovpak A.V. Experimental substantiation of optimization of treatment of arterial hypertension by combinations of ramipril and candesartan with corvitin. - Qualifying scientific work on the rights of manuscripts.

Thesis for a candidate degree in pharmaceutical / medical sciences (doctor of philosophy) in specialty 14.03.05 - Pharmacology (22 - healthcare). - Bukovinian State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The dissertation is devoted to the peculiarities of the course of arterial hypertension in the model of experimental animals (rats of the SHR line) under the condition of treatment with ramipril and candesartan in combination with corvitin; for the first time the state of oxidative-antioxidant homeostasis and proteinase-inhibitory system in the experimental model of arterial hypertension was comprehensively analyzed; the state of separate factors of systems of hemostasis and fibrinolysis and their changes in experimental model of arterial hypertension is considered.

The dissertation solves one of the key tasks of modern practical medicine - improving the treatment of hypertension by correcting the use of different groups of drugs, including angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers and the possibility of their combination with corvitin. The dependence of the state of oxidant-antioxidant homeostasis, proteinase-inhibitory system, systems of hemostasis and fibrinolysis and their changes in the experimental model of arterial hypertension was studied. Experimental studies were performed on 140 spontaneously hypertensive SHR rats of both sexes and 78 white randomized rats weighing 220-160 g.

New data on the effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers in an experimental model in the treatment of hypertension, which is the basis for secondary prevention of the disease. It was found that the most pronounced are changes in organs such as the heart, liver and kidneys, as well as altered indicators of oxidative-antioxidant homeostasis and proteinase-inhibitory system.

It was found that in animals with arterial hypertension there are changes in the fibrinolytic properties of plasma, which may indicate a decrease in the intensity of decomposition of macromolecular complexes and an increase in the content of macromolecular antiproteases. Indirectly, this may be evidenced by the tendency to increase the proteolytic activity of plasma for azocasein and azocol in rats with hypertension. An increase in the number of fragments of high- and low-molecular-weight complexes in blood plasma can lead to their deposition in the vessel wall and lead to disorders of intrahepatic microcirculation. Decreased plasma fibrinolytic activity and an increase in the number of fragments of medium and high molecular weight proteins can increase the viscosity of the parietal layer of plasma in small capillaries and lead to increased hyperviscosity due to the plasma component.

Experimental hypertension is characterized by an increased risk of thrombosis and a significant imbalance of POL-AOS, and if some antihypertensive drugs, such as ACE inhibitors and ARBs have a fibrinolytic effect, then to compensate for uncontrolled oxidative stress requires the introduction of a drug with antioxidant action. Quercetin in combination with povidone (Corvitin, NPC BHFZ Ukraine) was chosen as a well-known domestic drug.

Hypertension is characterized by a probable increase in the clotting time of hypertensive rats relative to the intact control group. Ramipril and candesartan monotherapy slightly increased this rate, but these changes were not statistically significant. The combination of ACE inhibitors and ARBs with corvitin significantly increases the clotting time by 1.2 times ($p \leq 0.05$) relative to the group of hypertensive untreated rats and brings it to the limits of physiological norm.

It was found that there was no significant statistical difference in the membrane-stabilizing activity of corvitin (at a dose of 30 mg / kg when administered intravenously is 64%, and when intravenously administered - 57%), therefore for further studies, the oral route of administration of corvitin in dose of 30 mg / kg, which was combined with the most commonly used antihypertensive drugs: ACE inhibitors - ramipril and ARBs - candesartan in the minimum therapeutic doses.

For the first time developed and scientifically substantiated a method of combined antihypertensive, metabolic, antithrombotic treatment of patients with GC, treatment with ramipril and candesartan during short-term (7 days) and long-term use (21 days), which has a positive effect on metabolic metabolism, reduces antioxidant protection, increases the content of the final metabolites of NO blood.

It was found that the use of ramipril in combination with corvitin has a pronounced systemic antioxidant protection and protection of target organs. The antioxidant effect of the combination is realized exclusively by the introduction of corvitin. The use of ramipril and ramipril with corvitin in experimental hypertension has no gender differences.

Candesartan, in combination with corvitin, has been shown for the first time to affect coagulation and fibrinolysis purely due to the pharmacological action of candesartan. The use of candesartan with corvitin caused a probable increase in NO levels. The positive effect of the combination on endothelial function increases with increasing duration of establishment. Thus, in SHR series rats treated, the level of NO metabolites increased by 35% during treatment for 7 days, and during long-term treatment by 87% and reached the level of intact animals.

Due to the introduction of corvitin in combination with candesartan, there is a significant antioxidant effect on the indicators of lipid peroxidation (MDA, DC) and AOC (SOD, GP, catalase) in blood plasma and target organs (myocardium, kidneys, liver). The systemic antioxidant effect of the combination of candesartan and corvitin relieves oxidative stress, which is an important factor in the pathogenesis of hypertension.

It was found that the content of fibrinogen is probably higher in rats of the hypertensive line compared with the content (2.89 ± 0.63 g / l) in rats of the intact line ($F = 3.86$; $p = 0.004$). The level of activity of factor XIII did not change with the indicators of intact rats. Analysis of the content of BP III in the plasma and heart muscle of both intact rats and rats of the SHR line revealed a significant deviation from the normal distribution (W in the Shapiro-Wilk test ~ 0.87; $p < 0.001$; in the Liliefors test $p < 0, 01$), so the content of BP III is presented as the median and 25-75

percentiles. Also in the group of spontaneously hypertensive rats there was a decrease in PAP compared with the group of intact rats. Hypertensive rats of the SHR series have been shown to have pathological shifts in the balance of the blood coagulation system and fibrinolytic activity, and the changes found are similar to thrombotic changes in patients.

The pharmacological efficacy of the new combinations was confirmed by histological studies, which found that hypertensive rats of the SHR series have significant pathological changes in the main structures of target organs exposed to high pressure compared to intact rats. Combination therapy of ramipril with corvitin and candesartan with corvitin significantly improved the morphological picture in all studied histostructures, compared with the intact group, and in animals treated with monotherapy only ramipril and candesartan. However, significant normalization of the structure of kidney, myocardial and liver cells was established only with the use of a new combination of these antihypertensive drugs with corvitin, which minimizes the effects of pathological processes in target cells and restores them to physiological norm.

Fragments of the dissertation are introduced into the scientific and pedagogical process of the departments: clinical pharmacy and clinical pharmacology of Vinnytsia National Medical University. E. Pirogov (Minutes № 4 dated 06.11.2018), pharmacology with clinical pharmacology of Ternopil National Medical University (Minutes № 8 dated 3.10.2018), pharmacology of Odessa National Medical University (Minutes № 3 dated 02.10.2018), of Internal Medicine № 2 with a course of clinical pharmacology of Odessa National Medical University (protocol № 4 from 05.11.2018), and in the treatment and prevention work of the Chernivtsi Regional Hospital for War Veterans (2018), and the hospital of emergency medical care of Chernivtsi (2018).

Key Words: hypertonic disease (GC), ischemic heart disease (CHD), genetically modified rat SHR series, ramipril, candesartan, corvitin.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....17
ВСТУП.....18
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО ПАТОГЕНЕЗУ ТА ТЕРАПІЇ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ. ШЛЯХИ УДОСКОНАЛЕННЯ ТЕРАПІЇ (огляд літератури)……..26
1.1. Сучасні погляди на етіопатогенез артеріальної гіпертензії.....26
1.2. Аналіз міжнародних рекомендацій та протоколів лікування артеріальної гіпертензії…….....33
1.3. Переваги комбінованої терапії артеріальної гіпертензії із застосуванням кверцетину…….....39
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ……....46
РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ СИСТЕМИ ФІБРИНОЛІЗУ У ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ТА ПОШУК ОПТИМАЛЬНОГО ШЛЯХУ ВВЕДЕННЯ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНИХ ПРЕПАРАТІВ ІЗ КОРВІТИНОМ...……..56
3.1. Вивчення змін антитромботичного профілю у щурів гіпертензивної лінії SHR ……..56
3.2. Дослідження змін балансу ПОЛ-АОС у щурів гіпертензивної лінії SHR.....…61
3.3. Скринінгові дослідження з пошуку оптимального шляху введення корвітину.....76
3.4 Дослідження впливу монотерапії раміприлу і кандесартану та їх комбінації з корвітином на показники артеріального тиску у гіпертензивних щурів……..……...78
РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНАЦІЇ РАМІПРИЛУ ІЗ КОРВІТИНОМ НА ФІБРИНОЛІТИЧНИЙ ТА АНТИОКСИДАНТНИЙ

БАЛАНС ЩУРІВ ГІПЕРТЕНЗИВНОЇ ЛІНІЇ SHR ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ТА НЕТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ……..82

4.1. Дослідження впливу комбінації раміприлу із корвітином на показники згортання крові та ендотеліальний стан судин у гіпертензивних щурів……83

4.2. Вивчення дії комбінації раміприлу із корвітином на баланс ПОЛ-АОС у гіпертензивних щурів ……..93

РОЗДІЛ 5. ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНАЦІЇ КАНДЕСАРТАНУ ІЗ КОРВІТИНОМ НА ФІБРИНОЛІТИЧНИЙ ТА АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС ЩУРІВ ГІПЕРТЕНЗИВНОЇ ЛІНІЇ SHR ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ТА НЕТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ …….....104

5.1. Дослідження впливу комбінації кандесартану із корвітином на показники згортання крові та ендотеліальний стан судин у гіпертензивних щурів……...105

5.2. Вивчення дії комбінації кандесартану із корвітином на баланс ПОЛ-АОС у гіпертензивних щурів …….……....112

РОЗДІЛ 6. ГІСТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ НОВИХ КОМБІНАЦІЙ РАМІПРИЛУ ІЗ КОРВІТИНОМ ТА КАНДЕСАРТАНУ ІЗ КОРВІТИНОМ НА ОРГАНИ МІШЕНІ ЩУРІВ ГІПЕРТЕНЗИВНОЇ ЛІНІЇ SHR....……..124

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ……...…....137

ВИСНОВКИ 146

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 148

ДОДАТКИ ...……...…166

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

NO – монооксид нітрогену
SHR – спонтанно-гіпертензивні щурі
АГ – артеріальна гіпертензія
АЛТ – аланінамінотрансфераза
АОЗ – антиоксидантний захист
АОС– антиоксидантна система
АПФ – ангіотензин-перетворювальний фермент
АСТ – аспартатамінотрансфераза
АТ – артеріальний тиск
АТ III – антитромбін III
АФК – активні форми кисню
БРА – блокатори рецепторів ангіотензину II
ГВ – глутатіон відновлений
ГП – глутатіонпероксидаза
ГХ – гіпертонічна хвороба
ДАТ – діастолічний артеріальний тиск
іАПФ – інгібітори ангіотензин-перетворювального ферменту
ІХС – ішемічна хвороба серця
ЛЗ – лікарський засіб
МДА – малоновий діальдегід
МР – мінералокортикоїдні рецептори
МТ – метаболічна терапія
ПАП – потенційна активність плазміногену
ПОЛ – перекисне окислення ліпідів
РААС – ренін-ангіотензин-альдостеронова система
САТ – систолічний артеріальний тиск
СН – серцева недостатність
ССС – серцево-судинна система
ХНН – хронічна ниркова недостатність
ХОЗЛ – хронічне обструктивне захворювання легень
ХСН – хронічна серцева недостатність
ЧСС – частота серцевих скорочень

ВСТУП

Обгрунтування вибору теми дослідження. Поширеність і невпинне зростання частоти випадків артеріальної гіпертензії (АГ) є найважливішою медико-соціальною проблемою всього світу та України. Серцево-судинні захворювання (ССЗ) є причиною смерті номер 1 у всьому світі, щороку забираючи, за оцінками експертів ВОЗ, 17,9 мільйона життів. ССЗ є групою розладів серця та судин і включають АГ, ішемічну хворобу серця, цереброваскулярну хворобу, ревматичну хворобу серця та інші стани. Чотири з п`яти випадків смертності від серцево-судинних захворювань трапляються внаслідок гіпертонічного кризу, який провокує розвиток гострого серцевого нападу, інсульту тощо. Одна третина цих смертей настає передчасно у людей до 70 років. Особи, яким загрожує ССЗ, зазвичай демонструють підвищений артеріальний тиск, надмірний рівень глюкози та ліпідів, а також ожиріння [1].

За даними Європейської кардіологічної асоціації серцево-судинними захворюваннями страждає 30% жінок та 33% чоловіків до пенсійного віку. Ситуація суттєво погіршилась за останній рік, коли на фоні пандемії COVID-19, суттєво збільшилась захворюваність та летальність на серцево-судинні захворювання, через те, що пацієнти не звертаються вчасно до лікаря та відповідно не отримують терапію. Так, лише в Україні летальність від ССЗ за перше півріччя збільшилась у 3 рази порівняно із минулим роком. Також ССЗ та АГ в частності збільшують на 16,8% коефіцієнт летальності серед пацієнтів із COVID-19 [2]. Ще однією нагальною проблемою, є відсутність адекватної терапії ССЗ та в першу чергу АГ, через низьку обізнаність населення України, щодо наявності у них АГ. Проведені епідеміологічні дослідження засвідчили, що в Україні обізнані щодо наявності АГ 81% міських мешканців і 68% сільських жителів із підвищеним АТ. Приймають будь-які антигіпертензивні препарати відповідно 48% і 38% пацієнтів, а ефективність лікування становить лише 19% у міській і 8% у сільській місцевостях. За останні 5 років спостерігається тенденція щодо погіршення цих показників. За даними статистики станом на 2017 рік ефективність контролю АТ серед міських

жителів складала менше 15% [3]. АГ у осіб похилого та старечого віку є найпоширенішим хронічним вік-залежним захворюванням. Зростання захворюваності на АГ з віком має універсальний характер – поширюється на всі раси, етнічні та статеві групи. За темпами приросту у віковій групі старше 60 років АГ реєструється в 2 рази частіше, ніж у віці 40-59 років. Згідно з даними офіційної статистики, більше половини гіпертензивних осіб в Україні – люди пенсійного віку.

Патогенез артеріальної гіпертензії має каскадний характер, де одна із патогенетичних ланок індукує розвиток іншої. Сучасні антигіпертензивні засоби чинять потужний антигіпертензивний ефект, але не менш важливим є антиоксидантна дія через розвиток потужного оксидативного стресу, кардіопротекторна дія - через ризик розвитку ремоделювання міокарда, антитромботична дія тощо [4].

Через те, що АГ має характер пандемії, в Україні у 1999 р. була розроблена Національна програма профілактики і лікування АГ, у 2017 р. прийнята Клінічна настанова «Артеріальна гіпертензія», які як і сучасні міжнародні стандарти «Guidelines 2020 з лікування артеріальної гіпертензії» рекомендують включати у схему лікування інгібітор ангіотензин-перетворюючого ферменту (іАПФ) раміприл або блокатори рецепторів ангіотензину II (БРА) кандесартан у вигляді монотерапії та в комбінаціях з іншими лікарськими засобами. На жаль сучасні схеми лікування не чинять вплив на усі патогенетичні ланки АГ, такі як оксидативний стрес, порушення у системі фібринолізу тощо.

Світові тенденції сучасних фармакологічних досліджень, свідчать, що перспективним напрямком експериментального пошуку є не створення принципово нових молекул, а удосконалення схем лікування внаслідок пошуку нових ефективних комбінацій відомих лікарських засобів.

Аналіз фармацевтичного ринку України свідчить про відсутність комбінацій для терапії АГ із антигіпертензивним та антиоксидантним впливом одночасно [5].

З огляду на вищезазначене, актуальним завданням сучасної фармакології є розробка і впровадження у медичну практику нових комбінацій лікарських засобів, здатних впливати на основні ланки патогенезу та клінічні прояви АГ.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є фрагментом бюджетної науково-дослідної роботи кафедри патологічної фізіології БДМУ «Нові методичні підходи до патогенетичного лікування дисфункції проксимального відділу нефрона за умов розвитку дизрегуляційного патологічного процесу ниркового та позаниркового походження» (термін виконання: 2018 – 2020 роки) (№ держреєстрації 0118U001193). Автор є співвиконавцем даної науково-дослідної роботи.

Мета і завдання роботи. *Мета роботи* - теоретичне та експериментальне обгрунтування доцільності використання нових комбінацій раміприлу із корвітином та кандесартану із корвітином для лікування артеріальної гіпертензії.

Для досягнення поставленої мети було вирішено такі *завдання:*

1. Вивчення змін антитромботичного профілю у щурів гіпертензивної лінії SHR.
2. Визначити оптимальний шлях введення корвітину з метою його включення до комбінації з антигіпертензивними ЛП.
3. Дослідження впливу комбінації раміприлу із корвітином на фібринолітичний та антиоксидантний баланс щурів гіпертензивної лінії SHR за умов тривалого та нетривалого введення.
4. Вивчення впливу комбінації кандесартану із корвітином на фібринолітичний та антиоксидантний баланс щурів гіпертензивної лінії SHR за умов тривалого та нетривалого введення.
5. Гістологічні дослідження впливу нових комбінацій раміприлу із корвітином та кандесартану із корвітином на органи мішені щурів гіпертензивної лінії SHR.

Об'єкт дослідження: оптимізація фармакотерапії артеріальної гіпертензії.

Предмет дослідження: фармакологічні властивості нових комбінацій раміприлу із корвітином та кандесартану із корвітином.

Методи дослідження. При виконанні дисертаційної роботи було використано фармакологічні (вивчення уражень органів мішеней у моделі артеріальної гіпертензії спонтанно гіпертензивних щурів під час застосування раміприлу та кандесартану), біохімічні (визначення рівня малонового альдегіду, рівня глутатіону відновленого, активності каталази та глутатіонпероксидази, вмісту метаболітів монооксиду нітрогену), гемостазіологічні (визначення вмісту фібриногену, рівня XIII фактору, активності антитромбіну III, стану ферментативного та неферментативного фібринолізу, стану системного протеолізу, потенційної активності плазміногену), імунологічні (визначення активності кініногену), гістологічні методи дослідження (метод світлової мікроскопії, фарбування гістологічних зразків гематоксилін-еозином), математико-статистичні (розрахунок середніх величини та їх стандартної похибки, використання дисперсійного аналізу із проведенням множинних міжгрупових порівнянь, кореляційного аналізу).

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційному дослідженні вперше експериментально встановлені біохімічні зміни характерні для експериментально гіпертензивних щурів. Встановлено, що у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR спостерігаються характерні розлади з боку систем згортання крові, а саме: визначається вірогідне збільшення концентрації фібриногену як у плазмі крові, так і в серцевому м'язі, порівняно зі щурами інтактної лінії. Рівень фібринстабілізуючого фактору та активність антитромбіну III вірогідно не відрізняється від такої, що визначається у інтактних щурів. Активність ПАП вірогідно знижується у серцевому м'язі щурів лінії SHR порівняно з інтактними лабораторними тваринами. Гіпертензовані щурі лінії SHR, характеризуються значним дисбалансом системи ПОЛ-АОС, із активацією перекисного окислення (за показником МДА)

та зниженням ферментативної (СОД, каталаза, ГП) та неферментативної (ГВ) активності ендогенної антиоксисної системи. Зазначені зміни балансу ПОЛ-АОС, не мають суттєвих гендерних відмінностей.

З метою оптимізації антигіпертензивної терапії було обрано кверцетин, у комплексі із повідоном («Корвітин» НПЦ «БХФЗ» Україна). Корвітин у дозі 30 мг/кг має рівнозначну антиоксидантну дію, яка була верифіковано за ступенем гемолізу еритроцитів, при двох шляхах введення: внутрішньовенному та внутрішньошлунковому. Для подальших досліджень було обрано пероральний шлях введення корвітину у дозі 30 мг/кг, який поєднували з найбільш уживаними антигіпертензивними ЛП: іАПФ – раміприлом та БРА-кандесартаном у мінімальних терапевтичних дозах.

Вперше встановлено, що застосування раміприлу в комбінації з корвітином чинить виражений системний антиоксидантний захист та захист органів мішеней. Антиоксидантна дія комбінації реалізується виключно введенням до її складу корвітину. Застосування раміприлу та раміприлу із корвітином за умов експериментальної АГ немає гендерних відмінностей.

Вперше доведено, що застосування кандесартану в комбінації з корвітином, чинило вплив на показники згортання крові та фібринолізу суто за рахунок фармакологічної дії кандесартану. Застосування кандесартану із корвітином викликало вірогідне зростання рівнів NO. Позитивний вплив комбінації на ендотеліальну функцію зростає при збільшенні тривалості застосування. Так, у щурів серії SHR, які отримували лікування, рівень метаболітів NO збільшився на 35% при лікуванні протягом 7 днів, а при тривалому лікуванні на 87% і досягав рівня показників інтактних тварин.

За рахунок введення корвітину у комбінацію кандесартану та корвітину, відбувається значний антиоксидантний вплив на показники ПОЛ (МДА, ДК) та АОС (СОД, ГП, каталаза) у плазмі крові та органах мішенях (міокард, нирки, печінка). Системний антиоксидантний вплив комбінації кандесартану та корвітину нівелює оксидативний стрес, який є вагомим фактором патогенезу

АГ. Застосування кандесартану в комбінації із корвітином за умов експериментальної АГ немає гендерних відмінностей.

Переваги застосування комбінацій раміприлу із корвітином та кандесартану із корвітином у експериментально гіпертензивних щурів підтверджені гістологічними дослідженнями.

Практичне значення роботи. Отримані в дисертаційній роботі експериментальні дані доводять наявність специфічного антитромботичного, ендотелійпротекторного та органопротекторного потенціалів комбінації корвітину із раміприлом та кандесартаном впродовж їхнього нетривалого та тривалого застосування. А також доведено, що саме комбінована терапія антигіпертензивних препаратів (раміприлу, кандесартану) та корвітину дає можливість впливати на основні ланки патогенезу АГ набагато краще, ніж монотерапія.

Отримано патент на корисну модель, що дозволяє оптимізувати спосіб лікування артеріальної гіпертензії, поєднаної з ішемічною хворобою серця у спонтанно-гіпертензивних щурів (патент на корисну модель № 111343 Україна № u 201604140 / А. В. Марущак, Є. І. Шоріков, І. Р. Тимофійчук; заявл. 15.04.2016; опубл. 10.11.2016, Бюл. № 21.).

Фрагменти дисертаційної роботи впроваджено у науково-педагогічний процес кафедр: клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол № 4 від 06.11.2018 р.), фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету (протокол № 8 від 3.10.2018 р.), фармакології Одеського національного медичного університету (протокол № 3 від 02.10.2018 р.), внутрішньої медицини № 2 з курсом клінічної фармакології Одеського національного медичного університету (протокол № 4 від 05.11.2018 р.), та у лікувально-профілактичну роботу Чернівецького обласного госпіталю ветеранів війни та лікарні швидкої медичної допомоги м. Чернівці (2018 р.).

Особистий внесок здобувача. Робота виконана на базі кафедри внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб

Буковинського державного медичного університету. Дисертант особисто провів патентно-інформаційний пошук, проведено аналіз даних літератури за темою дисертації, опрацював наукову літературу, взяв участь в експериментальних дослідженнях, провів статистичну обробку й аналіз отриманих результатів із оформленням їх у вигляді таблиць та рисунків, графіків і діаграм, сформулював основні положення та висновки. Всі розділи дисертації та автореферат написані та оформлені автором самостійно.

Співавторами наукових праць є науковий керівник Є.І. Шоріков та науковці, за консультативної допомоги та участі яких проведено деякі дослідження – І. Р. Тимофійчук, Д. В. Шорікова, В. С. Гайдичук, Ю. Є. Роговий, І. С. Давиденко, В. І. Швець. Особисту участь у кожному дослідженні наведено у списку опублікованих праць за темою дисертації.

Гістологічні дослідження проведені за консультативної допомоги завідувача кафедри патоморфології Буковинського державного медичного університету, д.мед.н., професора І. С. Давиденка. Дисертант вдячний всім науковцям за консультативну допомогу.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертаційного дослідження були викладені й обговорені у матеріалах XVI конгресу Світової Федерації Українських Лікарських Товариств: «Пероксидне окислення ліпідів та стан антиоксидантного захисту в спонтанно-гіпертензивних щурів» (серпня 8-23 2016; Берлін-Київ. Одеса: Видавництво Бахтенєва; с. 209.); у матеріалах XV конгресу Світової Федерації Українських Лікарських Товариств: «Оптимізація схем фармакотерапії хворих на артеріальну гіпертензію шляхом проведення фармакоекономічного аналізу використання інгібітора АПФ раміприлу» (16-18 жовтня 2014; Чернівці-Київ-Чікаго. Українські медичні вісті. 2014;11(1-4):487); у матеріалах Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання клінічної медицини»: «Зміни пероксидного окислення ліпідів та стану антиоксидантного захисту у спонтанно-гіпертензивних щурів» (30 жовтня 2015; Запоріжжя; с. 72-3); у IV міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини»: «Зміни

пероксидного окислення ліпідів та стану антиоксидантного захисту в спонтанно-гіпертензивних щурів під час експериментального лікування раміприлом та кандесартаном» (21-22 квітня 2016; Суми: Сумський державний університет; с. 69-70); у матеріалах науково-практичної конференції з міжнародною участю «Вікові та хронобіологічні аспекти медицини та фармації»: «Ендокринна регуляція активності брадикінінів у спонтанно-гіпертензивних щурів лінії SHR при лікуванні раміприлом і кандесартаном коротко та довготривалої дії» (4-5 жовтня 2018; Чернівці: БДМУ; 2018, с. 75-7); Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»: «Pharmacoeconomic analysis of the use of ramipril and candesartan in patients with arterial hypertension» 2018, 3: 8-13; The unity of science: International scientific periodical journal: «Lipid peroxidation and state of antioxidant protection in spontaneously hypertensive rats during and experimental treatment ramipril and candesartan» (2016; 5:131-3); The unity of science: International scientific periodical journal: «Features changes parameters fibrinolysis and proteolysis in spontaneously hypertensive rats, if treatment Ramipril» (2017; 1-2:116-8); Journal of pharma research: «Short and long-term use of candesartan and ramipril in spontaneously hypertensive rats, liver, kidney and heart morphology» 2019; 8(1). С. 15.

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 21 наукову працю: 13 статей, серед яких 7 – у наукових профільних виданнях, рекомендованих МОН України, та 6 – у зарубіжних наукових профільних виданнях, 7 тез доповідей, 1 деклараційний патент України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 185 сторінках комп’ютерного друку, складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 6 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел у кількості 145 найменувань, з яких 19 кирилицею та 126 латиницею, і додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 145 сторінок друкованого тексту. Робота проілюстрована 45 таблицями та 32 рисунками.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО ПАТОГЕНЕЗУ ТА ТЕРАПІЇ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ. ШЛЯХИ УДОСКОНАЛЕННЯ ТЕРАПІЇ (огляд літератури)

1.1 Сучасні погляди на етіопатогенез артеріальної гіпертензії

АГ належить до найбільш поширених неінфекційних захворювань населення всього світу та асоціюється з підвищенням ризику серцево-судинної смертності. У багатьох випадках АГ одночасно діагностується із цукровим діабетом, ожирінням, ішемічною хворобою серця, порушеннями мозкового кровообігу тощо [6].

У останньому звіті European Society of Cardiology (2020) [7] наведено результати дослідження INTERHEART, у якому було виявлено вісім основних факторів ризику розвитку ССЗ та летальності, які становлять значний вплив на > 90% населення (табл.1.).

Таблиця 1.

Фактори ризику ССЗ та летальності від ССЗ

№	Фактор	Характеристика
1	2	3
1	АГ	У країнах ЄС майже кожен четвертий чоловік має підвищений артеріальний тиск (≥ 140 / 90 мм. рт.ст.). Систолічний артеріальний тиск був вищим у чоловіків порівняно з жінками та країн середнього рівня доходу порівняно з країнами з високим рівнем доходу.
2	Холестерин	В усіх країнах ЄС приблизно кожен сьомий чоловік мав гіперхолестеринемію (≥ 6,2 ммоль / л). Показники однакові для жінок і чоловіків, але були значно нижчими для країн середніх доходів порівняно із країнами з високими доходами.

Продовж. таблиці 1.

1	2	3
3	Цукровий діабет	У країнах-членах ЄС більше, ніж кожен 20 дорослий страждає на ЦД. Поширеність зросла втричі за останні 25 років.
4	Ожиріння	В усіх країнах-членах ЄС стандартизовані за віком дані показали, що кожен п'ятий дорослий страждає ожирінням, яке визначено індексом маси тіла ≥ 30. Поширеність серед населення - 22,6%.
5	Куріння	Більше 20% дорослого населення палить тютюн. Куріння було рідше у жінок, ніж у чоловіків, особливо в країнах із середнім рівнем доходу.
6	Алкоголь	Споживання алкоголю втричі вище серед чоловіків порівняно з жінками та майже вдвічі вище у країнах з високим рівнем доходу порівняно з країнами із середнім рівнем доходу.
7	Вживання овочів та фруктів	Вкрай низьке, навіть у країнах із високим рівнем доходів. У країнах-членах ЄС трохи більше половини дорослих споживають на добу порцію овочів і фруктів, причому споживання більше у жінок, ніж у чоловіків.
8	Фізична активність	В усіх країнах-членах ЄС фізична активність була оцінена недостатньо у кожного третього дорослого. Рівень бездіяльності був дещо вищим серед жінок у порівнянні з чоловіками та в країнах з високим рівнем доходу порівняно з країнами із середнім рівнем доходу.

Як видно з таблиці 1. провідним фактором розвитку ССЗ та летальності від них є АГ, яка поєднується із вкрай низьким вживанням свіжих овочів та фруктів, які як відомо є джерелом екзогенних антиоксидантів.

Тенденції, задокументовані у звіті European Society of Cardiology (2020), ставлять завдання щодо відносного зниження поширеності підвищеного

артеріального тиску на 25% та зупинки зростання ожиріння, що навряд чи вдасться досягти.

На сьогоднішній день у сучасній медичній науці чітко визначилося значення окисного (оксидативного) стресу як ключового патогенетичного механізму при захворюваннях, що входять до серцево-судинного континууму взагалі, та зокрема АГ. Гіпертензія спочатку супроводжується активацією ренінангіотензинової і симпатоадреналової систем, розвитком тканинної гіпоксії, що призводять до надмірного утворення активних форм кисню (АФК) і різних продуктів його метаболізму, що поряд із зниженням активності захисної антиоксидантної системи організму характеризуються як оксидативний стрес [8].

Формування потужного оксидативного стресу загрожує серйозними порушеннями: дезорганізацією клітинних структур, змінами їх функціональної активності. При АГ деструктуризацію мають ендотеліоцити, кардіоміоцити, міофібробласти, фібробласти, а також позаклітинний матрикс, модифікації яких лежать в основі подальших гіпертензивних ушкоджень судинної стінки і кардіоваскулярного ремоделювання. Відповідно до сучасних уявлень, причинами посилення вільнорадикальних процесів при стресі є гіперкатехоламінемія та обумовлена нею тканинна гіпоксія [9].

Дисбаланс системи ПОЛ-АОС при АГ характеризується прогресивним патологічним ремоделюванням клітин кардіо-васкулярної системи, як правило, пов'язаним із змінами позаклітинного матриксу [10].

Активація ПОЛ викликає альтерацію білків, нуклеїнових кислот, ліпідних структур клітини. Крім жирних кислот, АФК окислюють в ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ) сироватки крові та інші субстрати. Стимуляція вільнорадикальних процесів в тканинах внутрішніх органів викликає посилення генерації в них ендогенних альдегідів і, як наслідок цього, виникнення карбонільного стресу. При розпаді ліпопероксидів в окислених ЛПНЩ генеруються ненасичені альдегіди і малоновий діальдегід (МДА) - один з найбільш поширених альдегідів, що утворюються в результаті перекисного

окислення арахідонової, ейкозапентаєнової і докозагексаєнової кислот. У свою чергу вони здатні утворювати комплекси з аміногрупами лізинових залишків молекул апо-В-100, що викликає зміну структури частинок ЛПНЩ. Крім того, МДА індукує процес карбонілювання окислених модифікованих білків. Серед продуктів пероксидації істотна роль в ушкодженні клітинних структур і порушення їхнього функціонування належить також перекису азоту - нітритам, нітропероксиду і пероксинітриту, що володіє сильним токсичним впливом на клітини і тканини організму.

Додаткові білкові продукти окислення (AOPP - advanced oxidation protein product) розглядаються в якості маркерів вираженості окислювального стресу, підвищення їх рівня в сироватці крові пов'язане з розвитком асоційованих з віком захворювань. Слід також підкреслити патогенетичну роль карбонільного стресу в формуванні клітинних ушкоджень внутрішніх органів. Модифіковані білки - продукти токсичної дії вільних радикалів і активних форм кисню / азоту, які представляють собою один з потужних елементів клітинної сигналізації. В силу широкої природньої поширеності білків і стабільності продуктів їх окислення оцінка окисної модифікації протеїнів вважається надійним маркером оксидативного ушкодження. Таким чином, предикторами і безпосередніми факторами патогенезу великого числа захворювань серцево-судинної системи, в тому числі АГ, визнається інтенсифікація вільнорадикального окислення всіх головних метаболічних субстратів - ліпідів, білків, оксиду азоту, яка при неефективності антиокисної системи захисту перетворюється в оксидативний стрес з його нітрозилюючим і карбонільним компонентами. При вивченні метаболічних окислювальних механізмів в патогенезі АГ залишається багато нез'ясованих і суперечливих питань, особливо щодо поєднаних окислювальних змін [11].

Схематично оксидативний стрес та його вклад у патогенез АГ у осіб похилого віку за Guzik T.J. (2017) [12] наведено на рис. 1.

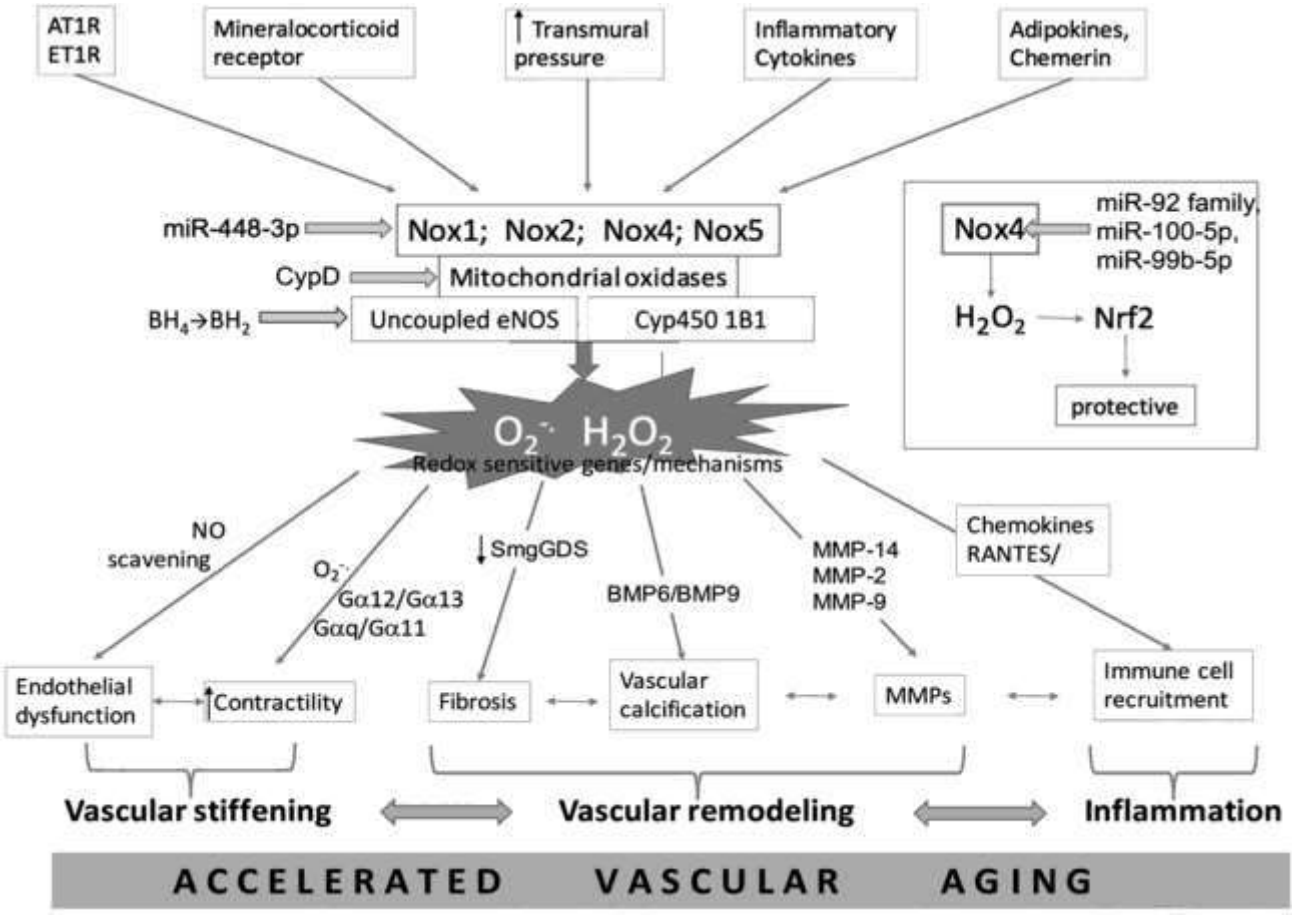

Рис.1. Окислювальний стрес, ключові механізми дисфункції ендотелію та пошкодження артерій на тлі АГ за Guzik T.J. (2017)

Примітки: AT1R вказує на рецептор ангіотензину II типу 1; BH2, дигідробіоптерин; BH4, тетрагідробіоптерин; BMP, кістковий морфогенний білок; CypD, циклофілін D; eNOS, ендотеліальна NO-синтаза; ET1R, рецептор ендотеліну 1; H_2O_2, перекис водню; MMP, матрична металопротеїназа; NO, НАДФН-оксидаза; O^{2-}., Супероксид-аніон; RANTES, регульований на активацію, нормальний експресований Т-клітинний секретований хемокін; та SmgGDS, стимулятор дисоціації білка, що зв’язує GTP.

Значну роль у регуляції оксидативного стресу при АГ та передчасному старінні судин мають рецептори мінералокортикоїдів. Вже багато років відомо, що ефекти активації альдостерону та мінералокортикоїдних рецепторів (МР) на судинну систему опосередковуються оксидативним стресом. Важливість МР-

блокади підкреслюється її клінічними перевагами при резистентній гіпертензії [13].

Протягом останніх кількох років науковцям вдалося більш точно зрозуміти механізми судинних супутніх захворювань. Так, у клінічному фармакологічному дослідженні Arnold A.C. та співавт. [14] доведено, що активація МР відіграє певну роль у гіпертонії вегетативної недостатності, що можна вважати також особливістю судинного старіння. Невідповідна активація МР сприяє гіпертонії людини незалежно від канонічних мінералокортикоїдних ефектів. Це дало обґрунтування для використання еплеренону у цих пацієнтів. Така аберрантна активація МР спостерігається щодо гіпертонічного ураження органу-мішені, наприклад, при серцевій недостатності [15], ключовий механізм включає малу активацію GTPase Rac1 та посилення індукції гена NO4 і перевиробництво АФК, яке в контексті перенапруження серця не є захисним. МР є, таким чином, ключовою терапевтичною мішенню для запобігання ураження серцевих та ниркових органів-мішеней при АГ і може попередити розвиток діастолічної дисфункції та розвиток серцевої недостатності [16].

У клінічному дослідженні Briet M. (2016) [17] встановлено, що ефекти альдостерону, стосуються рецепторів ангіотензину 1а типу. Це видно з індукованої альдостероном судинної травми, яка немає клінічних проявів у експериментальних тварин, яким вводили блокатор рецепторів ангіотензину II (БРА) типу AT1 – лозартан.

Ендотеліальна дія МР є важливою для розвитку не тільки ендотеліальної дисфункції та АГ, але й опосередкування гіпертонічної серцевої травми та дисфункції [18; 19; 20]. Ці явища говорять про те, що блокада МР може забезпечити ключову стратегію затримки та запобігання особливостям серцево-судинного старіння.

Запальні механізми патогенезу АГ також пов’язані з оксидативним стресом. Збільшення доказів свідчить про важливу залежність між запаленням та гіпертонічною хворобою [21; 22; 23; 24].

Оксидативний стрес займає центральне місце в патогенезі АГ як ініціатор запалення судин та нирок, так і наслідок запальних реакцій та цитокінів [25; 26].

Сучасні дослідження показали, що Т-клітини імунної системи організму є ключовими для гіпертонії, їх роль пов’язана з тісною взаємодією з іншими елементами вродженого, клітинного та гуморального імунітету [27; 28]. Зокрема, В-клітини також є важливими у патогенезі АГ і саме їх відсутність пов’язана зі зменшенням судинного окисного стресу.

Слід зазначити, що ожиріння, як один із факторів розвитку АГ, також має роль у патогенезі та пов’язане з особливо високою імунною активацією, яка може сприяти гіпертонії як неспецифічно через цитокіни та адипоцитокіни, так і через більш конкретні механізми. Наприклад, нова роль рецепторів FcγRIIB у патогенезі гіпертонії, спричиненої ожирінням, незалежно від процесів, що регулюють ожиріння, і може спричинити IgG-індуковане послаблення функції eNOS. Підходи, орієнтовані на FcγRIIB, можуть потенційно запропонувати нові засоби для лікування гіпертонії у людей із ожирінням [29]. Хоча антитіла здаються важливими, В-клітини можуть проявляти свій вплив завдяки В-клітинному вкладу у виробництво цитокінів, наприклад, фактору некрозу пухлини-α, 80, було показано, що вони є гіпертензивними та проатеросклеротичними [30]. Зростає інтерес до розкриття механізмів активації імунних клітин судинної стінки. Підвищений оксидативний стрес в дендритних клітинах призводить до збільшення здатності до презентації антигену, в якому беруть участь NO_2 та ізолевугландини, які збільшують здатність дендритних клітин керувати проліферацією Т-клітин. Регуляція антиген-презентуючої функції клітин при гіпертонії, полягає в тому, що Т-клітини активують запальну сигналізацію через My88D та активацію ядерного фактора κB, важливого для серцевого та ниркового ураження і потенційно для розвитку високого АТ [31; 32]. Крім того, адипокіни, такі як резистин, можуть індукувати гіпертонію залежно від рівня TLR4. [33].

Нещодавнє дослідження з питань патогенезу АГ продемонструвало, що TLR4-залежна активація індукуючого білок інтерферону-β-адаптера, що містить домен рецептора інтерлейкін-рецептора, сприяє ангіотензину II, гіпертензії та серцевій гіпертрофії. У той же час, залежний від MyD88 шлях може парадоксально інгібувати прогіпертензивні реакції. [34].

Таким чином, можна резюмувати, що оксидативний стрес є ключовою ланкою в патогенезі АГ [35; 36; 37].

1.2 Аналіз міжнародних рекомендацій та протоколів лікування артеріальної гіпертензії

Найсучасніші Guidelines з терапії АГ, були опубліковані у 2018 р. («Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH)») та у 2020 р. («International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines») [38; 39] і мають головну місію, спрямовану на зменшення глобального тягаря підвищеного артеріального тиску (АТ).

Міжнародні рекомендації базуються на доказових стандартах допомоги та розроблені для країн із різним рівнем ресурсів та доходів населення.

Відповідно до більшості основних рекомендацій рекомендується діагностувати АГ, коли систолічний артеріальний тиск (САТ) людини в офісі чи клініці становить ≥ 140 мм рт. ст. та / або діастолічний артеріальний тиск (ДАТ) ≥ 90 мм рт. ст.

Застосування вимірювань АТ в офісі та поза ними (домашні або амбулаторні) дозволяє виявити осіб з гіпертензією «білого халата», які мають підвищений АТ лише в офісі (непідвищений амбулаторний або домашній АТ), та осіб з «АГ у масці», які не мають підвищеного АТ в офісі, але підвищений АТ поза офісом (амбулаторний або домашній) [40; 41; 42; 43; 44].

Близько 10% – 30% пацієнтів на АГ, які відвідують клініки через високий АТ, мають гіпертонію «білого халата», а 10% – 15% «АГ у масці».

АГ «білого халата»: ці пацієнти мають середній серцево-судинний ризик між нормотензивами та стійкими гіпертоніками. Діагноз потребує підтвердження повторними вимірами АТ в офісі та поза ним. Якщо загальний серцево-судинний ризик у них низький і немає гіпертонічно-опосередкованого пошкодження органів (HMOD), медикаментозне лікування може не призначатися. Однак таким пацієнтам слід дотримуватися модифікації способу життя, оскільки вони мають високий ризик розвитку стійкої гіпертензії, яка потребує медикаментозного лікування.

«АГ у масці»: у цих пацієнтів ризик серцево-судинних подій подібний до стійких гіпертоніків. Діагноз потребує підтвердження при повторних вимірах в офісі та поза ним, може знадобитися медикаментозне лікування, спрямоване на нормалізацію АТ поза офісом [45; 46].

Лікування АГ повинно включати в першу чергу модифікацію способу життя. Модифікація способу життя - це перша лінія антигіпертензивного лікування. Рекомендовано:

- ✓ зниження вживання солі. Є вагомі докази взаємозв’язку між високим споживанням солі та підвищенням АТ [47].
- ✓ здорова дієта. Харчування, багате цільнозерновими продуктами, фруктами, овочами, поліненасиченими жирами та молочними продуктами, а також зменшення їжі з високим вмістом цукру, насичених жирів та трансжирів, наприклад дієта DASH [48];
- ✓ збільшити споживання овочів та фруктів, із високим вмістом магнію, кальцію, калію, біофлавоноїдів тощо [49];
- ✓ зменшення споживання кофеїну, алкоголю, тютюну [50; 51];
- ✓ збільшення фізичних навантажень [52; 53].

Модифікації способу життя можуть посилити ефекти антигіпертензивного лікування.

Фармакологічне лікування АГ. Сучасні дані з більш ніж 100 країн [54; 55] свідчать про те, що в середньому менше 50% дорослих з гіпертензією отримують ліки, що знижують АТ, причому деякі країни мають кращі результати, а багато інших країн - гірші. Це свідчить, що питання оптимальної фармакотерапії АГ залишається відкритим, навіть для країн-лідерів, із високим рівнем економічних, соціальних, медичних показників.

Рекомендовані стратегії фармакологічного лікування, за «International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines 2020» наведено на рис.2.

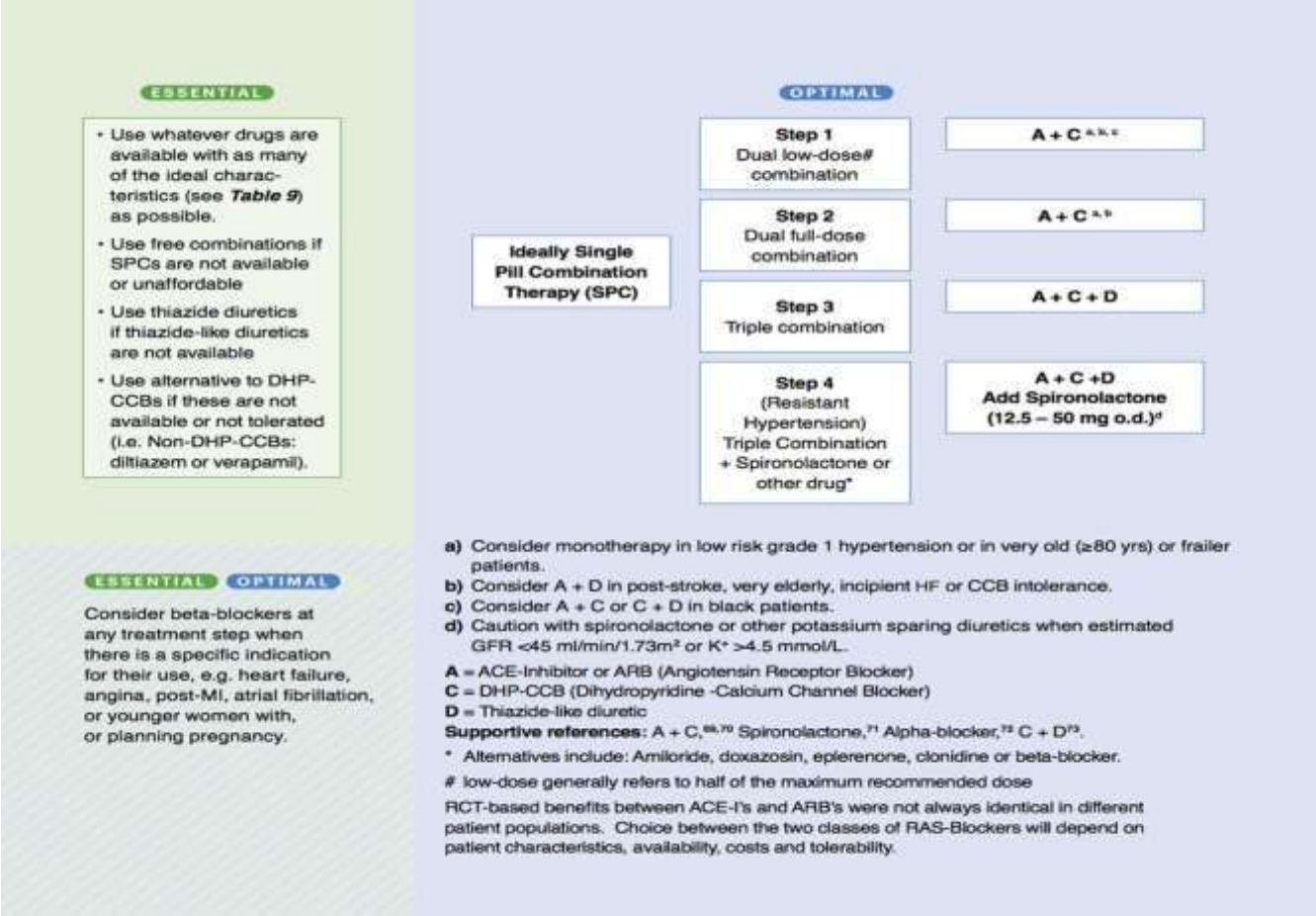

Рис.2 Основна стратегія фармакотерапії АГ.

Зазначена стратегія лікування АГ із першочерговим включенням ЛП групи іАПФ та БРА базована на сучасних клінічних дослідженнях [56; 57; 58].

Вищезазначене вимагає більш детального розгляду ЛП групи іАПФ та БРА. Першими з’явилися і стали використовуватися в клінічній практиці іАПФ

(середина 70-х рр. минулого сторіччя), у 1994 році на ринку з'явився лозартан - перший блокатор рецепторів ангіотензину II (БРА). З появою нового класу антигіпертензивних препаратів пов'язували особливі надії, так як вважалося, що БРА краще, ніж іАПФ, пригнічують ефекти ангіотензину II. Це пояснювалося тим, що іАПФ блокують тільки основний шлях утворення ангіотензину II (він може утворюватися і іншими шляхами), а БРА блокують рецептори до ангіотензину II і тим самим - його дія незалежно від того, яким шляхом відбулося утворення ангіотензину II. Іншими словами, БРА покликані більшою мірою блокувати РААС, ніж іАПФ [59].

У науковій літературі з'явилися дані, що з плином часу відбувається зниження дії іАПФ через збільшення утворення ангіотензину II іншими шляхами. Все це поряд із доброю переносимістю БРА пацієнтами призвело до того, що з'явилися численні дослідження, у яких доведено, що БРА:

- ✓ ефективно знижують артеріальний тиск [60; 61];
- ✓ покращують симптоматику при серцевій недостатності (СН) [62; 63; 64],
- ✓ зменшують прогресування ураження нирок при ЦД [65; 66; 67],
- ✓ зменшують частоту розвитку інсульту [68; 69; 70],
- ✓ зменшують частоту розвитку фібриляції передсердь [71].

Слід зазначити, що поряд з даними про позитивний вплив БРА з'явилися дані, щодо негативного впливу цієї групи препаратів. В експериментальних дослідженнях доведено, що блокада рецепторів ангіотензину II 1-го типу може призводити до стимуляції рецепторів ангіотензину II 2-го типу, що тягне за собою, крім позитивних, ряд можливих негативних ефектів, які, в свою чергу, можуть мати небажані клінічні наслідки [72; 73; 74].

Під час проведення клінічного дослідження Julius S. (2004) з'явилися вказівки на те, що терапія БРА пов'язана зі збільшенням ризику розвитку інфаркту міокарда (ІМ) [75]. У кількох мета-аналізах також було підтверджено, що БРА збільшують ймовірність розвитку ІМ [76; 77; 78].

Приведені у багатьох дослідженнях пряме порівняння ефективності іАПФ і БРА у пацієнтів високого ризику [79; 80], довело, що обидва класи антигіпертензивних препаратів виявилися ефективними в запобіганні кардіоваскулярних подій без достовірної різниці між ними.

Сучасні рекомендації та настанови з лікування АГ, у тому числі вітчизняні, декларують, що основний ефект усіх антигіпертензивних препаратів пов'язаний із зниженням АТ *per se*. З п'яти класів ЛП для терапії АГ: бета-адреноблокатори, діуретики, інгібітори кальцієвих каналів та іАПФ і БРА [80] починати терапію краще з іАПФ або БРА.

Таким чином, фактично на законодавчому рівні підтверджується, що різниці між іАПФ і БРА в лікуванні АГ немає і що лікарі можуть самі обирати, що призначати.

Згідно даним KANTAR HEALTH National Health and Wellness survey, у країнах ЄС в середньому 23% пацієнтів на АГ отримують БРА, 28% — іАПФ [81]. Є країни, наприклад Франція, у яких призначення БРА (24,9%), значно більше, ніж іАПФ (9,7%), у той час як Великій Британії - навпаки: частка іАПФ більше (35,5 проти 19,4%).

Якщо оцінити частоту використання БРА і іАПФ у вигляді монотерапії, то у Франції лідером є БРА - 30% призначень проти 14%. Вони ж переважають у складі фіксованих комбінацій і у Франції, і в Італії, і в Німеччині - понад 50% випадків. У США частота використання БРА нижче, ніж іАПФ, але якщо простежити динаміку частоти їх застосування за 10 років, то можна відзначити значне зростання використання БРА (з 10,9 до 22,2%) в порівнянні з іАПФ (з 25,5 до 33,3%). При цьому самими призначаючими БРА є валсартан і лозартан, кандесартан, а іАПФ – лізиноприл, раміприл та ін. [82].

ЛП груп іАПФ та БРА мають незначні відмінності у механізмі фармакологічної дії.

ІАПФ знижують рівень як тканинного, так і плазмового АПФ, який каталізує два процеси - синтез АТ II і руйнування брадикініну. Розширення судин і зниження артеріального тиску на тлі прийому іАПФ обумовлено

відсутністю АТ II і судинорозширювальною дією брадикініну. ІАПФ сприяють нормалізації функції ендотелію, зокрема підвищують синтез оксиду азоту NO, що є плейотропним ефектом. До інших плейотропних ефектів належать протизапальна дія (зниження рівня С-реактивного білка, фібриногену), активація фібринолізу, антипроліферативна дія. Покращуючи кровообіг в органах-мішенях, іАПФ ефективно попереджають розвиток серцево-судинних ускладнень при АГ, що переконливо доведено в клінічних дослідженнях. Слід особливо відзначити здатність іАПФ викликати зворотний розвиток гіпертрофії лівого шлуночка (ЛШ), що є найважливішим передвісником несприятливих наслідків [83].

Препарати БРА за фармакологічними ефектами майже повністю ідентичні іАПФ. Відмінністю є лише механізм дії, який полягає не в блокаді синтезу АТ II, а в блокаді рецепторів АТ. Таким чином, при використанні БРА активність АПФ не зачіпається, тому брадикінін — другий субстрат АПФ — руйнується, а не накопичується в легенях і не викликає сухого кашлю - самого частого побічного ефекту іАПФ, що стає причиною самостійного переривання лікування.

Як іАПФ так і БРА використовуються для лікування АГ (всі препарати), ХСН (валсартан, лозартан, кандесартан), діабетичної нефропатії (лозартан, ірбесартан). БРА гальмують прогресування нефропатії, знижують рівень виділяємого з сечею білка (мікроальбумінурії або протеїнурії).

Таким чином іАПФ та БРА є високоефективними ЛП для терапії АГ, мають достатню доказову клінічну базу та рекомендовані у сучасних рекомендаціях та настановах з терапії АГ.

1.3 Переваги комбінованої терапії артеріальної гіпертензії із застосуванням кверцетину

Вищевикладене дозволяє стверджувати, що оксидативний стрес є провідною ланкою патогенезу АГ. Ендотеліальні клітини відіграють основну роль в артеріальній релаксації. Оксид азоту вивільняється ендотелієм і викликає розслаблення судин. Оксид азоту швидко руйнується вільними радикалами супероксидних аніонів, тобто супероксид-аніон, який діє як судинозвужувальний засіб, є основним чинником, що визначає біосинтез і біодоступність оксиду азоту та змінює функцію ендотелію. АК безпосередньо пов'язана зі зниженням біодоступності NO і збільшенням оксидативного стресу [84].

Зниження каталази і / або супероксиддисмутази і знижений рівень молекул, що здатні поглинати АФК сприяють посиленню оксидативного стресу [85]. Як було зазначено залежні від окислення (редокс) сигнальні каскади і генерація АФК, керована НАДФН-оксидаза, беруть участь у патогенезі гіпертонії та корелюють із вмістом ангіотензину-II. [86]. Ангіотензин II стимулює нефагоцитарну НАДФН-оксидазу, викликаючи накопичення пероксиду водню, супероксида і пероксинітрита. Тобто оксидативний стрес набуває потужності. Рекомендовані терапевтичні стратегії лікування АГ, що включають у першу чергу іАПФ та БРА спрямовані на ефективне зниження АТ, але залишають поза увагою потужний оксидативний стрес.

Оптимізація терапії АГ потребує розробки та вивчення нових комбінацій, де поряд із відомим антигіпертензивним засобом буде введено ЛП з антиоксидантною активністю. Перспективним ЛП, із доведеною антиоксидантною дією є кверцетин.

Кверцетин (рис. 3) - це поліфенол [87], який у великій кількості присутній у капусті, цибулі, ягодах, яблуках, червоному винограді, брокколі та вишні, а також у чаї та червоному вині [88; 89].

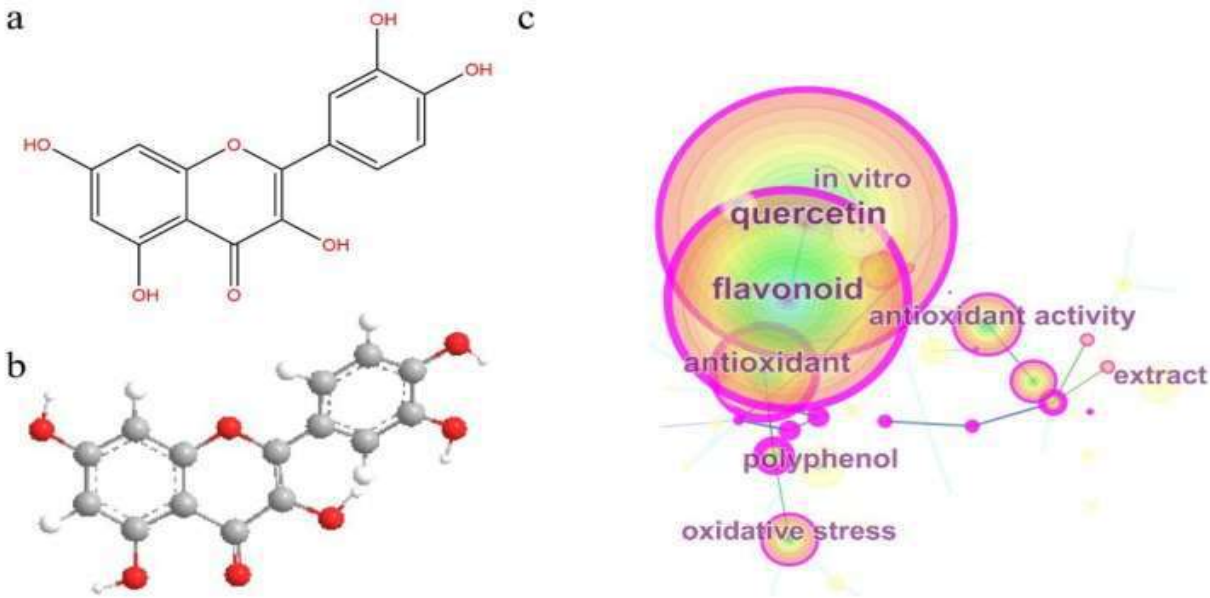

Рис. 3. Структура та бібліометричні результати кверцетину. (a) Хімічна структура кверцетину. (b) 3D-конформатор кверцетину. (c) Карта супутнього застосування кверцетину. Цей показник базується на даних бази даних Web of Science (WOS) в діапазоні від 2000 до 2017 року, і його склав CiteSpace. Діаметр вузла відображає кількість повторень ключових слів. Чим більше діаметр, тим більша кількість появ. За Xu D (2019) [90].

Сучасні дослідження показали, що кверцетин запобігає різним захворюванням, таким як остеопороз, деякі форми раку, пухлини, захворювання легенів та серцево-судинної системи. Антиоксидантна дія кверцетину відіграє значну роль у профілактиці та лікуванні таких захворювань [91]. Більше того, завдяки своїй високій розчинності кверцетин може також виявляти сильну антиоксидантну активність після утворення комплексу або комбінування з іншими ЛП [92; 93; 94; 95].

Згідно з результатами бібліометричного аналізу, що базується на базі даних Web of Science (рис. 1c), саме антиоксидантна властивість кверцетину стала основною точкою фармакологічних досліджень [96].

Антиоксидантна активність кверцетину в основному проявляється через його вплив на глутатіон (GSH), ферментативну активність, шляхи передачі сигналу та активні форми кисню (АФК), спричинені екологічними та

токсикологічними факторами. Кверцетин виявляє сильну антиоксидантну активність, підтримуючи баланс ПОЛ-АОС.

Кверцетин збільшує антиоксидантну здатність організму, регулюючи рівень GSH. Це пов'язано з тим, що, коли в організмі генеруються вільні радикали кисню, супероксиддисмутаза (СОД) швидко захоплює O_2- і перетворює його в H_2O_2. Цей фермент додатково каталізує розкладання H_2O_2 до нетоксичного H_2O. Ця реакція вимагає GSH як донора водню. Дослідження на тваринах та клітинах виявили, що кверцетин індукує синтез GSH [97]. Також було встановлено, що застосування кверцетину у терапії при нирковій ішемії / реперфузії і підвищувало рівень GSH [98].

При застосуванні кверцетину у високих дозах, він впливає на динамічний баланс GSH (під дією пероксидази GSH); H_2O_2 перетворюється на H_2O, а GSH окислюється до GSSG (окислений дисульфід глутатіону). Редуктаза GSH каталізує зниження GSSG у печінці та еритроцитах (забезпечуючи H) з утворенням GSH. Таким чином, створюється динамічний баланс GSH, який може спричинити пригнічення рівня GSH у низьких дозах. Про таке пригнічення кверцетину на GSH на рівні 0,5% повідомляється у роботі Gao W.N. (2018) [99].

Що стосується впливу кверцетину на ферментативну активність. Групи OH^- на боковому фенільному кільці кверцетину пов'язані з важливими амінокислотними залишками в активному центрі двох ферментів. Таким чином, він має сильний інгібуючий ефект щодо ключових ферментів ацетилхолінестерази (AChE) та бутирилхолінестерази (BChE), які пов'язані з окислювальними властивостями та розвитком оксидативного стресу [100].

Доведено, що кверцетин збільшує активність ферментативного антиоксидантного захисту. Повідомлялося, що попередня обробка кверцетином значно підвищувала рівень експресії ендогенних антиоксидантних ферментів, таких як Cu/Zn-СОД, Mn-СОД, каталаза та GSH-пероксидаза в пірамідних нейронах гіпокампа CA1 тварин, які страждають на ішемічну травму. Це вказує

на те, що він потужно захищає пірамідні нейрони CA1 області гіпокампа від пошкодження внаслідок оксидативного стресу [101].

Крім того, як одна з найбільш метаболічно активних тканин організму, кістка зазнає безперервного і складного процесу реконструкції протягом усього життя. Зокрема, остеобласти, які походять від остеопрогеніторних клітин, що утворюються шляхом самовідновлення, плюрипотентних стовбурових клітин, відіграють критичну роль у цьому циклі. Основною функцією остеобластів є утворення нового кісткового матриксу та разом з остеоцитами підтримка самої кісткової структури. Отже, пошкодження остеобластів може призвести до кількох дисфункцій. Курці мають низьку кісткову масу і стабільність. Є дані, що застосування кверцетину може сприяти поліпшенню відновлення кісток після переломів у курців, через те, що кверцетин видаляючи вільні радикали та регулюючи експресію гемооксигенази- (HO-) 1 та супероксиддисмутази- (SOD-) 1, захищає первинні остеобласти людини [102].

Значущим фатком для введення кверцетину у ехему терапії АГ разом із антигіпертензивними засобами, є те, що кверцетин запобігає пошкодженню серця, через захоплення вільних радикалів. У експерименті на щурах, яким вводили ліпополісахарид, що індукував ендотоксемію із пошкодженням міокарда, було встановлено значне підвищення рівня малонового діальдегіду (МДА) у тканинах та зниження активності СОД та каталази у тканинах серця. Введення у лікувальному режимі кверцетину підвищувало рівень СОД і каталази і знижувало рівень МДА [103].

Кверцетин має декілька ефектів впливу на різні шляхи передачі сигналу за умов оксидативного стресу, такі як активація, інгібування, регуляція або зниження регуляції багатьох молекул організму. Кверцетин суттєво поліпшує антиоксидантний стан організму і відновлює пошкодження, викликані оксидативним стресом у тому числі при АГ.

Впливаючи на шляхи передачі сигналу, кверцетин модулює ферменти або антиоксидантні речовини, які посилюють антиоксидантні властивості, тим самим запобігаючи розвитку хвороби. Дослідження показали, що захисний

механізм кверцетину проти гострої травми спинного мозку опосередкований його інгібуючим впливом на сигнальний шлях p38MAPK / iNOS, зниженням рівня MDA та підвищенням регуляції активності СОД для посилення антиоксидантної активності [104].

При псоріазі було встановлено, що кверцетин сприяє одужанню захворювання шляхом зниження регуляції експресії NIK та NF-κB, включаючи IKK та RelB, та регулювання експресії TRAF3. Це також підвищує активність GSH, каталази і СОД, а також знижує рівень МДА в тканинах шкіри, що в сукупності підвищує антиоксидантну здатність організму [105].

Декілька ферментів регулюють сигнальні шляхи для посилення антиоксидантної активності, такі як захист від окисного стресу. Кверцетин змінює індуковане oxLDL зниження активації AMPK та індуковане oxLDL збільшення експресії NADPH-оксидази, тим самим підтримуючи функцію AKT / eNOS та пригнічуючи передачу сигналу NF-κB для боротьби з атеросклерозом [106]. На сьогодні доведено, що кверцетин контролює розвиток атеросклерозу, викликаного дієтою з високим вмістом фруктози, інгібуючи АФК та підвищуючи PI3K / AKT. Це також сприяє функціональному відновленню рухомого середовища після церебральної ішемії, сприяючи передачі антиоксидантного сигналу, підвищуючи стійкість до апоптозу та трансформуючи шлях TGFβ-2 / PI3K / AKT [107; 108].

Кверцетин пригнічує окислювальний стрес, запобігаючи тим самим розвитку ушкоджень від оксидативного стресу різного генезу та пригнічує оксидативний стрес, регулюючи баланс між окислювальним та антиоксидантним ефектами.

Враховуючи клінічну важливість окисного пошкодження, кверцетин, як потужний антиоксидант може бути використаний у лікарській галузі завдяки своїм сильним антиоксидантним властивостям. Цей основний принцип антиоксидантної активності кверцетину показаний на рис 4.

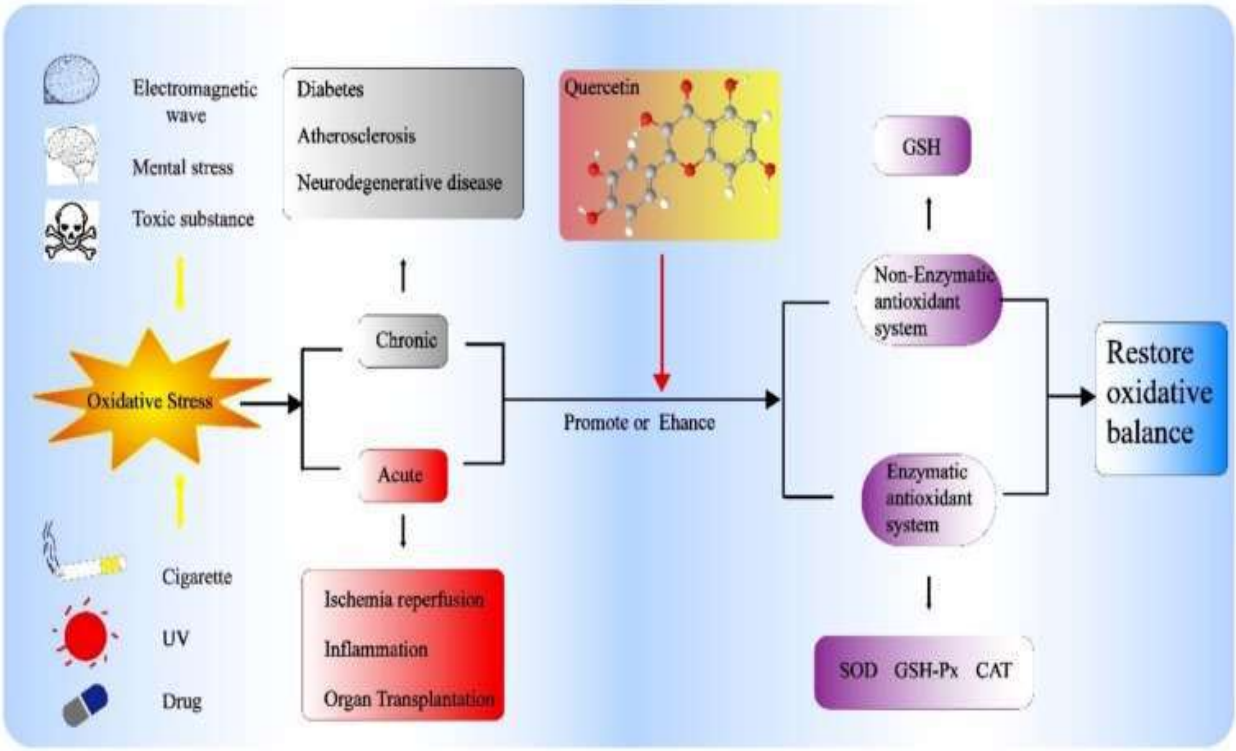

Рис. 4. Основні принципи антиоксидантної активності кверцетину у медичній практиці за Xu D (2019) [91].

На основі своєї антиоксидантної активності кверцетин має терапевтичну дію на тлі серцево-судинних захворювань. Є дані щодо успішного застосування кверцетину у пацієнтів з ішемічною хворобою серця (ІХС). Кверцетин за умов ІХС суттєво зменшував вміст МДА, збільшував активність СОД і каталази та регулював протизапальні та антиапоптозні процеси, що сприяло ефективному захисту міокарда від ушкоджень [109]. Крім того, кверцетин захищає серце від вторинної серцевої дисфункції внаслідок окисного стресу та запалення. Кверцетин суттєво зменшує перевиробництво АФК, травму, спричинену пошкодженням, збільшує TNF-α та запобігає пошкодженню клітин міокарда, спричиненому перевантаженням Ca^{2+}. Отже, кверцетин може ефективно запобігати пошкодженням, спричиненим окидативним стресом [110].

Отже, кверцетин - типовий флавоноїд, якого багато у свіжих фруктах та овочах. Його застосування в галузі медицини має великий потенціал для поліпшення здоров'я людини завдяки його антиоксидантній активності. Кверцетин ефективний у лікуванні та профілактиці захворювань людини, у

патогенезі яких є оксидативний стрес, оскільки впливає на глутатіон, ферменти, шляхи передачі сигналу та вироблення АФК.

На сьогодні застосування кверцетину у фармацевтичній галузі обмежене його низьким всмоктуванням в організм на основі поганої розчинності, низької біодоступності, поганої проникності та нестабільності. Розроблений українськими науковцями комплекс кверцетину із повідоном, під торговою назвою «Корвітин» дозволяє збільшити біодоступність кверцетину, що значно підвищує його клінічну ефективність.

Перспективними, на наш погляд, комбінаціями для терапії АГ, є комбінація іАПФ із кверцетином та БРА із кверцетином. Комбінації з кверцетином ЛП групи іАПФ або БРА не змінювало вплив на гемодинамічні показники. Це пояснюється тим, що кверцетин має в першу чергу антиоксидантну дію та не впливає на показники АТ.

Під час застосування раміприлу покращується стан ендотеліальної функції. Проте даний препарат викликає не тільки пригнічення надлишкових вазоконстрикторних реакцій, але й сприяє поступовій реставрації ремодельованих судин. ЛП даної групи мають значні переваги над іншими антигіпертензивними препаратами щодо впливу на вазодилятацію ендотелію, що пов’язано із впливом на ангіотензин II та пригніченням руйнування брадикініну, який в свою чергу викликає вивільнення ендотелій-залежного оксиду азоту [111, 112]. Раміприл в комбінації з кверцетином чинить виражений системний антиоксидантний захист, який реалізується виключно введенням до складу комбінації кверцетину.

Використання кандесартану в комбінації з кверцетином, чинить вплив на показники згортання крові та фібринолізу суто за рахунок фармакологічної дії кандесартану та викликає зростання рівнів NO. Системний антиоксидантний вплив комбінації кандесартану та корвітину нівелює оксидативний стрес, який є вагомим фактором патогенезу АГ.

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами досліджень були три відомих лікарських засоби, які вперше були об’єднані у вигляді комбінацій, розроблених для оптимізації терапії АГ.

- Раміприл – виробництва Меркле ГмбХ, Німеччина, табл. 5 мг
- Кандесартан – виробництва Ranbaxy, Індія, табл. 4 мг
- Корвітин – виробництва Борщагівський ХФЗ, Україна, фл. 500 мг

Комбінації : раміприл із корвітином та кандесартан із корвітином.

Досліджувані препарати у вигляді монотерапії, та в комбінаціях вводили у мінімальних терапевтичних дозах для людини, які були перераховані для щурів із використанням коефіцієнта Риболовлева Ю. [113] (табл. 2.1).

Таблиця 2.1.

Відповідність дозування ЛП

ЛП	Мінімальна терапевтична доза для людини	Доза для щурів
Раміприл	5 мг	~ 0,3 мг/кг
Кандесартан	4 мг	~ 0,2 мг/кг
Корвітин	500 мг	28,8 мг/кг ~ 30 мг/кг

Флакон з корвітином, безпосередньо перед застосуванням, розчиняли у 15 мл 0,9% розчину натрію хлориду та струшували до повного розчинення ліофілізованого порошку.

Дизайн дослідження наведено у табл. 2.2

Таблиця 2.2.

Дизайн дослідження

Етап дослідження	Зміст етапу дослідження
I етап	Вивчення змін антитромботичного профілю у щурів гіпертензивної лінії SHR .
II етап	Визначити оптимальний шлях введення корвітину з метою його включення до комбінації з антигіпертензивними ЛП.
III етап	Дослідження впливу комбінації раміприлу із корвітином на фібринолітичний та антиоксидантний баланс щурів гіпертензивної лінії SHR за умов тривалого і нетривалого введення.
IV етап	Вивчення впливу комбінації кандесартану із корвітином на фібринолітичний та антиоксидантний баланс щурів гіпертензивної лінії SHR за умов тривалого і нетривалого введення.
V етап	Гістологічні дослідження впливу нових комбінацій раміприлу із корвітином та кандесартану із корвітином на органи мішені щурів гіпертензивної лінії SHR.

Під час проведення дисертаційних досліджень було використано 140 щурів спонтанно-гіпертензивних щурі лінії SHR обох статей та 78 білих рандомбредних щурів масою 220-160 г.

Спонтанно-гіпертензивні щурі лінії SHR

Експериментальний етап дослідження проводився на лабораторних щурах серії SHR, масою 240 – 285 г (розплідник лабораторних тварин «Біомодельсервіс», м. Київ). За останні роки дослідниками вирощені спеціальні трансгенні лінії щурів зі спонтанною АГ (spontaneously hypertensive rats, SHR), що є адекватною моделлю даного захворювання у людей. З цією патологією

тварини народжуються, що розширило можливість експериментального вивчення як патогенетичних механізмів розвитку АГ, так і можливості її фармакокорекції. Лінія щурів зі спонтанною гіпертензією SHR була виведена в 1963 р. японськими вченими L. Okamoto і Aold від щурів лінії Вістар, які мали високий АТ. Спонтанно-гіпертензивні щурі лінії SHR в перші тижні життя мають нормальний АТ. Підвищення АТ спостерігається у віці 4 – 12-ти тижнів. Гіпертензія виникає без видимих причин у 100% випадків і передається спадково. У процесі старіння тварин рівень АТ підвищується, виявляються ознаки ураження органів-мішеней високими показниками артеріального тиску. Також АГ супроводжується значними метаболічними порушеннями водно-електролітного обміну.

У період акліматизації після перевезення з розплідника (14 діб) та впродовж експерименту тварин утримували в умовах віварію при сталій температурі та вологості повітря на стандартному харчовому раціоні за біоетичними принципами Європейської конвенції із захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986 р.) [114]. Усі маніпуляції з тваринами проводили згідно з вимогами, зазначеними в «Загальних етичних принципах експериментів на тваринах», та Законом України № 3477-IV від 21.02.2006 р. зі змінами «Про захист тварин від жорстокого поводження», Наказом Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 1.03.2012 р. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Дотримання зазначених вимог засвідчено висновком комісії Буковинського державного медичного університету з питань біомедичної етики (протокол № 2 від 19.10.2018 р.).

Відомо, що однією із провідних ланок патогенезу при АГ є оксидативний стрес. Тому вибір оптимального шляху введення корвітину проводили на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів за Jager F.C. [115], тому що стабілізація мембрани еритроцита прямо корелює із антиоксидантним ефектом досліджуваної речовини, який може змінюватися в залежності від шляху введення досліджуваного засобу.

Наявність мембраностабілізувальної (антиоксидантної) дії, вивчали на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів за Jager F.C. Для цього спектрофотометрично на СФ-46 при 540 нм визначали екстинкцію позаеритроцитарного гемоглобіну, що надходить у кров внаслідок гемолізу еритроцитів, викликаного пероксидним окисленням ліпідів киснем повітря.

Ступінь гемолізу еритроцитів у дослідних і контрольній групах визначали за формулою 2.1:

$$X = \frac{(E_1 + E_2)}{2\,E_3} \times 100\ \%, \quad \text{де} \qquad (2.1)$$

- X – ступінь гемолізу, %
- E_1, E_2 – екстинкції першої і другої проб з робочим розчином;
- E_3 – екстинкція проби з дистильованою водою.

Для дослідження показників за умов експериментальної гіпертензії плазму крові отримували після забиття щурів із подальшим її центрифугуванням та виділенням плазми, формених елементів крові та оцінки основних параметрів гемостазу. Кров збирали в одноразову пластикову пробірку з розчином антикоагулянту (4% розчин цитрату натрію у співвідношенні 1:10). Далі центрифугували пробірку протягом 20 хв. при 3000 об/хв. Потім окремо виділяли плазму від формених елементів крові. Отриману плазму заморожували та зберігали до аналізу при – 25ºС.

Після забиття експериментальних щурів готувались гістологічні препарати серцевої тканини, нирок, печінки. Для оцінки морфологічних змін серцевого м’язу, нирок, печінки використовували замороженні поперечні зрізи, які фарбувались за методом Рамоновського-Гімзи.

Для вимірювання АТ у щурів була використана система неінвазивного вимірювання кров’яного тиску Blood Pressure Analysis System sTM BP-2000 Series II (Visitech Systems, USA) із автоматичним контролем температури в імобілізаційному тунелі, яка складається з комп’ютера, із встановленим програмним забезпеченням, та вимірюючих приладів (рис. 5).

Рис. 5 – Одночасне вимірювання АТ двом щурам, розміщеним у тунелях системи неінвазивного вимірювання кров'яного тиску Blood Pressure Analysis System sTM BP-2000 Series II (Visitech Systems, USA) (А). Фіксування результатів багаторазового вимірювання АТ на персональному комп'ютері (Б).

Щурів розміщували в спеціальних контейнерах - фіксаторах, які знаходились на термостатичній платформі, для забезпечення підтримання температури 37°-38°С, що необхідно для підтримання адекватного кровообігу у хвостовій артерії. Манжетка та вимірюючий датчик кріпили на хвіст щура якомога проксимальніше. Середній час вимірювання АТ становив 7 хв, за який система автоматично робила 3-5 попередніх, а потім і контрольних замірів АТ. Завдяки спеціалізованому програмному забезпеченню в автоматичному режимі фіксувалися ЧСС, систолічний та діастолічний тиск [116].

Методи дослідження систем гемостазу та фібринолізу.

Час згортання крові оцінює коагуляційну активність цільної крові по швидкості утворення в ній згустку. Згортання крові - перетворення рідкої крові в еластичний згусток в результаті переходу розчиненого в плазмі крові білка фібриногену в нерозчинний фібрин при закінченні крові з пошкодженої судини. Фібрин, полімеризуючись, утворює тонкі нитки, які утримують кров'яні тільця; таким чином, формується згусток, закупорюючий уражене місце судини.

Проводили за методом K. Burker, крапля крові змішується на годинному склі з краплею дистильованої води; скляною паличкою з відтягнутим кінцем перемішують до появи перших ниток фібрину [117].

Визначення часу Хагеман-залежного фібринолізу. У пластиковий посуд для аналізу вносили 8 мл дистильованої води, 0,2 мл 1% розчину оцтової кислоти, 0,5 мл плазми крові та 0,5 мл 0,5% суспензії каоліну. Суміш обережно перемішували та інкубували за 37ºС протягом 30 хв., після цього центрифугували 6 хв. зі швидкістю 1500 об/хв. і відбирали надосадову рідину. Осад розчиняли у 0,5 мл 0,05 М трис-HCl буфері, pH 7,4 та індукували утворення згустка внесенням рівного об'єму 0,025 М розчину хлориду кальцію. Після утворення згустка визначали час його повного лізису [117]. У нормі час Хагеман-залежного фібринолізу становить – 4-10 хв.

Визначення фібриногену проводили за методом A. Claus'a. Принцип методу полягає у збільшенні часу утворення згустка при надлишку тромбіну. При цьому інтенсивність утворення згустка залежить від концентрації фібриногену, який визначається за калібрувальною кривою.

Принцип методу оцінки стану фібринолітичної системи (E_{440} х мл/год) полягає в тому, що при інкубації азофібрину зі стандартною кількістю плазміногену в присутності активаторів фібринолізу, які містяться в плазмі крові, утворюється плазмін, активність якого оцінюється за ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі на фотоелектроколориметрі за довжини хвилі 440 нм, внаслідок лізису азофібрину, в присутності ε-амінокапронової кислоти (НФА) або без неї (СФА). Різниця між ними відповідає величині ФФА.

Тест для визначення фібринолітичної активності плазми крові (XIIa залежний фібриноліз) полягав у вимірюванні часу повного лізису еуглобулінової фракції, отриманої із плазми крові при зсіданні в кислому середовищі, яка містить фактори згортання крові та фібринолізу. Із плазми крові виділяли еуглобулінову фракцію, яка містила плазміноген, фібриноген, фактор згортання та не містила інгібітори фібринолізу. При додаванні до цієї

фракції хлористого кальцію утворювався згусток фібрину, який в подальшому лізувався плазміном. Реакція активувалась фактором XIIa. Час від моменту утворення згустка до його розчинення виражав фібринолітичну активність плазми крові. Для проведення аналізу в пробірку вводилась дистильована вода, об'ємом 8,0 мл, 0,2 мл оцтової кислоти (1%-й розчин), 0,5 мл плазми контрольної (досліджуваної), 0,2 мл каолін 0,5% суспензії. Перемішували отриману суміш при 37ºС протягом 30 хвилин. Суміш центрифугували 6 хвилин при 1500 об / хв і відбирали рідину над осадом, не зачіпаючи при цьому самого осаду. До осаду додавали робочий буферний розчин, об'ємом 0,5 мл, акуратно піпетуванням перемішували отриману суміш, вносили кальцій хлориду 0,025 М розчин 0,5 мл, через 30-60 с після утворення згустка вмикали секундомір і відмічали час повного лізису згустка.

Сумарну (СФА), неферментативну (НФА) та ферментативну (ФФА) фібринолітичну активність плазми крові за лізисом азоальбуміну (розпад низькомолекулярних білків), азоказеїну (деградація високомолекулярних білків) та азоколу визначали за методикою О. Л. Кухарчука [118; 119].

Метод оцінки потенційної активності плазміногену полягає у визначенні часу лізису еуглобулінового згустку плазми крові (в сек.) при додатковій стимуляції процесу стрептокіназою.

За часом розчинення згустку плазми кислою щавелевооцтовою сечовиною у присутності монойодоцтової кислоти, що блокує XIII фактор визначали його активність у секундах, який перераховували у % щодо лізису нормальної плазми.

Активність антитромбіну III визначали за часом згортання фібриногену при інкубації цитратної плазми зі стандартною кількістю тромбіну (%).

Активність Хагеман-залежного фібринолізу, потенційну активність плазміногену (ПАП), рівень фібриногену в плазмі крові, активність антитромбіну III (АТ III), активність XIII фактору згортання крові визначали за допомогою наборів реактивів фірми «Simko Ltd» за методиками Н. Тіца [120].

Клініко-біохімічні методи дослідження.

Інтенсифікацію вільнорадикальних процесів за умов експериментальної АГ оцінювали за кількісним вмістом у гомогенаті органів продуктів ПОЛ: ДК і МДА речовини з використанням загальновизнаних методик.

Концентрацію ДК визначали за спектрофотометричним методом И.Д. Стальной (1977) [121; 122]. При розрахунках вмісту ДК використовувався коефіцієнт молярної екстинкції, що відповідає $2{,}2\times10^{5}М^{-1}\times см^{-1}$.

Визначення концентрації МДА проводили за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою за методом И.Д. Стальной, Т.Г. Гаришвили (1977) [121; 122] із наступною фотометрією надосадової рідини при довжині хвилі 540 нм на спектрофотометрі. У розрахунках використовували коефіцієнт молярної екстинкції малонового діальдегіду, що відповідає $1{,}53 \times 10^{5}\ М^{-1}\ см^{-1}$.

Для оцінки стану першої лінії антиоксидантного захисту вимірювалася активність каталази за допомогою спектрофотометричного методу, який ґрунтується на реакції з молібдатом амонію.

Визначення ГВ проводили спектрофотометрично з використанням реактиву Елмана, при взаємодії з останнім ВГ утворює забарвлену сполуку з максимумом поглинання 412 нм, глутатіонпероксидази (ГП) – за І.Ф. Мещишеним [121; 122].

Стан ендотеліальної функції оцінювали через визначення продукції NO в організмі за сумарним рівнем його кінцевих метаболітів (нітритів та нітратів) в плазмі крові. Проводили конверсію нітратів у нітрити з подальшим визначенням нітритів за допомогою реактиву Griess спектрофотометричним методом. Рівень сумарного вмісту метаболітів монооксиду нітрогену (NO) визначали фотометричним методом за допомогою напівавтоматичного аналізатора СФ-2000 (довжина хвилі – 540 нм) з використанням реактиву Грісса. Принцип методу засновано на реакції деазотування сульфанілової кислоти з наявними у пробі нітратами та реакцією отримання солі із альфа-нафтиламіном з утворенням червоно-фіолетового або рожевого забарвлення. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації нітратів [123].

Статистичні методи дослідження.

Математична обробка та графічне представлення отриманих даних проводилася з використанням пакетів комп'ютерних прикладних програм «Microsoft Excel 2010», «STATISTICA 6.0», «BioStat».

При описанні кількісних ознак використовували параметричні та непараметричні методи. Статистична обробка результатів дослідження проводилася через визначення середніх арифметичних величин (M), стандартної похибки (m), та величини стандартних відхилень. Попередній статистичний аналіз включав перевірку параметрів розподілу на нормальність за критерієм Шапіро-Уїлкса. У разі нормального розподілу та за рівності генеральних дисперсій вибірок, що порівнювались (перевіряли за допомогою F-критерію Фішера), вірогідність відмінностей отриманих результатів для кількісних показників різних груп проводили, використовуючи t-критерій надійності Стьюдента. Міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням множинних порівнянь у процедурі Джеймса – Хоула та LSD-тесту; Для напівкількісних та якісних показників розраховували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні як непараметричний аналог t-критерію Стьюдента. Для порівняння показників 3-х і більше підгруп використовували медіанний тест за Mood, тест Ван дер Вердена (тест різниці розподілів), та міжгруповий (парний) post-hoc аналіз за тестом Крускалла-Уолліса.

Достовірність змін у динаміці лікування в разі нормального розподілу у вибірках визначали за парним критерієм Стьюдента, в інших випадках застосовували парний Т-критерій Вілкоксона. Для порівняння 3-х показників використовували процедуру непараметричного дисперсійного аналізу за Фрідманом (непараметричний аналіз із повторними змінами). Попарні порівняння груп між собою проводили з використанням критерію Вілкоксона та критерію знаків. Відмінність між вибірками вважалася статистично вірогідною при $p < 0,05$.

Достовірність різниці за якісними дихотомічними показниками (частотою) вираховували за допомогою критерію χ^2, при частоті менше 5 використовували

точний тест Фішера (двобічний). Достовірною різницю вважали при $p < 0,05$. Для виявлення наявності і сили зв'язку між факторами вираховували коефіцієнт рангової кореляції Спірмена – r. Кореляцію вважали високо значущою при r, який відповідає рівню статистичної значущості $p \leq 0,01$, значущою – при r, що відповідає рівню статистичної значущості $p \leq 0,05$, про тенденцію достовірного зв'язку йшлося при r, який відповідає рівню статистичної значущості $p \leq 0,1$. Користувалися такою класифікацією кореляційного зв'язку: сильний ($0,7 < r < 1$), середньої сили ($0,5 < r < 0,7$), помірний ($0,3 < r < 0,5$), слабкий ($0,2 < r < 0,3$). При $r < 0,19$ уважали, що кореляція відсутня.

РОЗДІЛ 3
ДОСЛІДЖЕННЯ СИСТЕМИ ФІБРИНОЛІЗУ У ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ТА ПОШУК ОПТИМАЛЬНОГО ШЛЯХУ ВВЕДЕННЯ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНИХ ПРЕПАРАТІВ ІЗ КОРВІТИНОМ

3.1 Вивчення змін антитромботичного профілю у щурів гіпертензивної лінії SHR

АГ, як було зазначено, нерідко супроводжується порушеннями гемостазу у вигляді тромбоутворення або геморагій: розвивається внутрішньосудинне мікрозгортання крові, яке виникає в результаті складного порушення рівноваги між згортаючою та протизгортаючою системами крові, їх активаторами та інгібіторами. Велике значення має активність фібринолітичної системи крові [124].

Саме тому визначення показників активності розпаду високо- і середньомолекулярних пептидів, а також показників фібринолітичної активності плазми є необхідним для встановлення змін стану текучості крові при АГ. Порушення балансу протеази-антипротеази є складовою патогенезу багатьох ушкоджень тканин [125]. Тканинна фібринолітична активність на тлі АГ відіграє надзвичайно важливу роль у процесах деструкції клітин при ішемії, ангіогенезії та ремодуляції судин [126]. Збільшення рівня фібриногену має певне значення в розвитку тромботичних ускладнень (підвищення рівня фібриногену збільшує в декілька разів ризик розвитку інфарктів мозку і серця). Збільшення рівня фібриногену є прогностично несприятливим фактором, асоційованим зі збільшенням ризику смерті у хворих з атеросклеротичним ураженням судин головного мозку і серця.

Антитромбін (АТ) III або кофактор гепарину є головним інгібітором коагуляції й інформація про нього важлива для призначення ефективної гепаринової терапії. Інгібуючи протеази коагуляції, особливо тромбін, фактор Ха і фактор IXа перешкоджають безконтрольній коагуляції плазми. Для виявлення активності АТ III в досліджуваній плазмі тепловою обробкою

видаляли фібриноген, додавали стандартну кількість тромбіну, суміш інкубували, визначаючи в ній залишкову (після взаємодії з антитромбіном III) активність тромбіну за часом згортання стандартного розчину фібриногену. Чим вище активність антитромбіну III в досліджуваній плазмі, тим нижча залишкова активність тромбіну і тим повільніше відбувалось утворення згустка.

Небезпечними ускладненнями серцево-судинних захворювань є тромботичні наслідки. Останні дослідження засвідчили той факт, що порушення реології крові при АГ починаються ще на стадії «прегіпертензії». Фібриноген, як компонент згортальної системи є унікальною структурною молекулою, що має здатність до швидкої полімеризації, з утворенням міцної об'ємної структури – фібрину, який забезпечує зупинку кровотечі у фізіологічних умовах [127].

У звязку з цим саме дослідження показників антитромботичного профілю у щурів гіпертензивної лінії SHR стало першим етапом дослідження.

Було вивчено рівень фібриногену в плазмі крові та серцевому м'язі інтактних щурів та лінії SHR (рис.3.1).

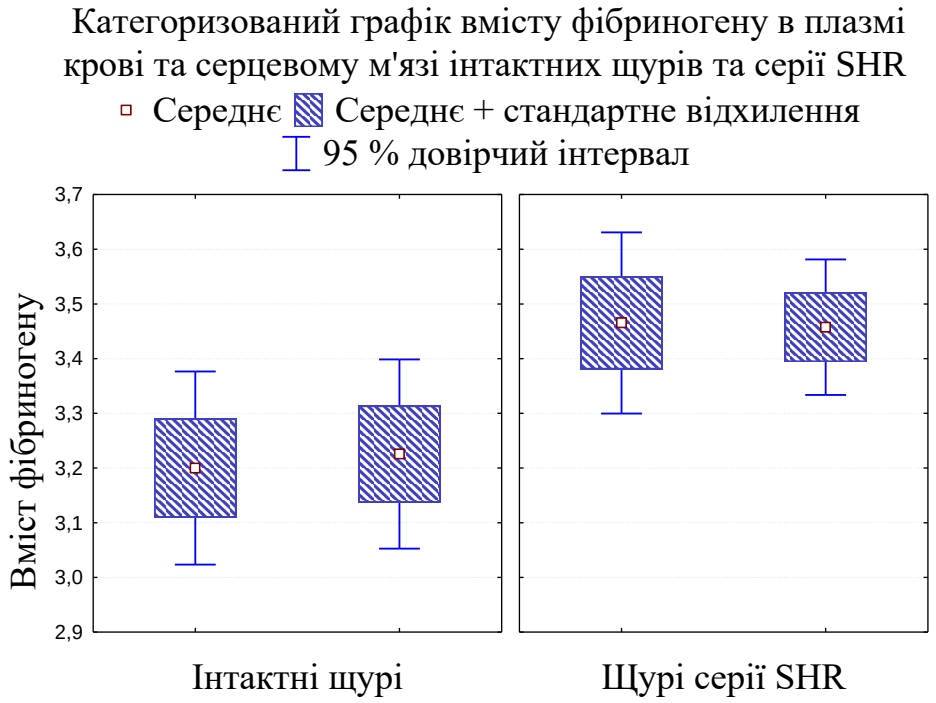

Рис. 3.1 Рівень фібриногену в плазмі крові та серцевому м'язі інтактних щурів та лінії SHR.

Для оцінки патогенетичної взаємообумовленості процесів згортання попередньо проведене кореляційне дослідження, зокрема встановлено існування прямого кореляційного зв'язку між ними, який виявився слабким (r ~ 0,21), проте статистично значущим (p ~ 0,012), що підтверджує багатовекторність їх дії у процесах гемокоагуляції та агрегації, а також доводить, що рівень кожного з них залежить від багатьох чинників, а не тільки від впливу тромбіну.

Зіставляючи рівні фібриногену встановлено, що його вміст є вірогідно вищим у щурів гіпертензивної лінії порівняно із вмістом (2,89 ± 0,63 г/л) у щурів інтактної лінії (F = 3,86; p = 0,004). Варто зазначити, що вміст фібриногену у плазмі та серцевому м'язі щурів кожної із ліній суттєво між собою не відрізнявся (p > 0,05). Наведені результати свідчать про високий ступінь залежності рівня фібриногену від ступеня підвищення АТ у щурів відповідної гіпертензивної лінії.

Рівень активності XIII фактора не мав змін із показниками інтактних щурів (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Рівень XIII фактора у крові інтактних щурів та щурів лінії SHR

Показник	Плазма	Серцевий м'яз	Плазма	Серцевий м'яз
	Інтактні щурі		Щурі серії SHR	
Рівень XIII фактора (%)	86,7 ± 11,1	92,0 ± 11,5	86,3 ± 9,7	91,3 ± 12,4

Важливим для оцінки коагуляційного потенціалу судинної стінки є дослідження функціональної спроможності протизгортальних систем. Доцільність вивчення функціональної здатності перебуває у площині їх взаємодії з активованими системами згортання: з одного боку, лише активація протизгортальних систем забезпечує локалізацію та зупинку процесів тромбоутворення, проте з іншого – активність цих систем досить часто

перебуває у залежності від функціональної здатності ендотелію поза межами процесу згортання або поза місцем прояву ушкоджувальної дії. Тому постало завдання визначити оцінку активності 2-х провідних протизгортальних систем: антитромбіну III (АТ III). Відомо, що більшість функціонально придатного антитромбіну III депонується у субендотелії. Ендотеліальні клітини відіграють важливу роль у активації антитромбіну III, оскільки на поверхні клітин знаходяться негативно заряджені глюкозаміноглікани, у присутності яких активність АТ значно підсилюється, проте максимальну активність АТ III проявляє безпосередньо у потоці крові. Комплекс тромбіну та антитромбіну є неактивним з боку обох компонентів, але протягом кількох хвилин елімінується з системи кровотоку.

Аналіз вмісту АТ III у плазмі та серцевому м’язі як інтактних щурів, так і щурів лінії SHR виявив значне відхилення показників від нормального розподілу (W у тесті Шапіро-Уїлка ~ 0,87; $p < 0,001$; у тесті Ліллієфорса $p < 0,01$), тому вміст АТ III представлено у вигляді медіани та 25-75 процентилів (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Рівень антитромбіну III у крові та серцевому м’язі інтактних щурів та лінії SHR

Показник	Плазма	Міокард	Плазма	Міокард
	Інтактні щурі		Щурі серії SHR	
АТ III (%)	110 (107 - 115)	107 (96 - 110)	111 (107 - 114)	103 (92 - 111)

Аналізуючи вміст АТ III, було виявлено незначне зниження АТ III у плазмі крові та серцевому м’язі щурів гіпертензивної лінії.

Механізми захисту від надлишку фібриногену та надмірного утворення фібрину на тлі підвищеного тромбогенного потенціалу плазми забезпечується не лише дією протизгортальних систем, але і відповідною актиацією фібринолітичної системи, яка представлена проферментом плазміногеном,

складною системою ферментів та інгібіторів, які контролюють процеси активації плазміну та лізис фібрину. Вузловою ланкою цієї системи є плазміноген, білок-профермент, який синтезується у печінці та складається з двох ізоформ, активність яких залежать від ступеня їх глюкозування. Ступінь плазмін-залежного (ферментативного) фібринолізу залежить насамперед від функціональних властивостей плазміногену, які полягають у здатності його з'єднуватися зі специфічними ділянками фібриногену, фібрину, мембранними поверхнями ендотеліоцитів та моноцитів та приєднувати до себе різноманітні інгібіторні білки: альфа-2-макроглобулін, альфа-1-інгібітор протеази, альфа-2-антиплазмін.

Порівняння потенційної активності плазміногену (ПАП) у щурів різних груп виявило наявність характерних змін (табл. 3.3). Зокрема, у групі спонтанно гіпертензивних щурів спостерігалось зниження ПАП порівняно із групою інтактних щурів (Ме ПАП у щурів лінії SHR – 16,20 проти у 17,40 у щурів інтактної лінії).

Таблиця 3.3

Потенційна активність плазміногену (ПАП) крові та серцевому м'язі інтактних щурів та лінії SHR

Показники	Плазма	Міокард	Плазма	Міокард
	Інтактні щурі		Щурі серії SHR	
ПАП (хв.)	16,30 (16,20 - 16,40)	16,10 (15,40 - 16,30)	16,30 (16,10 - 16,40)	16,13 (15,50 - 16,35)
Частка випадків із зниженням ПАП від рівня загальної медіани (%)	28,3%	67,7%	35,9%	58%
Медіанний тест за Mood: $\chi2 \approx 16,32$; $p \approx 0,001$; Тест Ван дер Вердена (тест різниці розподілів): $\chi2 \approx 14,00$; $p \approx 0,003$ Міжгруповий (парний) post-hoc аналіз за тестом Крускалла-Уолліса: $p_{1-2} < 0,01$; $p_{1-3} > 0,05$; $p_{1-4} < 0,05$; $p_{2-3} < 0,01$; $p_{2-4} > 0,05$; $p_{3-4} \approx 0,072$.				

Варто зазначити, що у серцевому м'язі спостерігається більший розмах коливань значень ПАП (за змінами критерію Ван дер Вердена) та істотне

(від $p \approx 0{,}07$ до $p < 0{,}01$) зниження активності плазміногену порівняно з активністю ПАП відповідних груп щурів у плазмі. Проте, ступінь змін ПАП у межах кожної із підгруп щурів не мала суттєвих відмінностей залежно від місця вимірювання (плазма чи серцевий м'яз), навіть розмах коливань значень у бік зниження та частка тварин із відхиленнями від середньогрупової медіани була більшою у групі з ураженням органу-мішені, порівняно із групами вимірювання у плазмі.

Таким чином, можна резюмувати, що експериментально гіпертензовані щурі серії SHR мають патологічні зсуви у балансі системи згортання крові та фібринолітичної активності, і встановлені зміни подібні до тромботичних змін у пацієнтів на АГ.

3.2 Дослідження змін балансу ПОЛ-АОС у щурів гіпертензивної лінії SHR

Наступним фрагментом дослідження стало вивчення змін балансу ПОЛ-АОС у щурів із експериментальною гіпертензією. Як було вищезазначено, нині існують докази концепції вільнорадикального механізму ураження кардіоміоцитів, гепатоцитів, клітин юкстагломерулярного апарату та клубочків нирок, ендотеліоцитів судинної стінки для розвитку ушкодження відповідних органів та систем під час перебігу серцево-судинних захворювань. Проте механізми активації пероксидного окислення та захисних протирадикальних систем у розвитку підвищення АТ залишаються досі незрозумілими та мало вивченими [128].

Одним з можливих аспектів вивчення пероксидного окислення ліпідів є дослідження їх ролі у розвитку підвищення артеріального тиску на експериментальних моделях артеріальної гіпертензії, однією із яких є лінія спонтанно-гіпертензивних щурів SHR.

Для перешкоджання процесу неконтрольованого посилення вільнорадикального окислення ліпідів в організмі існує розгалужена багатокомпонентна система захисту, особливе місце в якій посідає глутатіон та

пов'язані з ним ферменти, а також специфічні ферменти: СОД та каталаза [129]. Ця ж система (особливо глутатіон та пов'язані з ним ферменти) в багатьох органах і тканинах, в тому числі і в печінці та нирках, функціонує як одна із додаткових систем детоксикації ксенобіотиків, а отже, вона сама зазнає впливу лікарських засобів за умов призначеного лікування. Тому вивчення активації процесів ПОЛ та стану захисних протирадикальних систем - АОС, незважаючи на значну кількість досліджень, за експериментальної артеріальної гіпертензії в умовах медикаментозного впливу на підвищений артеріальний тиск, є актуальне.

Це зумовило проведення даного дослідження з метою з'ясування патогенетичної ролі неконтрольованої активації процесів ПОЛ та дезінтеграції функціонування системи АОС у підтриманні високого артеріального тиску для лінії спонтанно-гіпертензивних щурів.

Насамперед було проведено порівняльний аналіз інтенсивності процесів вільнорадикального окислення та стану захисних протирадикальних систем у лініях щурів SHR та інтактної серії.

Отримані результати щодо вмісту продуктів ПОЛ та активності глутатіонзалежних ферментів у плазмі крові. Проведений аналіз засвідчив (табл. 3.4), що у щурів лінії SHR спостерігається суттєве підвищення вмісту МДА у плазмі крові порівняно з аналогічним показником лінії щурів інтактної серії. Варто зауважити, що не визначено вірогідної різниці щодо інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів між самцями та самками щурів відповідних ліній (p_1 = 0,102 та p_3 = 0,24), хоча в обох лініях щурів спостерігається тенденція до переважання пероксидного окислення у самок. Одночасно зі збільшенням інтенсивності процесів ПОЛ, для лінії щурів SHR, порівняно зі щурами інтактної лінії, характерним є суттєві зміни рівня глутатіону відновленого (ГВ). Так, у самок лінії SHR спостерігається вірогідне зниження його вмісту на 16,2% порівняно з відповідним показником у самок інтактної лінії, а у самців відповідно – на 14,6% (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Вміст продуктів ПОЛ та активність захисних протирадикальних систем плазми крові щурів різних ліній (інтактної серії та SHR)

Показники	Плазма крові інтактних щурів (26 тварин)		Плазма крові щурів лінії SHR (20 тварин)	
	Самки	Самці	Самки	Самці
Малоновий діальдегід (ммоль/л)	0,032 ± 0,011	0,039 ± 0,010 $p = 0,102$	0,052 ± 0,014 $p_1 < 0,001$	0,059 ± 0,012 $p_2 < 0,001$ $p_3 = 0,24$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,074 ± 0,002	0,083 ± 0,001 $p < 0,001$	0,062 ± 0,005 $p_1 = 0,019$	0,071 ± 0,004 $p_2 = 0,002$ $p_3 = 0,18$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,732 ± 0,017	0,725 ± 0,019 $p > 0,05$	0,715 ± 0,024 $p_1 > 0,05$	0,728 ± 0,048 $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$
Каталаза (ммоль/л)	0,510 ± 0,041	0,503 ± 0,043 $p > 0,05$	0,409 ± 0,012 $p_1 = 0,041$	0,410 ± 0,012 $p_2 = 0,07$ $p_3 > 0,05$

Примітки:

p – оцінка вірогідності різниці показників між особами різної статі щурів інтактної серії;

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок щурів інтактної серії та SHR;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців щурів інтактної серії та SHR;

p_3 – оцінка вірогідності різниці показників між особами різної статі лінії щурів SHR.

Треба зазначити також, що вміст ГВ залежно від статевої належності щурів був неоднорідним. Так, у інтактної серії спостерігалась суттєва різниця у вмісті ГВ залежно від статі, із значним (0,074 проти 0,0083) вихідним зниженням концентрації даної сполуки у самок. На відміну від цього, ми не

спостерігали достовірних відмінностей у вмісті ГВ лінії щурів SHR залежно від статі ($p > 0,05$), хоча тенденція до зниження вмісту у самок порівняно із самцями зберігалась.

Щодо оцінки активності глутатіонпероксидази (ГП) у щурів негіпертензивної та гіпертензивної ліній, необхідно відзначити відсутність вірогідних змін у її активності у плазмі крові з-поміж щурів різних ліній ($p > 0,05$ в усіх випадках). Крім того, зафіксовано протилежну, проте невірогідну тенденцію щодо збільшення активності ГП у щурів-самців лінії SHR порівняно з самками цієї ж лінії на противагу змінам активності ГП з-поміж статевозрілих осіб інтактної серії.

Активність одного з провідних компонентів захисних протирадикальних систем – каталази у щурів лінії SHR у плазмі крові також виявилась зміненою. Так, у самок лінії SHR спостерігалось вірогідне зниження активності даного ферменту (0,409 ± 0,012 проти 0,510 ± 0,041 ммоль/л*год, $p = 0,041$, табл. 3.4), що свідчило про значний дисбаланс у даній системі антиоксидантного захисту за умов спонтанної гіпертензії. Проте у самців лінії SHR, порівняно із контролем, незважаючи на тенденцію до зниження активності каталази, такі зміни виявились невірогідними ($p > 0,05$; табл. 3.4). Також варто зазначити, що не виявлено суттєвої різниці між активністю каталази щурів як основної, так і контрольної лінії за статтю (табл. 3.4).

Для проведення більш повної оцінки змін пероксидного окислення у спонтанно-гіпертензивних щурів було дослідження процесів ПОЛ в органах-мішенях (а саме в серці, печінці та нирках). Результати дослідження процесів ПОЛ у тканині міокарда наведено у таблиці 3.5. Оцінюючи вміст МДА у серцевому м’язі щурів відповідних ліній, треба зауважити, що, в цілому, спостерігалась динаміка змін його кількості, відповідно до змін вмісту МДА у плазмі крові. Так, концентрація МДА у міокарді самок щурів лінії SHR на 43,5% перевищувала аналогічний показник для щурів інтактної серії (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Показники ПОЛ-АОС у міокарді щурів різних ліній (інтактної серії та SHR)

Показники	Серцевий м'яз щурів інтактної серії (26 тварин)		Серцевий м'яз щурів лінії SHR (20 тварин)	
	Самки	Самці	Самки	Самеці
Малоновий діальдегід (ммоль/л)	0,046 ± 0,008	0,049 ± 0,006 $p > 0,05$	0,066 ± 0,004 $p_1 = 0,047$	0,071 ± 0,009 $p_2 = 0,041$ $p_3 = 0,62$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,73 ± 0,02	0,84 ± 0,01 $p < 0,001$	0,61 ± 0,07 $p_1 = 0,07$	0,74 ± 0,04 $p_2 = 0,009$ $p_3 = 0,12$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,748 ± 0,019	0,715 ± 0,019 $p = 0,23$	0,735 ± 0,023 $p_1 > 0,05$	0,733 ± 0,037 $p_2 > 0,05$ $p_3 = 0,24$
Каталаза (ммоль/л)	0,502 ± 0,034	0,503 ± 0,043 $p > 0,05$	0,436 ± 0,032 $p_1 = 0,17$	0,453 ± 0,023 $p_2 = 0,35$ $p_3 = 0,67$

Примітки:

p – оцінка вірогідності різниці показників між особами різної статі інтактної серії щурів;

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок інтактної серії та SHR;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців інтактної серії та SHR;

p_3 – оцінка вірогідності різниці показників між особами різної статі лінії щурів SHR.

Відповідно у самців спонтанно-гіпертнезивних щурів спостерігалось перевищення вмісту МДА, порівняно з групою контролю на 44,9% (табл. 3.5). Аналізуючи вміст МДА у серцях щурів обох ліній відповідно до статевого розподілу, нами не виявлено вірогідних змін кількості кінцевого продукту пероксидного окислення як серед щурів інтактної серії, так і серед щурів лінії SHR (табл. 3.5).

Аналізуючи вміст ГВ у серцях щурів обох досліджуваних ліній, нами встановлено:

1. Спостерігалась вірогідна різниця між вмістом ГВ з-поміж самців та самок інтактної серії, із переважанням концентрації ГВ у щурів-самців ($p < 0,001$; табл. 3.5).

2. Достовірної різниці у вмісті ГВ у серцевому м'язі щурів лінії SHR залежно від статі не виявлено, хоч і відзначалась достатньо значна тенденція щодо зростання рівня ГВ у самців ($p \approx 0,1$).

3. При порівнянні вмісту ГВ окремо для самців та самок щурів обох ліній, нами виявлено характерну тенденцію до зниження вмісту ГВ у тканині серцевого м'язу самок щурів лінії SHR ($p = 0,07$; табл. 3.5) та вірогідне падіння концентрації ГВ у кардіоміоцитах спонтанно-гіпертензивних самців ($p = 0,009$; табл. 4.2).

Зміни концентрації ферменту ГП у серцевій тканині щурів лінії SHR не відрізнялись від аналогічних показників вмісту даного ключового ферменту антиоксидантного захисту у серцях щурів інтактної серії ($p > 0,05$ при порівнянні самок та самців окремо), а також суттєво не змінювались відповідно до аналогічних показників активності даного ферменту вплазмі крові для щурів обох ліній.

Різниці у вмісті каталази у тканинах серця в основній та контрольній групах щурів обох ліній також не було встановлено за результатами нашого дослідження, хоча зміни активності каталази у серцях щурів лінії SHR демонстрували нестійку невірогідну тенденцію до зниження порівняно з аналогічними показниками для інтактної серії (0,436 проти 0,502 для серцевої тканини самок та 0,453 проти 0,503 для серцевої тканини самців).

Наступним етапом нашого дослідження став аналіз вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів та стану деяких захисних антиоксидантних систем у печінковій тканині щурів ліній інтактної серії та SHR. Результати даного етапу дослідження представлено у таблиці 3.6.

Таблиця 3.6

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність захисних протирадикальних систем у печінці щурів різних ліній (інтактної серії та SHR)

Показники	Печінкова тканина щурів інтактної серії (26 тварин)		Печінкова тканина щурів лінії SHR (20 тварин)	
	Самки	Самці	Самки	Самці
Малоновий діальдегід (ммоль/л)	0,134 ± 0,012	0,138 ± 0,020 $p > 0,05$	0,131 ± 0,07 $p_1 > 0,05$	0,132 ± 0,03 $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,54 ± 0,018	0,58 ± 0,015 $p > 0,05$	0,47 ± 0,012 $p_1 = 0,004$	0,46 ± 0,012 $p_2 < 0,001$ $p_3 > 0,05$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,642 ± 0,098	0,638 ± 0,048 $p > 0,05$	0,636 ± 0,018 $p_1 > 0,05$	0,638 ± 0,014 $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$
Каталаза (ммоль/л)	0,582 ± 0,011	0,604 ± 0,014 $p = 0,23$	0,591 ± 0,01 $p_1 > 0,05$	0,597 ± 0,01 $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$

Примітки:

p – оцінка вірогідності різниці показників між особами різної статі інтактної серії щурів;

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок інтактної серії та SHR;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців інтактної серії та SHR;

p_3 – оцінка вірогідності різниці показників між особами різної статі лінії щурів SHR.

Зауважимо, що на відміну від установлених концентрацій МДА у плазмі крові та серцевому м’язі, не визначено достовірних відмінностей у вмісті МДА у печінковій тканині залежно від належності осіб до лінії інтактних щурів та лінії спонтанно гіпертензивних щурів (табл. 3.6). Крім того, під час

дослідження нами не були виявлені статеві коливання вмісту МДА як у щурів інтактної серії, так і щурів лінії SHR ($p > 0,05$; табл. 3.6).

Проте вміст ГВ, який переважно синтезуються у гепатоцитах та використовується не тільки для реакцій пероксидації, але й детоксикації ксенобіотиків у щурів різних ліній, зберігав тенденцію до змін, виявлених у плазмі крові та серцевому м’язі щурів. Так, вміст ГВ у гепатоцитах щурів гіпертензивної групи був суттєво зниженим порівняно з аналогічним рівнем ГВ у гепатоцитах щурів інтактної серії зі збереженням різниці щодо статі ($p < 0,05$; табл. 3.6). Активність ГП у гепатоцитах обох ліній щурів залишалась ідентичною, незважаючи на зниження вмісту ГВ у гепатоцитах щурів гіпертензивної лінії.

Крім того, за статевою ознакою також не спостерігалось вірогідної різниці для активності даного ферменту вгепатоцитах (табл. 3.6). Не виявлялось також змін з боку активності ферменту К в гепатоцитах щурів різних ліній ($p > 0,05$). Встановлено навіть незначну тенденцію до зростання рівня каталази в самок щурів лінії SHR у гепатоцитах, порівняно з самками інтактної серії, на відміну від інших місць визначення активності даного ферменту (табл. 3.6).

Останнім із внутрішніх органів, що піддавалися аналізу на визначення активності ПОЛ-АОС, були нирки, які, як відомо, є чи не найважливішим органом-регулятором артеріального тиску. Показники, які свідчать про навантаженість системи пероксидного окислення ліпідів та стану деяких захисних протирадикальних систем у нирковій тканині щурів представлено у таблиці 3.7.

Одразу зазначимо, що зміни пероксидного окислення та стану антиоксидантних систем у нирках щурів гіпертензивної лінії на відміну від печінки та серцевого м’язу мають особливості. На відміну від інших внутрішніх органів, у нирках щурів-самців лінії SHR спостерігалось підвищення вмісту МА на 65,2%, відповідно у самок ступінь підвищення становив 69,9%, що свідчило про максимальну навантаженість процесів пероксидного окислення ліпідів у наведеній локалізації (табл. 3.7).

Водночас відсутніми були зміни інтенсивності накопичення кінцевих продуктів пероксидного окислення ліпідів залежно від статі ($p > 0,05$), яке було характерним для двох ліній досліджуваних тварин.

Таблиця 3.7

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність захисних протирадикальних систем у нирках щурів різних ліній (інтактної серії та SHR)

Показники	Ниркова тканина щурів інтактної серії (26 тварин)		Ниркова тканина щурів лінії SHR (20 тварин)	
	Самки	Самці	Самки	Самці
Малоновий альдегід (ммоль/л)	0,127 ± 0,021	0,132 ± 0,018 $p > 0,05$	0,215 ± 0,023 $p_1 = 0,007$	0,218 ± 0,038 $p_2 = 0,033$ $p_3 > 0,05$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,24 ± 0,012	0,26 ± 0,014 $p > 0,05$	0,18 ± 0,011 $p_1 = 0,002$	0,19 ± 0,013 $p_2 = 0,001$ $p_3 > 0,05$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,510 ± 0,012	0,512 ± 0,018 $p > 0,05$	0,565 ± 0,024 $p_1 = 0,034$	0,572 ± 0,028 $p_2 = 0,066$ $p_3 > 0,05$
Каталаза (ммоль/л)	0,424 ± 0,014	0,422 ± 0,016 $p > 0,05$	0,489 ± 0,012 $p_1 = 0,001$	0,491 ± 0,018 $p_2 = 0,006$ $p_3 = 0,62$

Примітки:

p – оцінка вірогідності різниці показників між особами різної статі лінії щурів інтактної серії;

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок щурів інтактної серії та SHR;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців щурів інтактної серії та SHR;

p_3 – оцінка вірогідності різниці показників між особами різної статі лінії щурів SHR.

Натомість, вміст ГВ у нирковій тканині гіпертензивної лінії щурів вірогідно зменшувався порівняно з вмістом даної сполуки у групі контролю, у якій були щурі інтактної серії. У самців-щурів SHR зафіксовано зниження

вмісту ГВ на 27,1% порівняно з відповідним контролем інтактної серії, а у самок – зниження рівня ГВ у нирках відповідно складало 25,0%. Реакцією на зниження рівня ГВ та підвищення вмісту МА слугували зміни активності ферментів протиоксидантного захисту у нирках. Так, активність ГП у нирковій тканині щурів лінії SHR збільшувалась відповідно у самок на 10,2% ($p < 0,05$), проте у самців – на 11,5% ($p \approx 0,05$), що свідчило про навантаженість та відповідну компенсацію посилених процесів вільнорадикального окислення. Крім того, активність каталази у нирковій тканині також характеризувалась вірогідним зростанням на 15,8% у самок спонтанно-гіпертензивних щурів та на 16,3% відповідно у самців спонтанно гіпертензивних щурів ($p < 0,05$). Достовірних відмінностей між активністю К та ГП залежно від статевого розподілу щурів різних ліній (як в основній експериментальній групі, так і в контрольній групі) виявлено не було.

Наступним завданням дослідження стала оцінка реґіонарних особливостей змін вмісту продуктів пероксидного окислення ліпідів у щурів лінії SHR. Результати реґіонарних особливостей вмісту МДА для даного етапу дослідження наведені на рис. 3.2.

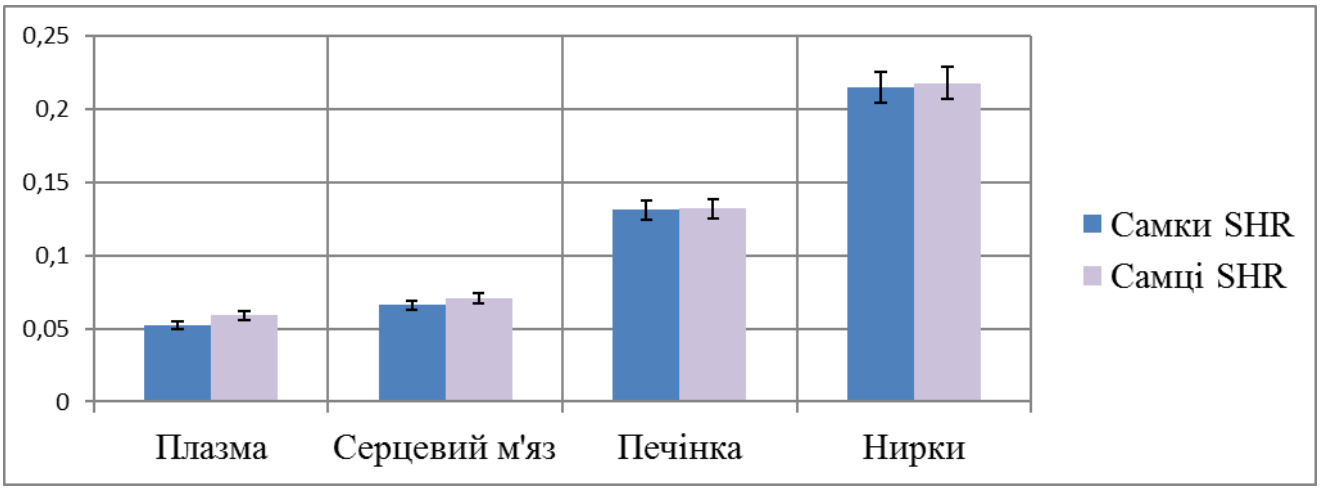

Рис. 3.2 Реґіонарні особливості вмісту малонового діальдегіду у спонтанно-гіпертензивних щурів лінії SHR.

Проаналізувавши наведені дані, використовуючи ANOVA та процедури множинних порівнянь, встановлено, що існує вірогідна різниця між інтенсивністю процесів вільнорадикального окислення ліпідів залежно від типу

органів, що уражаються за умов спонтанної артеріальної гіпертензії (табл. 3.8 та 3.9).

Таким чином, інтенсивність процесів органної деструкції у спонтанно гіпертензивних щурів за рівнем МДА вірогідно є найбільшою у нирковій тканині, маючи суттєві відмінності від інших локалізацій. Вірогідно менший ступінь інтенсифікації пероксидації зафіксовано у серцевому м'язі щурів лінії SHR, проте він також суттєво відрізняється від ступеня пероксидації у плазмі.

Таблиця 3.8

Результати ANOVA для реґіонарних змін вмісту малонового діальдегіду у щурів лінії SHR

Варіабельність	Сума квадратів	Ступені свободи	Квадрат середніх значень	F, p
Внутрішньогрупова	0,33	3	0,11	561,08; p < 0,001
Міжгрупова	0,02	76	0,00	
Загальна	0,35	79	74	

Таблиця 3.9

Результати множинних порівнянь реґіонарних змін вмісту малонового альдегіду у щурів лінії SHR

Реґіони порівняння	Власні середні значення	Значення p (для множини порівнянь за Games-Howell)
Плазма – Серцевий м'яз	0,05 з 0,07	< 0,01
Плазма – Печінка	0,05 з 0,13	< 0,01
Плазма – Нирки	0,05 з 0,22	< 0,01
Серцевий м'яз – Печінка	0,07 з 0,13	< 0,01
Серцевий м'яз – Нирки	0,07 з 0,22	< 0,01
Печінка – Нирки	0,13 з 0,22	< 0,01

Аналогічно також було проведено дослідження реґіонарних особливостей вмісту ГВ для лінії спонтанно-гіпертензивних щурів серії SHR. Результати дослідження доводять зниження його концентрації, починаючи із плазмової, де

його рівень порівняно спостерігався найвищий, до найменшої його концентрації у нирковій паренхімі. Реґіонарні особливості вмісту глутатіону відновленого у спонтанно-гіпертензивних щурів лінії SHR наведено на рис. 3.3.

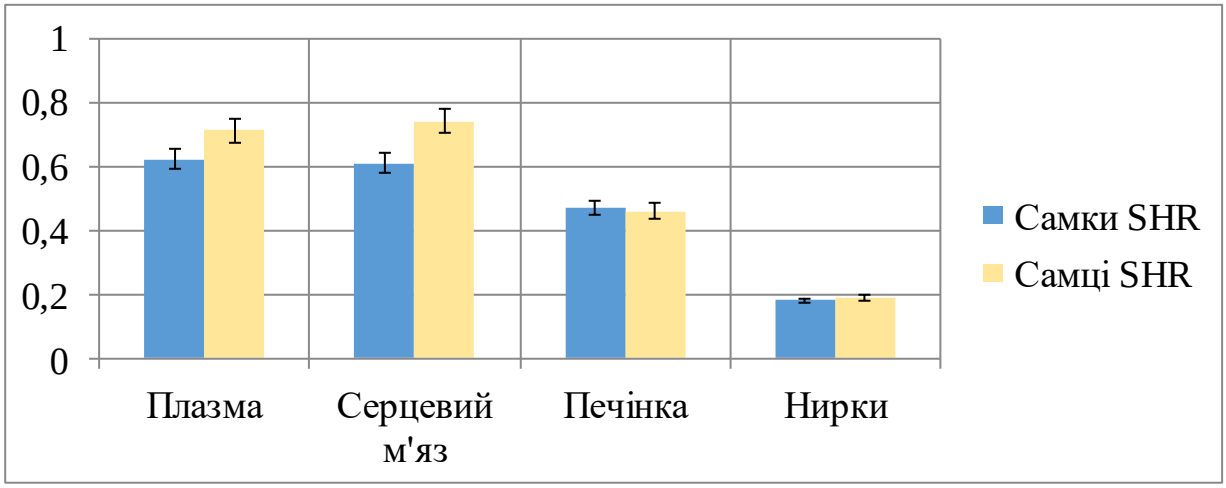

Рис. 3.3 Реґіонарні особливості вмісту глутатіону відновленого у спонтанно-гіпертензивних щурів лінії SHR.

Результати множинних порівнянь наведені у таблицях 3.10 та 3.11

Таблиця 3.10

Результати ANOVA для реґіонарних змін вмісту глутатіону відновленого у щурів лінії SHR

Варіабельність	Сума квадратів	Ступені свободи	Квадрат середніх значень	F, p
Внутрішньогрупова	2,52	3	0,84	439,05; $p < 0,001$
Міжгрупова	0,15	76	0,00	
Загальна	2,67	79	76	

Отже, при проведенні оцінки використання ГВ у реакціях пероксидації, можна зазначити, що максимальна потреба даної сполуки, в умовах спонтанної гіпертензії спеціальної лінії лабораторних щурів, також спостерігається у нирковій паренхімі, порівняно із іншими органами та системами (табл. 3.11). Натомість, не встановлено вірогідних відмінностей між концентрацією ГВ у плазмі крові та серцевому м’язі ($p > 0,05$) для даної моделі АГ.

Таблиця 3.11

Результати процедури множинних порівнянь реґіонарних змін вмісту глутатіону відновленого у щурів лінії SHR

Регіони порівняння	Власні середні значення	Значення p (для множини порівнянь за Games-Howell)
Плазма – Серцевий м’яз	0,62 з 0,61	> 0,05
Плазма – Печінка	0,62 з 0,47	< 0,01
Плазма – Нирки	0,62 з 0,18	< 0,01
Серцевий м’яз – Печінка	0,61 з 0,47	< 0,01
Серцевий м’яз – Нирки	0,61 з 0,18	< 0,01
Печінка – Нирки	0,13 з 0,22	< 0,01

Щодо оцінки реґіонарних особливостей ферментів, які беруть участь у протиоксидантному захисті, у першу чергу нас зацікавили не абсолютні величини їх активності, а напрям та ступінь змін активності (представлені у відсотках).

Результати дослідження змін активності ГП представлено на рис. 3.4. Аналізуючи отримані величини активності, встановлено, що найбільш значні за розмахом зміни з боку активності ГП також виявляються у нирковій паренхімі (рис. 3.4), При цьому активність ГП у нирковій паренхіми збільшується відносно номінальних значень. Даний факт, на нашу думку, доводить, що, незважаючи на значну інтенсивність процесів пероксидації та суттєві втрати ГВ у реакціях антиоксидантного захисту, даний процес у нирках є компенсованим, про що свідчить вірогідне підвищення активності ГП.

Проте у серцевому м’язі та плазмі крові здатність до активації ГП спостерігається лише у самців лінії SHR, вірогідно при цьому поступаючись змінам активності ГП у нирках ($p < 0,05$ при порівнянні часток).

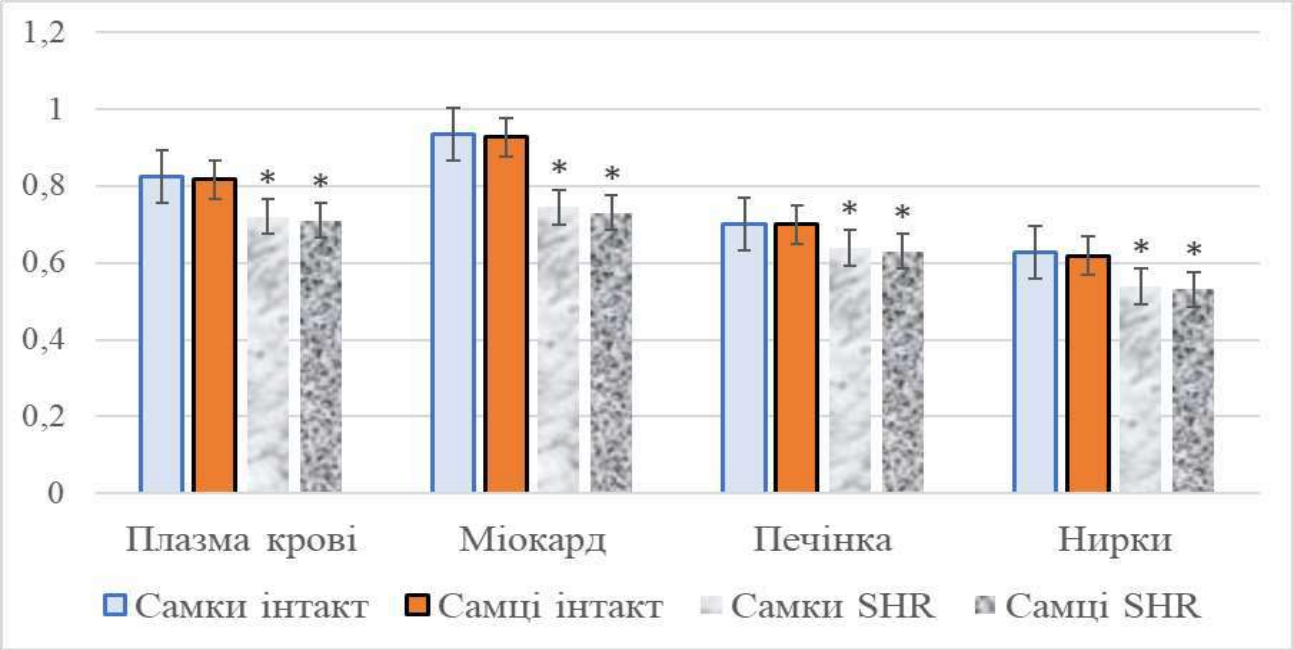

Рис. 3.4 Реґіонарні особливості змін активності глутатіонпероксидази у спонтанно-гіпертензивних щурів лінії SHR.

Примітки: * статистично значуща різниця із групою відповідного інтактного контролю $p \leq 0,05$.

У самок щурів лінії SHR, навпаки, знижується активність ГП. Дані зміни у серцевому м’язі та плазмі крові, разом із підвищенням концентрації МДА та зниженням вмісту ГВ свідчать про значне виснаження даного механізму антиоксидантного захисту в умовах посилення пероксидації. Таким чином, показники підвищення рівня МДА та зниження вмісту ГВ можуть слугувати опосередкованими індикаторами ураження серця та судин у моделі спонтанної гіпертензії.

Подібні до попередніх зміни можна побачити також аналізуючи реґіонарні особливості активації каталази, іншого ферменту ланцюга антиоксидантного захисту , що наведено на рис. 3.5.

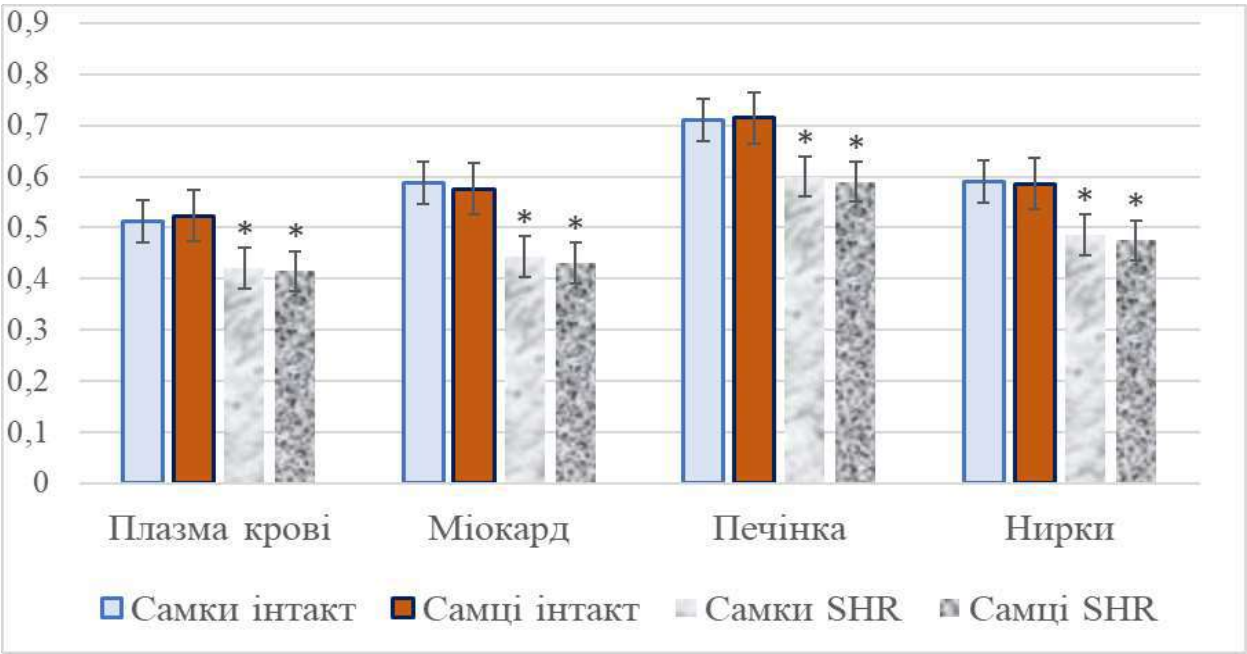

Рис. 3.5 Реґіонарні особливості змін активності каталази у спонтанно-гіпертензивних щурів лінії SHR.

Примітки: * статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$.

У нирковій паренхімі спостерігається значне підвищення активності К порівняно з іншими локалізаціями, що з одного боку вказує на навантаженість антиоксидантного захисту в умовах його активації, проте з іншого породжує значні компенсаторні можливості з боку даної ферментної системи. Проте у плазмі крові та серцевому м’язі, на противагу активації К у нирках, вбачаємо тенденцію до зниження активності К, що у свою чергу підтверджує значну декомпенсацію наведеної системи антиоксидантного захисту (рис. 3.5).

Таким чином, гіпертензовані щурі лінії SHR, характеризуються значним дисбалансом системи ПОЛ-АОС, із активацією перекисного окислення та зниженням ферментативної на неферментативної активності ендогенної антиоксисної системи.

3.3 Скринінгові дослідження з пошуку оптимального шляху введення корвітину

АГ характеризується підвищеними ризиками тромбоутворення та значним дисбалансом ПОЛ-АОС і якщо деякі антигіпертензивні ЛП, наприклад із груп іАПФ та БРА чинять фібринолітичну дію, то для компенсації неконтрольованих процесів оксидативного стресу потрібно введення лікарського засобу із антиоксидантною дією.

Потужним антиоксидантом є кверцетин, який як було зазначено має, оптимальні показники біодоступності у комплексі із повідоном («Корвітин» НПЦ «БХФЗ» Україна).

Корвітин, випускається у флаконах по 0,5 г, призначений для парентерального введення. Терапевтична ефективність корвітину обумовлена фармакологічними ефектами кверцетину (вільного, загального, кон'югованого) і його активних метаболітів (вільного, загального і кон'югованого ізорамнетину). Вільний кверцетин впродовж 20 хв. після введення піддається кон'югації на 32,5%. Ізорамнетин також піддається кон'югації на 70% впродовж 25-30 хвилин. Tmax загального і вільного кверцетину - 0,25 години, Tmax вільного ізорамнетину - 0,27 години. T½ вільного кверцетину становить 1,08 години, вільного ізорамнетину - 0,18 години, T½ загального кверцетину, кон'югованого кверцетину, загального ізорамнетину, кон'югованого ізорамнетину і сумарної концентрації кверцетину і ізорамнетину значно вище (6,92; 6,90; 4,39; 4,40; 5,80 години). При цьому Kel кверцетину і його метаболітів показує обернено пропорційні значення. Найвищий показник Cmax зареєстрований у сумарній концентрації кверцетину та ізорамнетину і становить 3870,9 нг/мл, найнижчий показник Cmax спостерігався у вільного ізорамнетину (251,6 нг/мл). Після парентерального введення корвітин виводиться з сечею у вигляді кон'югатів кверцетину та ізорамнетину [130; 131].

Парентеральне введення, як відомо знижує комплаєнс у пацієнтів і не дає можливості приймати препарат самостійно, без медичної допомоги та протягом тривалого часу.

Вищезазначене обумовило доцільність порівняння вираженості антиоксидантної дії корвітину при його пороральному та парентеральному шляху введення. Корвітин вводили у середньотерапевтичній дозі 500 мг. Перерахунок доз для щурів зроблений з урахуванням коефіцієнту видової чутливості за Риболовлєвим Ю.Р. доза корвітину для щурів – 30 мг/кг. Токоферолу ацетат (як еталонний препарат з антиоксидантною дією) вводили у дозі 18 мг/кг, яка відповідає середньодобовій терапевтичній дозі для людини 300 мг токоферолу ацетату. Дослідження проведені на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів за Ягером, результати представлені у табл. 3.12

Таблиця 3.12

Результати вивчення мембраностабілізувальної активності корвітину за різних шляхів введення

Умови досліду	Ступінь гемолізу еритроцитів, %	Мембраностабілізувальна активність, %
Інтактний контроль	28,7 ± 1,94	-
Корвітин, 30 мг/кг (в/в введення)	10,3± 1,05 */**	64
Корвітин, 30 мг/кг (в/ш введення)	12,2 ± 1,01 */**	57
Токоферолу ацетат, 18 мг/кг (в/ш введення)	15,8 ± 0,71*	45

Примітки: в/в – внутрішньовенне, в/ш - внутрішньошлункове

1.* - відхилення показника достовірно по відношенню до інтактного контролю, P<0,001;

2.** - відхилення показника достовірно по відношенню до токоферолу ацетату , P<0,005.

Як видно з таблиці 3.12 потужна антиоксидантна дія корвітину, яка обумовлена його антиоксидантною активністю, через що і відбувається стабілізація мембран еритроцитів, немає статистично значущих відмінностей за умов в/в та в/ш введення.

Корвітин у дозі 30 мг/кг, за умов будь якого шляху введення вірогідно перевищує антиоксидантну дію токоферолу ацетату.

Для подальших досліджень було обрано пероральний шлях введення корвітину у дозі 30 мг/кг, який поєднували з найбільш уживаними антигіпертензивними ЛП: іАПФ – раміприлом та БРА – кандесартаном у мінімальних терапевтичних дозах.

3.4 Дослідження впливу монотерапії раміприлу і кандесартану та їх комбінації з корвітином на показники артеріального тиску у гіпертензивних щурів

Основним показником ефективності лікування АГ є контроль АТ. У зв’язку з цим у першу чергу було необхідно з’ясувати, які зміни АТ відбулися у експериментально гіпертензивних щурів серії SHR, та як на цей показник буде впливати монотерапія раміприлу і кандесартану та їх комбінації з корвітином. Терапію проводили 21 день.

Результати дослідження наведено у табл. 3.13

Щурі лінії SHR характеризуються розвитком АГ, що встановлено за збільшенням САТ, мм рт. ст. у 1,4 рази ($p \leq 0,05$), ДАТ, мм рт. ст. у 1,3 рази ($p \leq 0,05$) та стійкою тенденцією до підвищення ЧСС, яка однак не набула статистично значущої різниці.

Таблиця 3.13

Вплив монотерапії раміприлу та кандесартану та їх комбінації з корвітином на гемодинамічні показники у щурів лінії SHR

№	Група	САТ, мм рт. ст	ДАТ, мм рт. Ст	ЧСС, уд/хв
1	Інтактні щурі (n = 10)	133 ± 5,54	105 ± 4,34	323 ± 13,1
2	Щурі лінії SHR (n = 10)	188 ± 5,01*	142 ± 3,27*	341 ± 10,2
3	Раміприл (n = 10)	134 ± 5,16**	106 ± 4,01**	332 ± 11,8
4	Кандесартан (n = 10)	131± 6,12**	107 ± 3,14**	331 ± 11,8
5	Раміприл + корвітин (n = 10)	132 ± 5,17**	104 ± 7,65**	327 ± 13,0
6	Кандесартан + корвітин (n = 10)	131 ± 6,45**	102 ± 5,13**	339 ± 12,6

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів $p \leq 0,05$.

Введення гіпертензованим щурам впродовж 21 доби монотерапії або їх комбінацій із корвітином сприяло вірогідній нормалізації досліджуваних показників до рівня інтактного контролю.

Слід зазначити, що комбінації з корвітином ЛП групи іАПФ або БРА не змінювало вплив на гемодинамічні показники. Це пояснюється тим, що корвітин має в першу чергу антиоксидантну дію та не впливає на показники АТ.

Доцільним є дослідити, чи є різниця впливу монотерапії раміприлу та кандесартану з їх комбінацією із корвітином на показники фібринолізу, ендотеліальну функцію, процеси ПОЛ-АОС, що не менш важливе у терапії АГ.

Підсумовуючи результати отриманих досліджень даного розділу, приходимо до таких висновків:

1. У спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR спостерігаються характерні розлади з боку систем згортання крові, а саме: визначається вірогідне збільшення концентрації фібриногену як у плазмі крові, так і в серцевому м'язі, порівняно зі щурами інтактної лінії. Рівень фібринстабілізуючого фактору та активність антитромбіну III вірогідно не відрізняється від такої, що визначається у інтактних щурів. Активність ПАП вірогідно знижається у серцевому м'язі щурів лінії SHR порівняно зі інтактними лабораторними тваринами.

2. Гіпертензовані щурі лінії SHR, характеризуються значним дисбалансом системи ПОЛ-АОС, із активацією перекисного окислення (за показником МДА) та зниженням ферментативної (СОД, каталази, ГП) на неферментативної (ГВ) активності ендогенної антиоксисної системи. Зазначені зміни балансу ПОЛ – АОС, не мають суттєвих гендерних відмінностей.

3. З метою оптимізації антигіпертензивної терапії було обрано кверцетин, у комплексі із повідоном («Корвітин» НПЦ «БХФЗ» Україна). Корвітин у дозі 30 мг/кг має рівнозначну антиоксидантну дію, яка була верифіковано за ступенем гемолізу еритроцитів, при двох шляхах введенні: внутрішньовенному та внутрішньошлунковому. Для подальших досліджень було обрано пероральний шлях введення корвітину у дозі 30 мг/кг який поєднували з найбільш уживаними антигіпертензивними ЛП: іАПФ – раміприлом та БРА- кандесартаном у мінімальних терапевтичних дозах.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Марущак А. В., Шоріков Є. І., Шорікова Д. В., Тимофійчук І. Р., Гайдичук В. С. Зміни пероксидного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в спонтанно-гіпертензивних щурів під час експериментального

лікування раміприлом та кандесартаном. *Медична та клінічна хімія.* 2016. Т. 18 № 1. С. 5-51. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i1.6183.

2. Марущак А. В. Особливості змін показників фібринолізу та протеолізу у спонтанно-гіпертензивних щурів за умови лікування раміприлом. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2016. № 11 (3). С. 87-91.

3. Maruschak A. V., Shorikova D. V., Shorikov E.I., Tymofiychuk I.R. Features changes parameters fibrinolysis and proteolysis in spontaneously hypertensive rats, if treatment Ramipril. *The unity of science*: *International scientific periodical journal*. 2017. № 1. P. 116-8.

4. Maruschak A. V. Lipid peroxidation and state of antioxidant protection in spontaneously hypertensive rats during and experimental treatment ramipril and candesartan. *The unity of science: International scientific periodical journal.* 2016. № 3. P. 131-134.

РОЗДІЛ 4
ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНАЦІЇ РАМІПРИЛУ ІЗ КОРВІТИНОМ НА ФІБРИНОЛІТИЧНИЙ ТА АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС ЩУРІВ ГІПЕРТЕНЗИВНОЇ ЛІНІЇ SHR ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ТА НЕТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ

Несульфгідрильний іАПФ раміприл, отриманий у 80-х роках минулого сторіччя продовжив низку групи інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту, до якої належать лізиноприл, еналаприл, каптоприл та ін. Раміприл дещо відрізняється від них за хімічною структурою та фармакокінетичними властивостями і належить до ліпофільних проліків. Раміприл внаслідок метаболізму, із реакцією гідролізу, перетворюється на активні діацидні метаболіти (раміприлати). Щодо ефективності та безпечності раміприлу було проведено чимало досліджень, в тому числі рандомізовані плацебо контрольовані, в яких доведено високу ефективність у пацієнтів з АГ, а також у хворих на постінфарктну серцеву недостатність та хвороби нирок. Раміприл знижує АТ в середньому на 5–44/5–30 мм рт.ст. залежно від дози препарату та ступеня АГ. Також відомо, що раміприл не тільки дозволяє контролювати АТ, але і збільшує тривалість життя, знижує ризик інфаркту міокарда та інсульту [132; 133].

У випробуваннях RASTAVI проведених Amat-Santos IJ (2020) [134] встановлено, що коронавірусна хвороба-2019 (COVID-19) спричинена важким гострим респіраторним синдромом коронавірусу-2, який взаємодіє з ренін-ангіотензин-альдостероновою системою (РААС) через ангіотензинперетворюючий фермент 2. Ця взаємодія може бути потенційним фактором ризику у пацієнтів, які отримують інгібітори РААС. Станом на 1.04.2020 р. в дослідження було включено 102 пацієнти (50 у групі раміприлу та 52 у контрольній групі). Середній вік склав 82,3 ± 6,1 року, 56,9% учасників були чоловіками. Середній час лікування раміприлом становив 6 місяців (міжквартальний діапазон: від 2,9 до 11,4 місяців). У одинадцяти пацієнтів

(10,8%) діагностовано COVID-19 (6 у контрольній групі та 5, які отримували раміприл; коефіцієнт ризику: 1,150; 95% довірчий інтервал: від 0,351 до 3,768). Ризик COVID-19 був підвищений у пацієнтів старшого віку (p = 0,019) та пацієнтів із фібриляцією передсердь (p = 0,066), нижчим гематокритом (p = 0,084). Встановлено, що у групі високого ризику літніх пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями рандомізація до раміприлу не впливала на частоту або тяжкість COVID-19. Цей аналіз підтримує терапію раміприлом під час кризи COVID-19.

Недоліком монотерапії раміприлом є відсутність впливу на процеси ПОЛ-АОС. Вищезазначене стало обгрунтуванням для вивчення комбінації раміприлу у мінімальній терапевтичній дозі із відомим антиоксидантом корвітином.

Доцільно було з’ясувати вплив монотерапії раміприлом та комбінації раміприл із корвітином на показники згортання крові, фібриноліз, ендотеліальні показники стану судин та баланс системи ПОЛ-АОС у гіпертензивних щурів лінії SHR.

4.1 Дослідження впливу комбінації раміприлу із корвітином на показники згортання крові та ендотеліальний стан судин у гіпертензивних щурів.

Інтегральним показником системи згортання крові та фібринолізу є показник часу згортання крові. Вивчення впливу монотерапії раміприлом та комбінації раміприл із корвітином на згортання крові у гіпертензивних щурів (рис.4.1). Експериментальна гіпертензія характеризується вірогідним збільшенням часу згортання крові відносно групи інтактного контролю (рис. 4.1). Монотерапія раміприлом, дещо збільшує цей показник, але ці зміни не є статистично значущими.

Рис. 4.1 Час згортання крові (сек) у гіпертензивних щурів, що отримували різні варіанти терапії.

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів $p \leq 0,05$.

Комбінація раміприлу із корвітином, достовірно збільшує час згортання крові у 1,2 рази ($p \leq 0,05$) відносно групи гіпертензивних нелікованих щурів і доводить його до меж фізіологічної норми. Отримані дані спонукали до більш глибокого вивчення впливу монотерапії раміприлом та комбінації раміприл із корвітином на систему згортання крові - фібриноліз.

Результати поглибленого вивчення із дослідженням фібриногену, фібринстабілізуючого фактору, антитромбіну III та потенційної активності плазміногену наведено у табл .4.1.

Аналізуючи отримані дані, можна стверджувати, що гіпертензовані щурі характеризувались зсувом балансу (згортання крові - фібриноліз, у бік тромбоутворення, що верифіковане за збільшенням у 1,4 рази вмісту фібриногену, збільшенням у 1,1 рази рівня XIII фактору, зменшенням у 1,3 рази

рівня АТ III та зниженням потенційної активності плазміногену у 1,8 рази (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Зміни вмісту фібриногену, фібринстабілізуючого фактору, антитромбіну III та потенційної активності плазміногену (ПАП) в крові щурів лінії SHR за монотерапії раміприлом та комбінації раміприл із корвітином

Умови досліду	Вміст фібриногену (г/л)	Рівень XIII фактору (%)	Рівень АТ III (%)	ПАП (хв.)
Інтактні щурі, n = 20	2,89 ± 0,64	86,7 ± 11,10	107 ± 7,0	16,30 ± 0,42
Щурі серії SHR, n = 12	3,95 ± 0,56 *	96,3 ± 9,70	81 ± 5,1*	9,10 ± 0,23*
Щурі серії SHR + раміприл, n = 12	3,24 ± 0,26	85,2 ± 10,30	109 ± 4,0**	16,35 ± 0,13**
Щурі серії SHR, + раміприл та корвітин, n = 12	3,18 ± 0,26 **	86,5 ± 9,80	107 ± 7,0**	16,25 ± 0,13**

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів $p \leq 0,05$.

Під час застосування монотерапії раміприлом та комбінації раміприл із корвітином відбувалась нормалізація зазначених показників до рівня фізіологічної норми.

Варто особливо зауважити, що відновлення вмісту фібриногену, фібринстабілізуючого фактору, антитромбіну III та потенційної активності плазміногену відбувалось в першу чергу за рахунок раміприлу. Введення корвітину немало у даному випадку суттєвого впливу на зазначені показники, хоча і можна відмітити позитивну тенденцію.

Для подальшої оцінки стану системи фібринолізу та загального протеолізу нами було проведено вивчення фібринолітичної активності плазми у підгрупах щурів інтактних та щурів спонтанно гіпертензивної лінії, а також

порівняно зміни фібринолізу і протеолізу під впливом лікування раміприлом та раміприлом із корвітином.

Тест для визначення фібринолітичної активності плазми крові (XIIa залежний фібриноліз) полягав у вимірюванні часу повного лізису еуглобулінової фракції, отриманої із плазми крові при зсіданні в кислому середовищі, яка містить фактори згортання крові та фібринолізу. Результати наведено у таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

Зміни фібринолітичної активності плазми крові щурів лінії SHR за експериментального лікування раміприлом та раміприлом із корвітином

Умови досліду	СФА, мкг азофібрину/мл за годину	НФА, мкг азофібрину/ мл за годину	ФФА, мкг азофібрину/ мл за годину
Інтактні щурі, n = 20	0,736 ± 0,067	0,338 ± 0,0204	0,398 ± 0,0557
Щурі серії SHR, n = 12	0,599 ± 0,022*	0,289 ± 0,0103*	0,289 ± 0,0135*
Щурі серії SHR, які отримували раміприл, n = 12	0,678 ± 0,0317**	0,324 ± 0,0118**	0,344 ± 0,0246**
Щурі серії SHR, які отримували раміприл та корвітин, n = 12	0,686 ± 0,0317**	0,329 ± 0,0118**	0,357 ± 0,0246**

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів $p \leq 0,05$.

Таким чином, нами встановлено, що у тварин з артеріальною гіпертензією спостерігаються зміни фібринолітичних властивостей плазми, що може свідчити про зменшення інтенсивності розпаду високомолекулярних комплексів і про збільшення вмісту високомолекулярних антипротеаз. Опосередковано про це ж може свідчити тенденція до збільшення протеолітичної активності плазми за азоказеїном та азоколом у щурів з АГ.

Збільшення кількості часток високо- і низькомолекулярних комплексів у плазмі крові може призводити до відкладання їх у стінці судин і призводити до порушень внутрішньопечінкової мікроциркуляції. Зниження фібринолітичної активності плазми і збільшення кількості часток середньо- і високомолекулярних білків може призвести до збільшення в'язкості пристінкового шару плазми у дрібних капілярах і призводити до підвищення гіперв'язкості за рахунок плазмового компоненту.

Застосування раміприлу та раміприлу із корвітином викликало вірогідні зміни фібринолітичної активності та процесів протеолізу в плазмі крові (на системному рівні) щурів серії SHR.

Зареєстровано відновлення сумарної фібринолітичної активності (СФА), неферментативної фібринолітичної активності (НФА) та ферментативної фібринолітичної активності (ФФА) під дією раміприлу на 8-15 % ($p \leq 0,05$) табл. 4.2.

Комбінація раміприлу із корвітином була більш ефективною за спливом на показники фібринолітичної активності, від 14 до 19 % ($p \leq 0,05$) табл. 4.2., але статистично значущої різниці із монотерапією раміприлом не було встановлено.

Також було досліджено вплив монотерапії раміприлом та комбінації раміприл із корвітином на зміни протеолітичної активності плазми крові. Результати наведено у таблиці 4.3.

Застосування препарату раміприлу в комбінації з корвітином призвело до вірогідного зростання активності лізису низькомолекулярних сполук, колагену та високомолекулярних білків відповідно на 4%, 12% та 17% порівняно з групою контрольної патології (щурі серії SHR).

Слід зазначити, що застосування саме комбінації раміприлу із корвітином, досягло вірогідних змін, тоді як для щурів, що отримували монотерапію раміприлом зафіксована стійка позитивна тенденція. Ймовірно такі зміни можуть бути пов'язані з вираженою активацією окислювальної

модифікації білків, яка насамперед, призводить до пошкодження високомолекулярних білків із наступним їх лізисом.

Таблиця 4.3

Зміни протеолітичної активності плазми крові щурів лінії SHR за експериментального лікування раміприлом та раміприлом із корвітином

Умови досліду	Лізис низько-молекулярних білків, мкг азоальбуміну/ мл за годину	Лізис колагену, мкг азоколу/ мл за годину	Лізис високомолекуляр-них білків, мкг азоказеїну/ мл за годину
Інтактні щурі, n = 20	3,04 ± 0,0831	0,274 ± 0,0506	2,60 ± 0,1209
Щурі серії SHR n = 12	2,83 ± 0,0282*	0,228 ± 0,0224*	2,21 ± 0,102*
Щурі серії SHR, які отримували раміприл, n = 12	2,90 ± 0,0211	0,266 ± 0,0120*	2,39 ± 0,088
Щурі серії SHR, які отримували раміприл та корвітин, n = 12	2,96 ± 0,0201**	0,268 ± 0,0105*	2,48 ± 0,088**

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів $p \leq 0,05$.

У щурів лінії SHR спостерігаються зміни системного та місцевого фібринолізу і протеолізу, що може бути наслідком активації пристосувальних реакцій. Застосування раміприлу в комбінації з корвітином призвело до активації протеолітичної активності особливо високомолекулярних білків.

Роль системи високомолекулярного кініногену (ВМК) та пов’язаних з ним факторів згортання не раз переглядались. Кініноген, як і прекалікреїн та XII і XI фактори зсідання, є представниками системи контактної активації згортання крові. Водночас ВМК бере активну участь в активації плазміногенів проурокіназного та тканинного типів, тобто є вузловим фактором фібринолізу.

Таким чином, наступним етапом дослідження стало вивчення вмісту ВМК у плазмі інтактних щурів та щурів лінії SHR. Результати вивчення наведено у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

Вміст високомолекулярного кініногену у крові інтактних щурів та щурів лінії SHR

Показники	Контроль	Плазма інтактних щурів	Плазма щурів SHR
Високомолекулярний кініноген (мкг/мл)	0,25 ± 0,078	0,322 ± 0,111	0,526 ± 0,104
$F = 27,26$; $p < 0,001$; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням множинних порівнянь у процедурі Джеймса - Хоула; $p_{1-2} > 0,05$; $p_{1-3} < 0,01$; $p_{2-3} < 0,01$.			

Отже, аналізуючи отримані дані (табл. 4.4) встановлено, що у щурів лінії SHR спостерігається підвищення концентрації ВМК у плазмі порівняно зі щурами інтактної лінії, про що засвідчує підвищена залученість даного компоненту в реакції тканинного фібринолізу та контактної (на рівні ендотелію судин) активації згортальних систем. Крім того, не можна виключити, що підвищена активність ВМК пов’язана із процесом посиленого вироблення брадикініну, необхідного для підтримання вазодилятації в умовах постійного підвищення артеріального тиску спонтанно-гіпертензивних щурів.

Наступним завданням нашого дослідження стало вивчення змін вмісту ВМК під впливом відповідно раміприлу, причому вивчення проводилось під час як нетривалого, так і тривалого лікування даними засобами.

Враховуючи вищевикладене, що на систему фібринолізу та згортання крові основний вплив чинить раміприл, вивчення змін вмісту ВМК проводили для груп тварин, що отримували монотерапію раміприлом за умов нетривалого (8 днів) та тривалого застосування (21 день).

Зміни вмісту ВМК під впливом нетривалого та тривалого лікування препаратами вивчали за допомогою непараметричного дисперсійного аналізу за

Фрідманом. Попарні порівняння груп між собою проводили з використанням критерію Вілкоксона та критерію знаків.

Результати дослідження впливу раміприлу на вміст ВМК представлені у таблиці 4.5, 4.6, 4.7 та рис. 4.2.

Таблиця 4.5

Зміни вмісту високомолекулярного кініногену у крові інтактних щурів та лінії SHR під впливом раміприлу

Показники	Вихідний рівень	Нетривале застосування	Тривале застосування
Високомолекулярний кініноген (мкг/мл)	0,535 ± 0,104	0,452 ± 0,117	0,442 ± 0,120
ANOVA Fridman $\chi 2 = 27,7$; $p < 0,001$.			

Таблиця 4.6

Зміни вмісту вискомолекулярного кініногену під впливом нетривалого лікування раміприлом

Високомолекулярний кініноген: вихідний рівень проти підгрупи лікування (критерій Вілкоксона)	T = 4,000	Z = 3,87	p = 0,001
Високомолекулярний кініноген: вихідний рівень проти підгрупи лікування (критерій знаків)	Відсоток v < V 4,769	Z = 3,93	p < 0,001

Таким чином, у дослідженні на щурах лінії SHR встановлено, що нетривале та тривале призначення раміприлу супроводжується вірогідним зниженням вмісту ВМК. При чому більш суттєві зміни вмісту ВМК спостерігаються впродовж нетривалого лікування. При тривалому призначенні вміст ВМК і надалі знижується, проте з меншим ступенем ймовірності.

Порівнюючи нетривале лікування на противагу тривалому встановили: за критерієм Вілкоксона зміни під впливом нетривалого лікування є невірогідними, проте аналіз за критерієм знаків свідчить про те, що зниження

ВМК у спонтанно гіпертензивних щурів продовжується і за умов тривалого застосування даного препарату. Рівень зниження ВМК під впливом тривалого застосування раміприлу є вірогідним.

Таблиця 4.7

Зміни вмісту вискомолекулярного кініногену під впливом тривалого лікування раміприлом порівняно з нетривалим

Високомолекулярний кініноген: нетривале лікування проти тривалого лікування (критерій Вілкоксона)	T = 54,000	Z = 2,13	p = 0,033
Високомолекулярний кініноген: нетривале лікування проти тривалого лікування (критерій знаків)	Відсоток v < V 28,57	Z = 1,75	p = 0,083

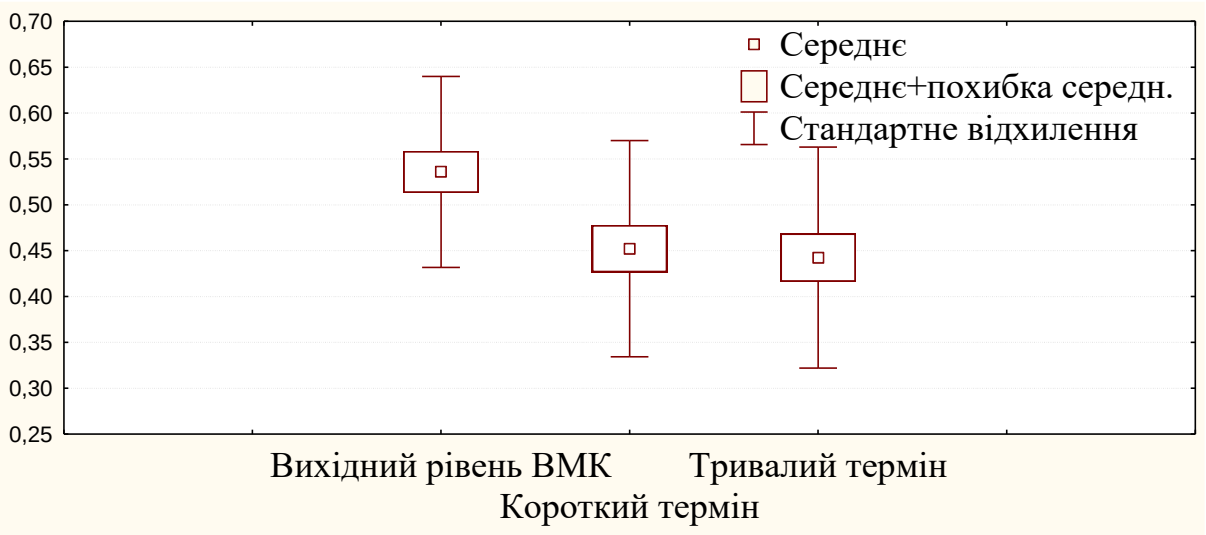

Рис. 4.2 Зміни вмісту високомолекулярного кініногену у плазмі щурів лінії SHR під впливом нетривалого та тривалого лікування раміприлом.

Таким чином, раміприл, має виражену здатність змінювати вміст ВМК у плазмі крові щурів як під час тривалого, так і нетривалого лікування.

Найбільш важливою ланкою порушення ендотеліальної функції є система синтезу важливого ендотеліального фактору – оксиду азоту (NO) та пов’язаних з ним ферментних та неферментних систем. Це обумовило вивчення рівня метаболітів NO у самок та самців гіпертензивних щурів, які отримували

лікування комбінацією раміприлу із корвітином. Результати наведено у таблиці 4.8.

Таблиця 4.8

Зміни вмісту метаболітів монооксиду нітрогену плазми крові щурів серії SHR при експериментальному лікуванні раміприлом з корвітином за нетривалого та тривалого застосування

Групи тварин	Рівень метаболітів NO мкмоль/л.n = 12 (нетривале введення)		Рівень метаболітів NO мкмоль/л.n = 12 (тривале введення)	
	Самці	Самки	Самці	Самки
Інтактні щурі	11,8 ± 0,045	10,94 ± 0,032	11,8 ± 0,045	11,94 ± 0,032
Щурі серії SHR	6,23 ± 0,012*	6,29 ± 0,009*	6,23 ± 0,012*	6,29 ± 0,009*
Щурі серії SHR, раміприл+корвітин	7,23 ± 0,02**	7,44 ± 0,03**	9,43 ± 0,01**/***	9,57 ± 0,03**/***

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів $p \leq 0,05$.

*** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, що отримували нетривале введення раміприл + корвітин $p \leq 0,05$.

Застосування раміприлу із корвітином викликало вірогідні зміни вмісту метаболітів монооксиду нітрогену у щурів серії SHR (табл. 4.8). Порівняно з тваринами серії SHR, які не отримували лікування, рівень метаболітів монооксиду нітрогену зростав у 1,2 рази у групі тварин, які отримували нетривале лікування, та в 1,6 разів у тварин, які отримували препарат більш тривалий час. Отримані дані свідчать про вазодилятацію, показником якої є зростання рівня метаболітів NO [135; 136].

Тривале застосування раміприлу покращує стан ендотеліальної функції, але цей препарат викликає не тільки пригнічення надлишкових вазоконстрикторних реакцій, але й сприяє поступовій реставрації ремодельованих судин. Препарати цього класу мають переваги над іншими антигіпертензивними препаратами щодо впливу на вазодилятацію ендотелію, що пов'язано із впливом на ангіотензин II, а також пригнічення руйнування брадикініну, який в свою чергу викликає вивільнення ендотелій-залежного оксиду азоту [112].

У щурів лінії SHR спостерігаються зростання рівня метаболітів монооксиду нітрогену при лікуванні раміприлом в комбінації з корвітином.

Застосування раміприлу та корвітину тривалий час викликало значні ефекти зростання рівня монооксиду нітрогену порівняно із такими показниками при нетривалому лікуванні.

4.2 Вивчення дії комбінації раміприлу із корвітином на баланс ПОЛ-АОС у гіпертензивних щурів

До вивчення влпливу комбінації раміприлу із корвітином на баланс ПОЛ-АОС у гіпертензивних щурів, представлялось доцільним з'ясувати антиоксидантні можливості монотерапії раміприлом за умов нетривалого (8 діб) введення.

Результати дослідження з нетривалого введення раміприлу щодо вмісту продуктів ПОЛ та стану антиоксидантного захисту у плазмі, міокарді, печінці та нирках щурів лінії SHR представлені в табл. 4.9.- 4.12.

Аналізуючи вплив даної комбінації на баланс ПОЛ-АОС у плазмі крові, варто зазначити, що спостерігається тенденція до зниження рівня МДА у плазмі як у самок, так і самців щурів лінії SHR ($p > 0,05$). Рівень ГВ відновленого під впливом даного препарату змінився суттєво, збільшується рівень ГВ порівняно з вихідним рівнем на 27,4% у самок щурів лінії SHR ($p = 0,04$) та на 21,1% у самців щурів спонтанно-гіпертензивної лінії.

Таблиця 4.9

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність захисних протирадикальних систем у плазмі крові щурів лінії SHR після нетривалого застосування раміприлу та корвітину

Показники	Плазма крові щурів лінії SHR (20 тварин)		Плазма крові щурів лінії SHR через 8 діб введення раміприлу та корвітину (10 тварин)	
	Самки	Самці	Самки	Самці
Малоновий діальдегід (ммоль/л)	0,052 ± 0,014	0,059 ± 0,012	0,044 ± 0,011 $p_1 > 0,05$	0,042 ± 0,017 $p_2 > 0,05$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,62 ± 0,005	0,71 ± 0,004	0,79 ± 0,005 $p_1 = 0,04$	0,86 ± 0,006 $p_2 = 0,04$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,715 ± 0,024	0,728 ± 0,048	0,695 ± 0,035 $p_1 > 0,05$	0,685 ± 0,024 $p_2 > 0,05$
Каталаза (ммоль/л)	0,409 ± 0,012	0,410 ± 0,012	0,446 ± 0,011 $p_1 \approx 0,05$	0,451 ± 0,025 $p_2 \approx 0,05$

Примітки:

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок щурів SHR після введення раміприлу;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців щурів SHR після введення раміприлу.

Активність такого ферменту, як ГП під впливом раміприлу у плазмі крові практично не змінились, демонструючи напрямок до зниження ($p > 0,05$). Досить відчутними були зміни активності каталази у плазмі крові (на 9,0%) збільшення активності у самок та на 10,0% збільшення активності у самців відповідно, проте вірогідність їх змін на прийнятному рівні фіксувалась лише у

групі самок (p ≈ 0,05). Зміни активності каталази у самців були невірогідними (p > 0,05).

Таблиця 4.10

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність захисних протирадикальних систем у серцевому м'язі щурів лінії SHR після нетривалого застосування раміприлу

Показники	Серцевий м'яз щурів лінії SHR (20 тварин)		Серцевий м'яз щурів лінії SHR через 8 діб після введення раміприлу (10 тварин)	
	Самка	Самець	Самка	Самець
Малоновий діальдегід (ммоль/л)	0,066 ± 0,004	0,071 ± 0,009	0,051 ± 0,001 $p_1 > 0,05$	0,047 ± 0,002 $p_2 > 0,05$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,61 ± 0,07	0,74 ± 0,04	0,82 ± 0,09 $p_1 = 0,01$	0,87 ± 0,09 $p_2 = 0,013$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,735 ± 0,023	0,733 ± 0,037	0,645 ± 0,005 $p_1 = 0,011$	0,648 ± 0,002 $p_2 = 0,11$
Каталаза (ммоль/л)	0,436 ± 0,032	0,453 ± 0,023	0,472 ± 0,036 $p_1 > 0,05$	0,488 ± 0,042 $p_2 > 0,05$

Примітки:

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок щурів SHR після введення раміприлу;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців щурів SHR після введення раміприлу.

Аналізуючи зміни параметрів ПОЛ у серцевому м'язі щурів за дії раміприлу, необхідно зазначити таке: рівень МДА у серці, як і в плазмі крові, мав тенденцію до зниження, причому у самок лінії SHR зниження МДА сягало достатнього рівня вірогідності. Рівень зниження МДА у самців був

невірогідним, проте тенденція напрямку змін зберігалась (p = 0,07). Вірогідно у самців (17,6%) та самок (на 34,4%) зростали рівні ГВ у серцевому м'язі (p < 0,001) на тлі відчутної тенденції до зниження активності ГП (у самок зміни активності ГП при p = 0,011, проте у самців тільки виявлялась відчутна тенденція до зменшення активації – p = 0,11). Також у серцевому м'язі щурів введення раміприлу призводило до незначного підвищення активності каталази (p > 0,05).

Таблиця 4.11

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність захисних протирадикальних систем у печінковій тканині щурів лінії SHR після нетривалого застосування раміприлу

Показники	Печінкова тканина щурів лінії SHR (20 тварин)		Печінкова тканина щурів лінії SHR через 8 діб після введення раміприлу (10 тварин)	
	Самка	Самець	Самка	Самець
Малоновий діальдегід (ммоль/л)	0,131 ± 0,07	0,132 ± 0,03	0,097 ± 0,001 $p_1 > 0,05$	0,104 ± 0,004 $p_2 > 0,05$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,47 ± 0,012	0,46 ± 0,012	0,55 ± 0,007 $p_1 < 0,001$	0,54 ± 0,006 $p_2 < 0,001$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,636 ± 0,018	0,638 ± 0,014	0,626 ± 0,028 $p_1 < 0,05$	0,630 ± 0,028 $p_2 < 0,05$
Каталаза (ммоль/л)	0,591 ± 0,01	0,597 ± 0,01	0,549 ± 0,024 $p_1 = 0,06$	0,541 ± 0,02 $p_2 = 0,009$

Примітки:

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок щурів SHR після введення раміприлу;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців щурів SHR після введення раміприлу.

Зміни стану ПОЛ та систем протиоксидантного захисту у печінковій паренхімі щурів лінії SHR під впливом раміприлу мали певні особливості.

Тенденція до зниження рівнів МДА у самок та самців у плазмі крові та серці також виявлялась ($p > 0,05$). Рівень глутатіону відновленого у печінковій тканині самок вірогідно збільшувався на 17,0% ($p < 0,05$), у самців зафіксовано збільшення вмісту ГВ порівняно з вихідними показниками на 17,4% ($p < 0,05$). При цьому активність ГП у печінці практично не змінювалась ($p > 0,05$), але ступінь змін активності каталази у печінці був протилежним щодо аналогічних змін активності даного ферменту в плазмі крові та серцевому м'язі.

Таблиця 4.12

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність захисних протирадикальних систем у нирках щурів лінії SHR після нетривалого застосування раміприлу

Показники	Ниркова тканина щурів лінії SHR (20 тварин)		Ниркова тканина щурів лінії SHR через 8 діб після введення раміприлу (10 тварин)	
	Самка	Самець	Самка	Самець
Малоновий діальдегід (ммоль/л)	0,215 ± 0,023	0,218 ± 0,038	0,182 ± 0,019 $p_1 > 0,05$	0,179 ± 0,019 $p_2 > 0,05$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,18 ± 0,011	0,19 ± 0,013	0,33 ± 0,014 $p_1 < 0,001$	0,32 ± 0,014 $p_2 < 0,001$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,565 ± 0,024	0,572 ± 0,028	0,576 ± 0,024 $p_1 > 0,05$	0,578 ± 0,024 $p_2 > 0,05$
Каталаза (ммоль/л)	0,489 ± 0,012	0,491 ± 0,018	0,443 ± 0,014 $p_1 < 0,05$	0,445 ± 0,014 $p_2 < 0,05$

Примітки:

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок щурів SHR після введення раміприлу;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців щурів SHR після введення раміприлу.

На тлі введення раміприлу активність каталази вірогідно знижувалась як у печінковій паренхімі самців (p = 0,009), так і у печінці самок щурів спонтанно-гіпертензивної лінії (p = 0,06).

Результати активності систем ПОЛ та антиоксидантного захисту, отримані із ниркової тканини під впливом введеного препарату, були подібними до змін параметрів даних систем у печінці. Також визначалась невірогідна тенденція до зниження рівня МДА (p > 0,05), зростання вмісту ГВ було найвищим порівняно з іншими органами (73,7% нирках самок щурів та 68,4% у самців щурів) (p < 0,001). Щодо активності систем протиоксидантного захисту – у нирках активність ГП не змінювалась (p > 0,05), проте рівень каталази вірогідно знижувався (на 10,3% у самок та на 9,4% у самців відповідно) (p < 0,05 у обох випадках).

Наступною метою нашого дослідження стала оцінка ступеня змін досліджених вище параметрів гемостазу щурів спонтанно гіпертензивної лінії під час застосування комбінації раміприлу з корвітином. Результати наведено у табл. 4.13-4.14.

Встановлено, що у гомогенаті міокарда відбувається значний зсув балансу ПОЛ-АОС у бік активації процесів пероксидації. Зазначені процеси монотерапії раміприлом не спроможні нівелювати.

Лікування щурів серії SHR раміприлом в серці щурів не вплинуло на вміст МДА, незначно знизився рівень дієнових кон’югатів в 1,02 рази при зниженні активності каталази в 1,07 рази, глутатіонпероксидази в 1,1 рази.

Комбінована терапія раміприлом і корвітином вірозідно знижувала рівень МДА в 1,82 рази і ДК в 1,42 рази порівняно з групою тварин, які отримували монотерапію раміприлом.

Таблиця 4.13.

Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів і активність ферментів АОЗ в серці щурів лінії SHR та при лікуванні раміприлом і корвітином (M±m, n=8)

Стать щурів	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Дієнові кон'югати (нмоль/мг білка)	СОД (од/хв·мг білка)	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Інтактний контроль					
Самки	0,030±0,003	0,398±0,012	0,810±0,007	0,940±0,018	0,625±0,004
Самці	0,035±0,002	0,390±0,021	0,800±0,006	0,960±0,012	0,615±0,007
У серці щурів лінії SHR					
Самки	0,056±0,004*	0,814±0,023*	0,445±0,005*	0,722±0,021*	0,509±0,002*
Самці	0,055±0,002*	0,810±0,02*1	0,439±0,001*	0,725±0,011*	0,510±0,003*
У серці щурів лінії SHR (раміприл)					
Самки	0,051±0,001	0,795±0,013	0,441±0,005	0,645±0,016*	0,472±0,007
Самці	0,049±0,001	0,798±0,011	0,442±0,001	0,647±0,032*	0,478±0,011
У серці щурів лінії SHR (раміприл+корвітин)					
Самки	0,031±0,001**/ ***	0,595±0,013**/***	0,778±0,003**/***	0,798±0,006**/***	0,545±0,012**/***
Самці	0,039±0,002**/***	0,588±0,012**/***	0,769±0,001**/***	0,796±0,022**/***	0,556±0,009**/***

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю, $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, $p \leq 0,05$;

*** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, що отримували монотерапію раміприлом, $p \leq 0,05$.

Активність ферментів антиоксидантного захисту достовірно зросла: СОД – в 1,78 рази, ГП – в 1,17 рази і каталази – в 1,18 рази.

Аналогічну картину було зафіксовано у гомогенаті нирок (табл. 4.14).

Таблиця 4.14

Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту в нирках щурів лінії SHR та при лікуванні раміприлом і корвітином (M±m, n=8)

Стать	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Дієнові кон'югати (нмоль/мг білка)	СОД (од/хв·мг білка)	Глутатіон пероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Інтактний контроль					
Самки	0,089±0,004	0,840±0,014	0,800±0,009	0,690±0,013	0,553±0,01
Самці	0,091±0,008	0,810±0,011	0,790±0,007	0,680±0,017	0,545±0,02
У нирках щурів лінії SHR					
Самки	0,216±0,008 *	1,670±0,02*	0,545±0,005*	0,562±0,021*	0,489±0,012 *
Самці	0,215±0,011 *	1,678±0,021 *	0,539±0,001*	0,568±0,011*	0,491±0,013 *
У нирках щурів лінії SHR (раміприл)					
Самки	0,211±0,003 *	1,515±0,011	0,535±0,005 *	0,568±0,036 *	0,443±0,011 *
Самці	0,209±0,004 *	1,518±0,012	0,539±0,001*	0,570±0,033*	0,445±0,012 *
У нирках щурів лінії SHR (раміприл+корвітин)					
Самки	0,125±0,001 */ **/***	0,865±0,01 3 **/***	0,625±0,024 */**/***	0,595±0,046 */**/***	0,493±0,012 **/***
Самці	0,1266±0,00 6*/ **/***	0,858±0,01 1* **/***	0,638±0,048	0,599±0,023 */**/***	0,495±0,013 **/***

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю, $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, $p \leq 0,05$.

*** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, що отримували монотерапію раміприлом, $p \leq 0,05$

Як, видно з таблиці 4.14, у гомогенаті нирок щурів серії SHR лікування раміприлом не вплинуло на вміст МДА, в 1,1 рази знижувало рівень ДК і не впливало на активність антиоксидантних ферментів, у той час, як терапія раміприлом і корвітином знижувала рівень МДА в 1,67 рази і ДК в 1,89 рази порівняно з контрольною групою і з тваринами, які отримували лікування раміприлом. За умов використання комбінації раміприлу із корвітином вірогідно зростала активність всіх ферментів антиоксидантного захисту СОД – в 1,14 рази, ГП – в 1,05 рази.

Зміни баланса ПОЛ – АОС у тканині печінки наведено у табл. 4.15.

Таблиця 4.15

Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту в печінці щурів лінії SHR та при лікуванні раміприлом і корвітином (M±m, n=8)

Стать щурів	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Дієнові кон'югати (нмоль/мг білка)	СОД, (од/хв·мг білка)	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
1	2	3	4	5	6
Інтактний контроль					
Самки	0,042±0,011	0,778±0,024	0,790±0,014	0,722±0,021	0,705±0,011
Самці	0,048±0,014	0,785±0,021	0,801±0,012	0,733±0,018	0,701±0,012
У печінці щурів лінії SHR					
Самки	0,131±0,07*	1,132±0,02*	0,501±0,018*	0,632±0,021 *	0,571±0,013 *
Самці	0,132±0,005 *	1,122±0,002*	0,505±0,012*	0,621±0,011 *	0,569±0,011*
У печінці щурів лінії SHR (раміприл)					
Самки	0,097±0,001 *	1,115±0,011 *	0,502±0,005*	0,626±0,028 *	0,549±0,024*
Самці	0,099±0,001 *	1,108±0,009 *	0,507±0,002 *	0,615±0,012 *	0,539±0,014*

Продовж. таблиці 4.15

1	2	3	4	5	6
У печінці щурів лінії SHR (раміприл+корвітин)					
Самки	0,075±0,001 */**/***	0,995±0,013 **/***	0,699± 0,024**/***	0,653±0,046 *	0,631± 0,002**/***
Самці	0,076±0,006 */**/***	0,996±0,011 **/***	0,698± 0,048 **/***	0,659±0,023 *	0,632±0,003* */***

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю, $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, $p \leq 0,05$.

*** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, що отримували монотерапію раміприлом, $p \leq 0,05$

Потужний оксидативний стрес, який верифіковано у тканині печінки за достовірним збільшенням продуктів ПОЛ – МДА та ТК, а також зменшенням ферментативної ланки АОЗ (СОД, ГП, каталаза) не піддається терапії раміприлом.

Застосування комбінації раміприлу із корвітином у гіпертензивних щурів, чинить потужний антиоксидантний вплив у плазмі крові та органах мішенях (міокард, нирки, печінка).

Підсумовуючи результати отриманих досліджень даного розділу, приходимо до таких висновків:

1. У спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR спостерігаються характерні розлади з боку систем згортання крові, а саме: визначається вірогідне збільшення концентрації фібриногену як у плазмі крові, так і в серцевому м’язі, порівняно зі щурами інтактної лінії. Рівень фібринстабілізуючого фактору та активність антитромбіну III вірогідно не відрізняється від такої, що визначається в інтактних щурів. Активність ПАП

вірогідно знижується у серцевому м’язі щурів лінії SHR порівняно з інтактними лабораторними тваринами. Застосування раміприлу у комбінації з корвітином нормалізує показники згортання крові та фібринолізу. Цей вплив реалізується за рахунок раміприлу.

2. Експериментальна АГ супроводжується розвитком потужного оксидативного стресу, який зафіксовано зі збільшенням МДА та ДК та зниженням активності СОД, ГП та каталази у плазмі крові, міокарді, нирках та печінці. Застосування раміприлу в комбінації з корвітином чинить виражений системний антиоксидантний захист та захист органів мішеней. Антиоксидантна дія комбінації реалізується виключно введенням до її складу корвітину.

3. Застосування раміприлу та раміприлу із корвітином за умов експериментальної АГ немає гендерних відмінностей.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1.Марущак А. В. Особливості змін показників фібринолізу та протеолізу у спонтанно-гіпертензивних щурів за умови лікування раміприлом. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2016. № 11 (3). С. 87-91.

2. Марущак А. В., Шоріков Є. І., Тимофійчук І. Р. Особливості впливу лікування раміприлом і кандесартаном коротко і довготривалої дії на показники рівня метаболітів монооксиду нітрогену у щурів серії SHR. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2017. № 12(2). С. 21-26.

РОЗДІЛ 5
ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНАЦІЇ КАНДЕСАРТАНУ ІЗ КОРВІТИНОМ НА ФІБРИНОЛІТИЧНИЙ ТА АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС ЩУРІВ ГІПЕРТЕНЗИВНОЇ ЛІНІЇ SHR ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ТА НЕТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ

Кандесартан – ЛП із групи БРА, які блокують ангіотензинові рецептори і послаблюють ефекти ангіотензину II незалежно від шляхів його утворення. Сприятливі фармакологічні ефекти БРА складаються з прямого блокуючого впливу на ангіотензинові 1-рецептори і непрямого стимулюючого впливу на ангіотензинові 2-рецептори (АТ2). Одним з ефектів стимуляції АТ2-рецепторів є активація кініногену, що сприяє утворенню брадикініну в судинній стінці, а отже, посиленню вивільнення оксиду азоту, простацикліну і ендотеліального фактору гіперполяризації, який має вазодилатуючі ефекти.

Перевага БРА перед іАПФ полягає в тому, що вони забезпечують більш повну і селективну блокаду РААС. Крім того, БРА сприяють реалізації захисних ефектів АТII за рахунок посилення наслідком його впливу - на АТ2-рецептори і не роблять безпосереднього впливу на калікреїн-кінінової систему, з активацією якої пов’язані основні побічні ефекти іАПФ - сухий кашель та ангіоневротичний набряк. До того з’являються дані щодо високої ефективності кандесартану у коморбідних хворих [137; 138; 139; 140].

Як було зазначено раніше, кандесартан як і раміприл, має майже рівноцінні призначення у медичній практиці, та займає суттєву частку призначень у терапії АГ взагалі. Також як і в раміприлу, у доступній літературі відсутні дані, щодо антиоксидантних властивостей кандесартану.

Доцільним, на наш погляд, було порівняти ефективність монотерапії кандесартаном із комбінацією кандесартану з корвітином за умов експериментальної АГ.

5.1 Дослідження впливу комбінації кандесартану із корвітином на показники згортання крові та ендотеліальний стан судин у гіпертензивних щурів

На першому етапі дослідження було вивчено вплив монотерапії кандесартана та комбінації його із корвітином на показник згортання крові у гіпертензивних щурів (рис.5.1).

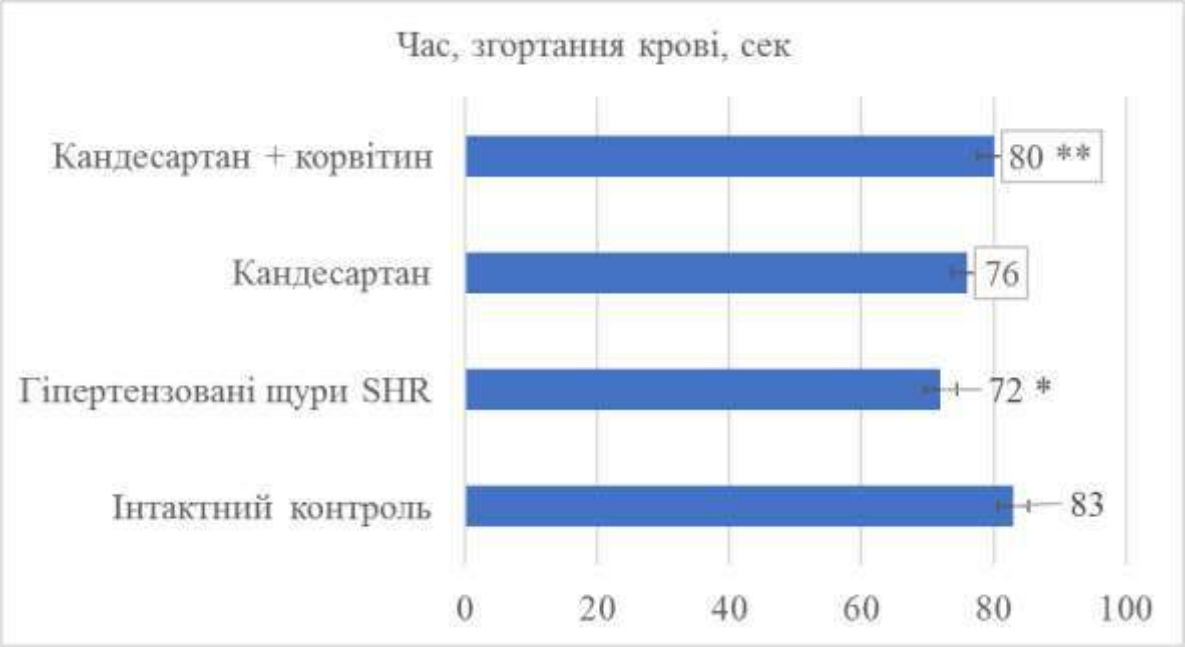

Рис. 5.1 Час згортання крові (сек) у гіпертензивних щурів, які отримували різні варіанти терапії

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів $p \leq 0,05$.

Як видно на рис. 5.1. у гіпертензивних щурів зареєстроване вірогідне збільшення часу згортання крові відносно групи інтактного контролю (рис. 5.1). Монотерапія кандесартаном незначно збільшує час згортання крові, але ці зміни не є статистично значущими. Комбінація кандесартану із корвітином, достовірно збільшує час згортання крові на 11% ($p \leq 0,05$) відносно групи гіпертензивних нелікованих щурів.

Отримані дані є підставою для більш глибокого вивчення впливу монотерапії кандесартаном та комбінації кандесартану із корвітином на систему згортання крові - фібриноліз.

Результати поглибленого вивчення із дослідженням фібриногену, фібринстабілізуючого фактору, антитромбіну III та потенційної активності плазміногену наведено у табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Зміни вмісту фібриногену, фібринстабілізуючого фактору, антитромбіну III та потенційної активності плазміногену в крові щурів серії SHR за комбінованого застосування кандесартану та корвітину

Умови досліду	Вміст фібриногену (г/л)	Рівень XIII фактору (%)	Рівень АТ III (%)	ПАП (хв.)
Інтактні щурі, n = 20	2,89 ± 0,64	86,7 ± 11,10	107 ± 7,0	16,30 ± 0,42
Щурі серії SHR n = 12	3,95 ± 0,56 *	96,3 ± 9,70	81 ± 5,1*	9,10 ± 0,23*
Щурі серії SHR + кандесартан, n = 12	3,28 ± 0,22	84,2 ± 9,30 **	107 ± 4,0 **	16,80 ± 0,13 **
Щурі серії SHR + кандесартан та корвітин, n = 12	3,08 ± 0,22 **	86,7 ± 11,10 **	108 ± 7,1 **	16,20 ± 0,14 **

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів $p \leq 0,05$.

Встановлено, що саме кандесартан, вірогідно знижує вміст фібриногену, фібринстабілізуючого фактору, нормалізує вміст антитромбіну III та потенційної активності плазміногену (ПАП) в крові щурів лінії SHR. Ведення у комбінацію корвітину має тенденцію до посилення відновлення зазначених показників до рівня інтактного контролю.

Корвітин покращує показники згортання системи крові при застосуванні із кандесартаном. Так, під час застосування кандесартану, активність ПАП зростала всього на 0,73%, а впродовж використання корвітину – на 0,67%,

проте у щурів серії SHR, які отримували кандесартан, отриманий результат був статистично вірогідним, що свідчило про суттєвий вплив даного препарату на стан фібринолітичної активності плазми.

Для подальшої оцінки стану системи фібринолізу та загального протеолізу було проведено вивчення фібринолітичної активності плазми у підгрупах інтактних щурів та спонтанно гіпертензивної лінії, а також порівняно зміни фібринолізу і протеолізу під впливом лікування кандесартаном та кандесартаном із корвітином. Результати наведено у таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Зміни фібринолітичної активності плазми крові щурів серії SHR за експериментального лікування кандесартаном та корвітином

Умови досліду	СФА, мкг азофібрину/мл за годину	НФА, мкг азофібрину/ мл за годину	ФФА, мкг азофібрину/ мл за годину
Інтактні щурі, n = 20	0,736 ± 0,067	0,338 ± 0,0204	0,398 ± 0,0557
Щурі серії SHR, n = 12	0,599 ± 0,022*	0,289 ± 0,0103*	0,289 ± 0,0135*
Щурі серії SHR, які отримували кандесартан, n = 12	0,665 ± 0,0223**	0,304 ± 0,0103*/**	0,303 ± 0,0135*/**
Щурі серії SHR, які отримували кандесартан та корвітин, n = 12	0,665 ± 0,0223	0,310 ± 0,0103*/**	0,312 ± 0,0135*/**

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів $p \leq 0,05$.

Доведено, зниження сумарної фібринолітичної активності (СФА), неферментативної фібринолітичної активності (НФА) та ферментативної фібринолітичної активності (ФФА) у гіпертензивних щурів. Застосування кандесартану та кандесартану із корвітином вірогідно відновлювало зазначені показники ($p < 0,05$).

Слід відмітити, що нормалізуючий вплив на фібрінолітичну активність відбувався за рахунок кандесартану.

Для подальшої оцінки стану системи фібринолізу та загального протеолізу нами було проведено вивчення фібринолітичної активності плазми у підгрупах щурів інтактних та щурів спонтанно гіпертензивної лінії, а також порівняно зміни фібринолізу і протеолізу під впливом лікування кандесартаном та кандесартаном із корвітином. Результати наведено у таблиці 5.3.

Таблиця 5.3

Зміни протеолітичної активності плазми крові щурів серії SHR при експериментальному лікуванні кандесартаном та корвітином

Умови досліду	Лізис низько-молекулярних білків, мкг азоальбуміну/ мл за годину	Лізис колагену, мкг азоколу/ мл за годину	Лізис високо-молекулярних білків, мкг азоказеїну/ мл за годину
Інтактні щурі, n = 20	3,04 ± 0,0831	0,274 ± 0,0506	2,60 ± 0,1209
Щурі серії SHR n = 12	2,83 ± 0,0282*	0,228 ± 0,0224*	2,21 ± 0,102*
Щурі серії SHR, які отримували кандесартан, n = 12	2,86 ± 0,0585	0,266 ± 0,0240**	2,41 ± 0,088**
Щурі серії SHR, які отримували кандесартан та корвітин, n = 12	2,94 ± 0,0585**	0,272 ± 0,0240**	2,53 ± 0,088**

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів $p \leq 0,05$.

Встановлено, що у тварин з артеріальною гіпертензією спостерігаються зміни фібринолітичних властивостей плазми, що може свідчити про зменшення інтенсивності розпаду високомолекулярних комплексів і про збільшення вмісту

високомолекулярних антипротеаз.

Оцінюючи лізис низькомолекулярних білків у крові, було встановлено зменшення їх лізису порівняно з контролем, причому лізис високомолекулярних білків було знижено на 15% порівняно з контролем, лізис колагену був зниженим на 7% , лізис низько-молекулярних білків було знижено на 7% порівняно з групою контрольної патології.

Призначення експериментального лікування із використанням корвітину в комбінації з кандесартаном призвело до змін активності процесів протеолізу вже впродовж нетривалого застосування цих препаратів. У групах де було використання кандесартану та кандесартану в комбінації з корвітином виявлено підвищення активності колагенового лізису ($p < 0,05$) та лізису як високо-, так і низькомолекулярних протеїнів.

У щурів лінії SHR спостерігаються зміни системного та місцевого фібринолізу і протеолізу, що може бути наслідком активації пристосувальних реакцій. Застосування кандесартану в комбінації з корвітином призвело до активації протеолітичної активності.

Важливим було також дослідити зміни високомолекулярного кініногену (ВМК), який збільшується у гіпертензивних щурів, як було наведено у табл. 4.4. розділу 4. Щодо впливу на ВМК кандесартану, результати наведено у табл. 5.4-5.6.

Таблиця 5.4

Зміни вмісту високомолекулярного кініногену у крові інтактних щурів та щурів лінії SHR під впливом кандесартану

Показники	Вихідний рівень	Нетривале застосування	Тривале застосування
Високомолекулярний кініноген (мкг/мл)	0,515 ± 0,156	0,498 ± 0,140	0,493 ± 0,142
ANOVA Fridman $\chi 2 = 24,96$; $p < 0,001$.			

Отже, кандесартан викликав вірогідне зниження рівня ВМК впродовж нетривалого лікування (табл. 5.4).

Таблиця 5.5

Зміни вмісту високомолекулярного кініногену під впливом нетривалого лікування кандесартаном

Високомолекулярний кініноген: вихідний рівень проти підгрупи лікування (критерій Вілкоксона)	T = 31,000	Z = 2,58	p = 0,01
Високомолекулярний кініноген: вихідний рівень проти підгрупи лікування (критерій знаків)	Процент v < V 10,52	Z = 3,21	p = 0,0013

Проте порівнюючи кінцеві результати дослідження рівня ВМК доходимо висновку, що раміприл (результати, що представлені у розділі 4) на противагу кандесартану під час нетривалого лікування значно більше знижує вміст ВМК у підгрупі тварин, які отримували саме раміприл, але різниця між прикінцевими показниками була невірогідною (p = 0, 25 за критерієм Уелша).

Таблиця 5.6

Зміни вмісту вискомолекулярного кініногену під впливом тривалого лікування кандесартаном порівняно з нетривалим

Високомолекулярний кініноген нетривале лікування проти тривалого лікування (критерій Вілкоксона)	T = 61,000	Z = 1,64	p = 0,103
Високомолекулярний кініноген нетривале лікування проти тривалого лікування (критерій знаків)	Процент v < V 25,00	Z = 2,02	p = 0,044

Порівнюючи нетривале лікування на противагу тривалому встановили: за критерієм Вілкоксона зміни під впливом нетривалого лікування є невірогідними, проте аналіз за критерієм знаків свідчить про те, що зниження ВМК у спонтанно гіпертензивних щурів продовжується і за умов тривалого застосування даного препарату. Рівень зниження ВМК під впливом тривалого застосування раміприлу є відчутним, порівняно із застосуванням кандесартану, проте і в цьому випадку різниця між досягнутими рівнями ВМК є невірогідною (p = 0, 19 за критерієм Уелша).

Таким чином, як раміприл, так і кандесартан мають виражену здатність змінювати вміст ВМК у плазмі щурів як під час тривалого, так і нетривалого лікування із відсутньою перевагою у величині ефекту на користь будь-якого засобу.

Вплив монотерапії кандесартаном із комбінацією кандесартану із корвітином за умов експериментальної АГ на систему синтезу важливого ендотеліального фактору – оксиду азоту (NO), верифікованих за зміною вмісту рівня метаболітів NO наведено у табл 5.7.

Таблиця 5.7

Зміни вмісту метаболітів монооксиду нітрогену плазми крові щурів серії SHR при експериментальному лікуванні кандесартаном з корвітином за нетривалого та тривалого застосування

Групи тварин	Рівень метаболітів NO мкмоль/л.n = 12 (нетривала дія)		Рівень метаболітів NO мкмоль/л.n = 12 (тривала дія)	
	Самці	Самки	Самці	Самки
Щурі серії SHR	11,8 ± 0,045	10,94 ± 0,032	11,8 ± 0,045	11,94 ± 0,032
Інтактні щурі, n = 20	6,23 ± 0,012*	6,29 ± 0,009*	6,23 ± 0,012*	6,29 ± 0,009*
Щурі серії SHR, які отримували кандесартан + корвітин, n=12	8,45 ± 0,04 **	8,55 ± 0,07**	11,53 ± 0,03**/***	11,76 ± 0,05**/***

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів $p \leq 0,05$.

*** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, що отримували нетривале введення кандесартан + корвітин $p \leq 0,05$

У гіпертензивних щурів, як у самок так і в самців, вірогідно знизився рівень метаболітів NO, у 1,7 рази ($p \leq 0,05$) у самок та у 1,9 разів ($p \leq 0,05$) у

самців, що підтверджує дані літератури, шо у патогенезі АГ значну роль відіграє зниження ендотеліального NO.

Застосування кандесартану із корвітином викликало вірогідне зростання рівнів NO. Так, у щурів серії SHR (табл. 5.7), які отримували лікування, рівень метаболітів NO збільшився на 35% при лікуванні протягом 7 днів, а при тривалому лікуванні на 87% і досягав рівня показників інтактних тварин.

Слід зазначити, що максимально ефективним є тривале застосування комбінації кандесартану та корвітину.

У щурів лінії SHR спостерігаються зростання рівня метаболітів монооксиду нітрогену як при лікуванні раміприлом в комбінації з корвітином так і кандесартаном з корвітином.

5.2 Вивчення дії комбінації раміприлу з корвітином на баланс ПОЛ – АОС у гіпертензивних щурів

Важливим фармакологічним аспектом нової комбінації кандесартану та корвітину є наявність вираженного антиоксидантного ефекту за умов відтворення експериментальної АГ. Доцільно було в першу чергу дослідити чи є вплив на систему ПОЛ – АОС при монотерапії кандесартаном.

Результати аналізу змін параметрів вільнорадикального окислення ліпідів та протирадикального захисту у різних органах та системах щурів лінії SHR під впливом блокатору ангіотензинових рецепторів кандесартану представлено у таблицях 5.8 – 5.16.

Упродовж дослідження змін параметрів ПОЛ під впливом кандесартану у плазмі крові (табл. 5.8) доходимо висновків, що вони відповідали характеру впливу раміприлу на ці ж величини (розділ 4.). Так, під впливом кандесартану вірогідно зростав рівень лише ГВ у плазмі крові. Вміст МДА у плазмі щурів хоч і зменшувався, проте дана тенденція не мала вірогідного характеру. Активність протиоксидантних ферментів також практично не відрізнялась від

вихідного рівня, хоча активність каталази у самців та самок щурів мала напрямок до підвищення активності ($p > 0,05$) (табл. 5.8).

Таблиця 5.8

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність захисних протирадикальних систем у плазмі крові щурів лінії SHR після нетривалого застосування кандесартану

Показники	Плазма крові щурів лінії SHR (20 тварин)		Плазма крові щурів лінії SHR через 8 діб після введення кандесартану (10 тварин)	
	Самка	Самець	Самка	Самець
Малоновий діальдегід (ммоль/л)	0,052 ± 0,014	0,059 ± 0,012	0,039 ± 0,019 $p_1 > 0,05$	0,044 ± 0,016 $p_2 > 0,05$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,062 ± 0,005	0,071 ± 0,004	0,81 ± 0,006 $p_1 = 0,002$	0,088 ± 0,008 $p_2 = 0,008$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,715 ± 0,024	0,728 ± 0,048	0,695 ± 0,035 $p_1 > 0,05$	0,685 ± 0,024 $p_2 > 0,05$
Каталаза (ммоль/л)	0,409 ± 0,012	0,410 ± 0,012	0,423 ± 0,014 $p_1 > 0,05$	0,442 ± 0,036 $p_2 > 0,05$

Примітки:

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок щурів SHR після введення кандесартану;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців щурів SHR після введення кандесартану.

Вплив кандесартану на реакції пероксидного окислення ліпідів у серцевому м’язі щурів лінії SHR мав певні особливості: зафіксовано вірогідне зниження вмісту МДА як у самців, так і в самок, що супроводжувалось одночасним зростанням концентрації ГВ у серцевому м’язі ($p = 0,007$ для змін у

самок та 0,022 для змін у самців) (табл. 5.9). Крім того, також спостерігалась достатньо виражена тенденція до зниження активності ГП (у самок вірогідна – p = 0,014; проте у самців невірогідні зміни – p = 0,11). Дані зміни з боку МДА, ГВ та ГП супроводжувались незначними зрушеннями у бік зниження активності ферменту каталази (p > 0,05).

Таблиця 5.9

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність захисних протирадикальних систем у серцевому м'язі щурів лінії SHR після короткотривалого застосування кандесартану

Показники	Серцевий м'яз щурів лінії SHR (20 тварин)		Серцевий м'яз щурів лінії SHR через 8 діб після введення кандесартану (10 тварин)	
	Самка	Самець	Самка	Самець
Малоновий діальдегід (ммоль/л)	0,066 ± 0,004	0,071 ± 0,009	0,029 ± 0,001 $p_1 < 0,001$	0,032 ± 0,001 $p_2 = 0,005$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,61 ± 0,07	0,74 ± 0,04	0,82 ± 0,004 $p_1 = 0,007$	0,84 ± 0,002 $p_2 = 0,022$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,735 ± 0,023	0,733 ± 0,037	0,662 ± 0,05 $p_1 = 0,014$	0,667 ± 0,05 $p_2 = 0,11$
Каталаза (ммоль/л)	0,436 ± 0,032	0,453 ± 0,023	0,414 ± 0,02 $p_1 > 0,05$	0,418 ± 0,02 $p_2 > 0,05$

Примітки:

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок щурів SHR після введення кандесартану;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців щурів SHR після введення кандесартану.

В печінковій паренхімі під впливом кандесартану рівень МА продовжував знижуватися, проте наведена тенденція була невірогідною (табл. 5.10).

Таблиця 5.10

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність захисних протирадикальних систем у печінковій тканині щурів лінії SHR після коротривалого застосування кандесартану

Показники	Печінкова тканина щурів лінії SHR (20 тварин)		Печінкова тканина щурів лінії SHR через 8 діб після введення кандесартану (10 тварин)	
	Самка	Самець	Самка	Самець
Малоновий діальдегід (ммоль/л)	0,131 ± 0,07	0,132 ± 0,03	0,087 ± 0,001 $p_1 > 0,05$	0,089 ± 0,004 $p_2 > 0,05$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,47 ± 0,012	0,46 ± 0,012	0,64 ± 0,012 $p_1 < 0,05$	0,62 ± 0,012 $p_2 < 0,05$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,636 ± 0,018	0,638 ± 0,014	0,617 ± 0,007 $p_1 > 0,05$	0,614 ± 0,017 $p_2 > 0,05$
Каталаза (ммоль/л)	0,591 ± 0,01	0,597 ± 0,01	0,538 ± 0,018 $p_1 < 0,05$	0,571 ± 0,018 $p_2 < 0,05$

Примітки:

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок щурів SHR після введення кандесартану;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців щурів SHR після введення кандесартану.

Рівень ГВ, навпаки, вірогідно збільшувався ($p < 0,05$) на тлі незначних тенденцій до зниження активності ГП у самців та самок ($p > 0,05$ у обох випадках.) та вірогідного послаблення дії каталази у печінковій паренхімі (9,1% у самок та 5,4% відповідно) (табл. 5.10).

У нирковій тканині під впливом кандесартану також спостерігалось зниження активності каталази (табл. 5.11).

Таблиця 5.11

Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та активність захисних протирадикальних систем у нирках щурів лінії SHR після короткотривалого застосування кандесартану

Показники	Ниркова тканина щурів лінії SHR (20 тварин)		Ниркова тканина щурів лінії SHR через 8 діб після введення кандесартану (10 тварин)	
	Самка	Самець	Самка	Самець
Малоновий діальдегід (ммоль/л)	0,215 ± 0,023	0,218 ± 0,038	0,143 ± 0,14 $p_1 > 0,05$	0,144 ± 0,14 $p_2 = > 0,05$
Глутатіон відновлений (ммоль/л)	0,18 ± 0,011	0,19 ± 0,013	0,43 ± 0,012 $p_1 < 0,001$	0,45 ± 0,012 $p_2 < 0,001$
Глутатіонпероксидаза (ммоль/л)	0,565 ± 0,024	0,572 ± 0,028	0,535 ± 0,024 $p_1 > 0,05$	0,539 ± 0,024 $p_2 = > 0,05$
Каталаза (ммоль/л)	0,489 ± 0,012	0,491 ± 0,018	0,406 ± 0,012 $p_1 < 0,001$	0,405 ± 0,012 $p_2 = 0,002$

Примітки:

p_1 – оцінка вірогідності різниці показників у самок щурів SHR після введення кандесартану;

p_2 – оцінка вірогідності різниці показників у самців щурів SHR після введення кандесартану.

На відміну від інших впливів на стан каталази та порівняно зі змінами активності каталази у інших тканинах щурів, ступінь зниження активності каталази під впливом препарату сягнув найбільших рівнів (17,5% зниження від рівня вихідної активності у самок та відповідно 18,6% у самців, $p < 0,001$ та $p = 0,002$) (табл. 5.11).

Одночасно спостерігалось нарощування концентрації ГВ, концентрація якого також порівняно з іншими локалізаціями сягала чи не найбільшого відносного рівня ($p < 0,001$ для самців та самок щурів гіпертензивної лінії). На тлі таких змін виявляли стійку тенденцію до зниження вмісту МДА у паренхімі нирок ($p > 0,05$) та активності ферменту глутатіонпероксидази ($p > 0,05$) (табл. 5.11).

Коротко резюмуючи результати дослідження перекисного окислення ліпідів і стану деяких захисних протирадикальних систем та медикаментозного впливу на їх зміни встановлено, що:

– в організмі спонтанно-гіпертензивних щурів спостерігається інтенсифікація процесів ВРОЛ, що виявляється вірогідним підвищенням рівня МДА у плазмі крові, серцевому м’язі, нирковій тканині, але не у печінковій паренхімі щурів лінії SHR порівняно зі щурами інтактної лінії;

– інтенсифікація ПОЛ у органах щурів лінії SHR супроводжується дисбалансом у системах протирадикального захисту, який виявляється у вірогідному зниженні концентрації ГВ у плазмі крові, серцевому м’язі, нирках, печінці щурів досліджуваної лінії. Зниження рівня ГВ не супроводжується вірогідною активацією глутатіонпероксидази (за винятком ниркової тканини) та активації каталази (за винятком ниркової тканини); у щурів лінії SHR не існує вірогідних статевих відмінностей у ступеню інтенсифікації процесів ПОЛ та вмісту ГВ, активності ГП та К;

– у щурів лінії SHR спостерігаються реґіонарні особливості інтенсифікації процесів ПОЛ: рівень МДА наростає у напрямку «плазма < серцевий м’яз < печінка < нирки» із вірогідною різницею щодо кожного регіону. Рівень ГВ

знижується у такому ж напрямку, демонструючи невірогідну різницю між вмістом у серцевому м’язі та плазмі;

– особливістю реґіонарної активації ГП є значне підвищення лише у нирковій паренхімі щурів, у інших органах напрямок змін є протилежним залежно від статі – у самців переважає активація, у самок – зниження активності, хоча дана різниця є невірогідною;

– напрямки змін активності каталази є протилежними залежно від реґіонарних особливостей: тенденція до зниження активності у крові та серцевому м’язі незалежно від статі та підвищення активності у нирковій тканині.

Наступною метою нашого дослідження стала оцінка ступеня змін досліджених вище параметрів гемостазу щурів спонтанно гіпертензивної лінії під час використання кандесартану та його комбінацій з корвітином.

Вплив на баланс ПОЛ-АОС у гомогенаті міокарда наведено у табл. 5.12.

Таблиця 5.12

Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту в серці щурів лінії SHR та при лікуванні раміприлом, кандесартаном і корвітином (M±m, n=8)

Стать щурів	Малоновий діальдегід ммоль/л	Дієнові кон’югати (нмоль/мг білка)	Супероксид дисмутаза (од/хв·мг білка)	Глутатіон-пероксидаза ммоль/л	Каталаза ммоль/л
1	2	3	4	5	6
Інтактні щурі					
Самки	0,030±0,003	0,398±0,012	0,810±0,007	0,940±0,018	0,625±0,004
Самці	0,035±0,002	0,390±0,021	0,800±0,006	0,960±0,012	0,615±0,007
У серці щурів лінії SHR					
Самки	0,056±0,004 *	0,814±0,023 *	0,445±0,005 *	0,722±0,021 *	0,509±0,002 *
Самці	0,055±0,002 *	0,810±0,021 *	0,439±0,001*	0,725±0,011 *	0,510±0,003 *

Продовж. таблиці 5.12

1	2	3	4	5	6
У серці щурів лінії SHR (кандесартан)					
Самки	0,029±0,001 **	0,431±0,017 **	0,662±0,05	0,662±0,012 */**	0,414±0,009 */**
Самки	0,029±0,001 **	0,431±0,017 **	0,662±0,05	0,662±0,012 */**	0,414±0,009 */**
Самці	0,032±0,001 **	0,410±0,011 **	0,667±0,05*	0,664±0,011 */**	0,418±0,002 */**
У серці щурів лінії SHR (кандесартан+корвітин)					
Самки	0,019±0,001 **/***	0,418±0,017 **	0,817±0,014* */***	0,887±0,012 **/***	0,599±0,004 **/***
Самці	0,022±0,001 **/***	0,427±0,011 **	0,829±0,027* */***	0,899±0,016 **/***	0,591±0,009 **/***

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю, $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, $p \leq 0,05$.

*** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, що отримували монотерапію кандесартаном, $p \leq 0,05$

Вплив на баланс ПОЛ-АОС у гомогенаті міокарда наведено у табл. 5.13., у гомогенаті печінки наведено у табл.5.14.

Таблиця 5.13

Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту в нирках лінії SHR та при лікуванні кандесартаном і корвітином (M±m, n=8)

Стать щу-рів	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Дієнові кон'югати (нмоль/мг білка)	СОД, (од/хв·мг білка)	Глутатіонпер оксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
1	2	3	4	5	6
Інтактні щурі					
Самки	0,089±0,004	0,840±0,014	0,800±0,009	0,690±0,013	0,553±0,01
Самці	0,091±0,008	0,810±0,011	0,790±0,007	0,680±0,017	0,545±0,02

Продовж. таблиці 5.13

1	2	3	4	5	6
У нирках щурів лінії SHR					
Самки	0,216±0,008 *	1,670±0,02*	0,545± 0,005*	0,562± 0,021*	0,489± 0,012*
Самці	0,215±0,011 *	1,678±0,021 *	0,539± 0,001*	0,568± 0,011*	0,491± 0,013*
У нирках щурів лінії SHR (кандесартан)					
Самки	0,149±0,002 */**	1,031±0,014 */**	0,690±0,035 * /**	0,535± 0,014 *	0,406± 0,011*/**
Самці	0,145±0,001 */**	1,030±0,012 */**	0,8698± 0,025*/**	0,539± 0,012*	0,405± 0,012*/**
У нирках щурів лінії SHR (кандесартан+корвітин)					
Самки	0,098±0,004 **/ ***	0,931±0,017 **/ ***	0,789±0,014 **/ ***	0,690± 0,012 **/ ***	0,512± 0,011 **/ ***
Самці	0,093±0,007 **/ ***	0,920±0,011 **/ ***	0,791±0,027 * **/ ***	0,678± 0,015 **/ ***	0,513±0,009 **/ ***

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю, $p \leq 0,05$;

** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, $p \leq 0,05$.

*** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, що отримували монотерапію кандесартаном, $p \leq 0,05$.

Аналогічні зміни зафіксовані у гомогенаті нирок (табл. 5.13) та у гомогенаті печінки (табл. 5.14) гіпертензивних щурів, які отримували монотерапію кандесартану та комбінацію кандесартану із корвітином.

Лікування кандесартаном знижувало рівень окисних продуктів МДА в 1,45 і ДК в 1,67 рази. Зростала активність СОД в 1,26 рази у той час як активність ГПО і каталази значно знижувалася.

При комбінованій терапії кандесартаном і корвітином значно знижувався рівень МДА в 2,2, і в 1,79 рази рівень ДК (таб. 5.13).

Таблиця 5.14

Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту в печінці лінії SHR та при лікуванні кандесартаном і корвітином (M±m, n=8)

Стать щу-рів	Малоновий діальдегід, ммоль/л	Дієнові кон'югати (нмоль/мг білка)	СОД (од/хв·мг білка)	Глутатіонпероксидаза, ммоль/л	Каталаза, ммоль/л
Інтактні щурі					
Самки	0,042±0,011	0,778±0,024	0,790±0,014	0,722±0,021	0,705±0,011
Самці	0,048±0,014	0,785±0,021	0,801±0,012	0,733±0,018	0,701±0,012
У печінці щурів лінії SHR					
Самки	0,131±0,07 *	1,132±0,02*	0,501±0,018 *	0,632±0,021*	0,571±0,01*
Самці	0,132±0,005 *	1,122±0,002*	0,505±0,012 *	0,621±0,011*	0,569±0,001 *
У печінці щурів лінії SHR (кандесартан)					
Самки	0,086±0,004 *	0,987±0,001*	0,514±0,007 *	0,617±0,014*	0,536±0,018 *
Самці	0,087±0,002 *	0,999±0,004*	0,512±0,009 *	0,620±0,011*	0,539±0,014 *
У печінці щурів лінії SHR (кандесартан+корвітин)					
Самки	0,042±0,001 **/***	0,862±0,001 **/***	0,792±0,014 **/***	0,717±0,007** */***	0,698±0,012 **/***
Самці	0,044±0,002 **/***	0,869±0,002 **/***	0,772±0,011 **/***	0,705±0,009** */***	0,696± 0,014**/***

Примітки:

* статистично значуща різниця із групою інтактного контролю, $p \leq 0,05$.

** татистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, $p \leq 0,05$.

*** статистично значуща різниця із групою гіпертензивних щурів, що отримували монотерапію кандесартаном, $p \leq 0,05$.

Значно зростав рівень всіх антиоксидантних ферментів СОД в 1,4 рази, ГПО в 1,22 і каталази в 1,1, порівняно з групою контролю і з групою тварин, які лікувались лише кандесартаном (таб. 5.13).

Монотерапія кандесартаном, сприяла зниженню МДА у гомогенаті печінки гіпертензивних щурів (табл.5.14), рівень ДК знижувався в 1,14 рази при незмінній або зниженій активності антиоксидантних ферментів. Комбінована терапія кандесартаном і корвітином чинила потужний вплив на баланс ПОЛ-АОС, знижувала МДА в 1,72 і ДК в 1,89 рази порівняно з групою контрольних тварин, активність СОД, ГПО і каталази зростала в 1,13, 1,14, 1,12 рази, відповідно (табл. 5.14).

Підсумовуючи результати отриманих досліджень даного розділу, приходимо до таких висновків:

1. У щурів лінії SHR зареєстровані патологічні зміни у системі «згортання крові-фібриноліз» у бік тромбоутворення. Застосування кандесартану в комбінації з корвітином, чинило вплив на показники згортання крові та фібринолізу суто за рахунок фармакологічної дії кандесартану. Застосування кандесартану із корвітином викликало вірогідне зростання рівнів NO. Позитивний вплив комбінації на ендотеліальну функцію зростає при збільшенні тривалості застосування. У щурів серії SHR, які отримували лікування, рівень метаболітів NO збільшився на 35% при лікуванні протягом 7 днів, а при тривалому лікуванні на 87% і досягав рівня показників інтакту.

2. За рахунок введення корвітину у комбінацію кандесартану та корвітину, відбувається значний антиоксидантний вплив на показники ПОЛ (МДА, ДК) та АОС (СОД, ГП, каталаза) у плазмі крові та органах мішенях (міокард, нирки, печінка). Системний антиоксидантний вплив комбінації кандесартану та корвітину нівелює оксидативний стрес, який є вагомим фактором патогенезу АГ.

3. Застосування кандесартану та кандесартану із корвітином за умов експериментальної АГ немає гендерних відмінностей.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Марущак А. В. Особливості змін показників фібринолізу та протеолізу у спонтанно-гіпертензивних щурів за умови лікування раміприлом. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2016. № 11(3). С. 87-91.

2. Maruschak A. V., Shorikova D. V., Shorikov E.I., Tymofiychuk I.R. Features changes parameters fibrinolysis and proteolysis in spontaneously hypertensive rats, if treatment Ramipril. *The unity of science*: *International scientific periodical journal*. 2017. № 1. P. 116-8.

РОЗДІЛ 6.
ГІСТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ НОВИХ КОМБІНАЦІЙ РАМІПРИЛУ ІЗ КОРВІТИНОМ ТА КАНДЕСАРТАНУ ІЗ КОРВІТИНОМ НА ОРГАНИ МІШЕНІ ЩУРІВ ГІПЕРТЕНЗИВНОЇ ЛІНІЇ SHR

В основі патогенезу серцевої недостатності на тлі гіпертонії лежить пошкодження клітинних мембран, яке пов’язане з утворенням активних форм кисню (АФК), активацією перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), активацією патологічних цитокінів, порушенням функції ендотелію та апоптозом кардіоміоцитів. Важливою ланкою в розвитку патологічного процесу є активація ліпооксигеназ і порушення синтезу оксиду азоту, що супроводжується посиленням продукції АФК, особливо пероксинітриту. В залежності від стадії гіпертонічної хвороби, розвивається цілий каскад патоморфологічних змін з гіпертрофією м’язового шару і еластичних структур. Клітини печінки також чутливі до розвитку окисного стресу, що обумовлено їх біохімічними і фізіологічними властивостями: висока енергетична активність і швидке виснаження системи антиоксидантного захисту (АОЗ). Нирки відіграють провідну роль в регуляції артеріального тиску за рахунок екскреції води і натрія, секреції реніну, простагландинів. Тривала гіпертензія супроводжується звуженням приносної артеріоли, посиленням процесів реабсорбції води в дистальних канальцях нирок.

Для оцінки морфологічних змін серця, нирок, печінки використовували заморожені поперечні зрізи товщиною 10 мкм, які зафарбовували за методом Рамоновского-Гімзе із застосуванням гемотаксилі-еозину. Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлооптичного мікроскопа Біолам Ломо С 11, оцінюючи вигляд та розміри клітин, інтенсивність зафарбовування, форму і структуру ядра, цитолеми і клітинних органел.

В експериментальній підгрупі тварин лінії SHR, що отримувала монотерапію раміприлу та кандесартану, в нирках відмічається атрофія 8,4 ±

0,14% ниркових клубочків, яка проявляється зменшенням їх розмірів за рахунок зменшення числа клітин та їх більш щільного розташування (рис.6.2). Проте у інших клубочках (21,3 ± 0,19%) виявлено гіпертрофію різного ступеня вираженості: збільшено розміри клубочків та зростає число клітин в них (рис. 6.2). Спостерігається 24,2 ± 0,22% лейоміоцитів з ознаками гідропічної вакуолізації (вакуольна дистрофія).

Дещо змінена гістоструктура у кірковій речовині нирок щурів при використанні монотерапії раміприлу та кандесартану (рис. 6.3, 6.4). Проте, вірогідною причиною покращання гістологічних особливостей у зразках є застосування саме комбінації раміприлу з корвітином та кандесартану з корвітином, де чітко видно, що розміри клубочків нирок істотно змінилися відносно рівня інтактного контролю (рис. 6.5, 6.6).

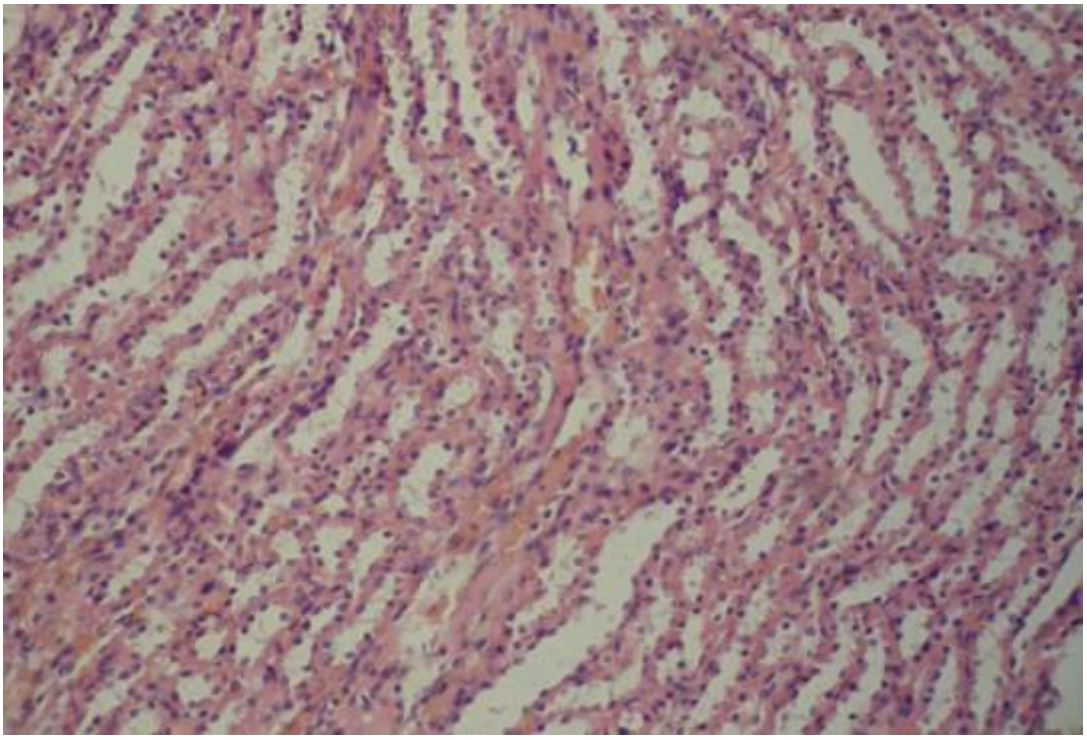

Рис. 6.1 Кіркова речовина нирки щура інтактної групи. Гематоксилін-еозин. Об.10^{x}, Ок.10^{x}.

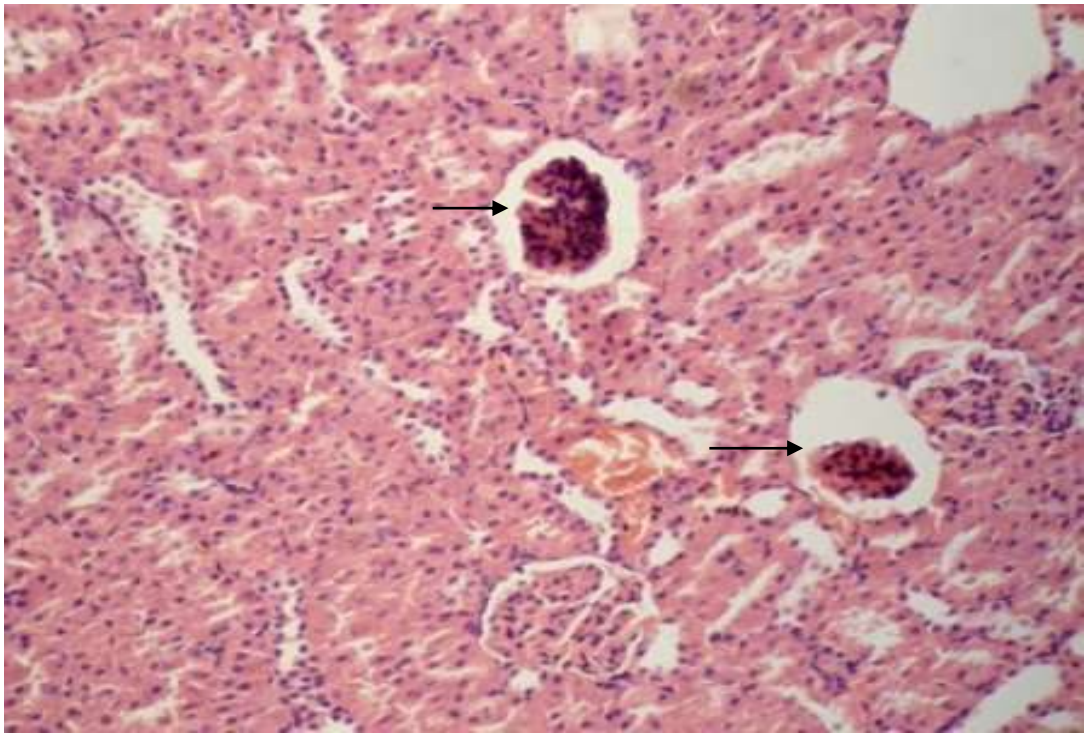

Рис. 6.2 Кіркова речовина нирки щура експериментальної групи SHR. Ділянка вираженої атрофії та гіпертрофії клубочків нирок. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

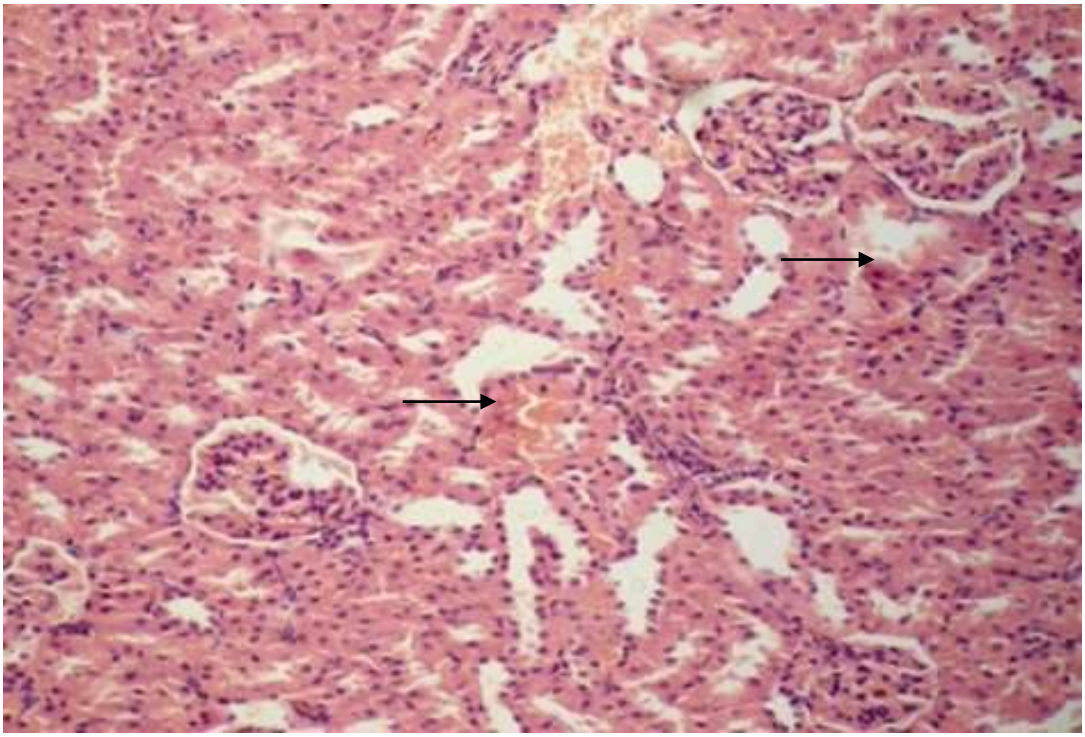

Рис. 6.3 Кіркова речовина нирки щура експериментальної групи SHR, що отримував раміприл. Ділянка атрофованих клубочків. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

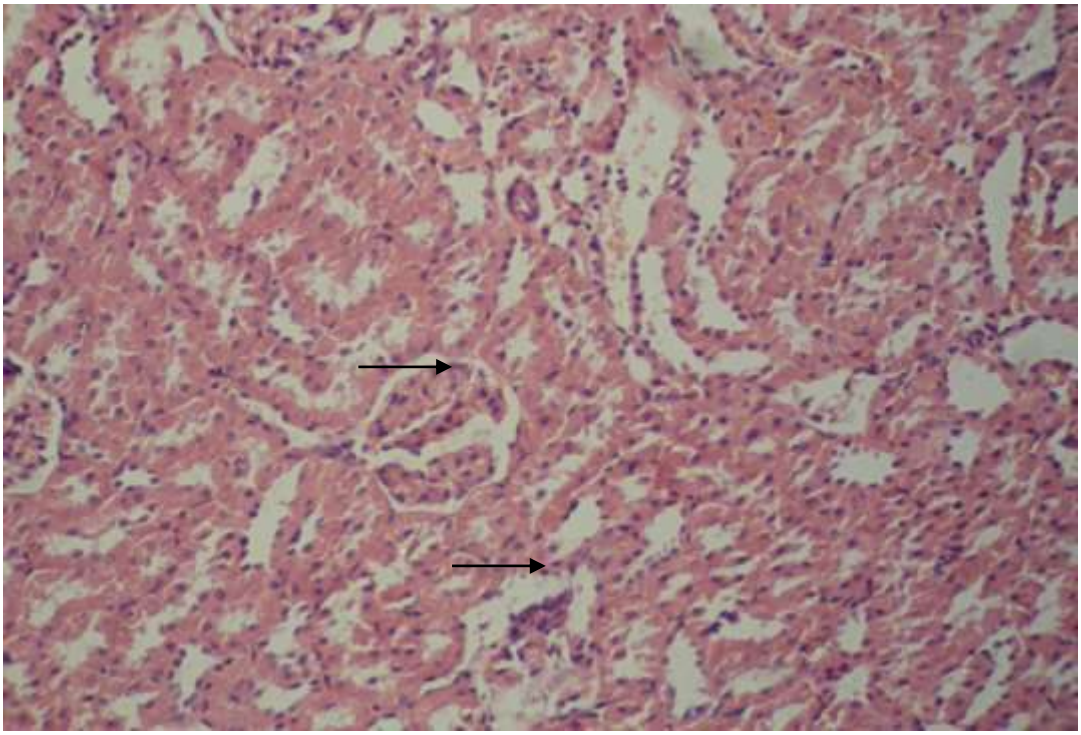

Рис. 6.4 Кіркова речовина нирки щура експериментальної групи SHR, що отримував кандесартан. Ділянка гіпертрофованих клубочків. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

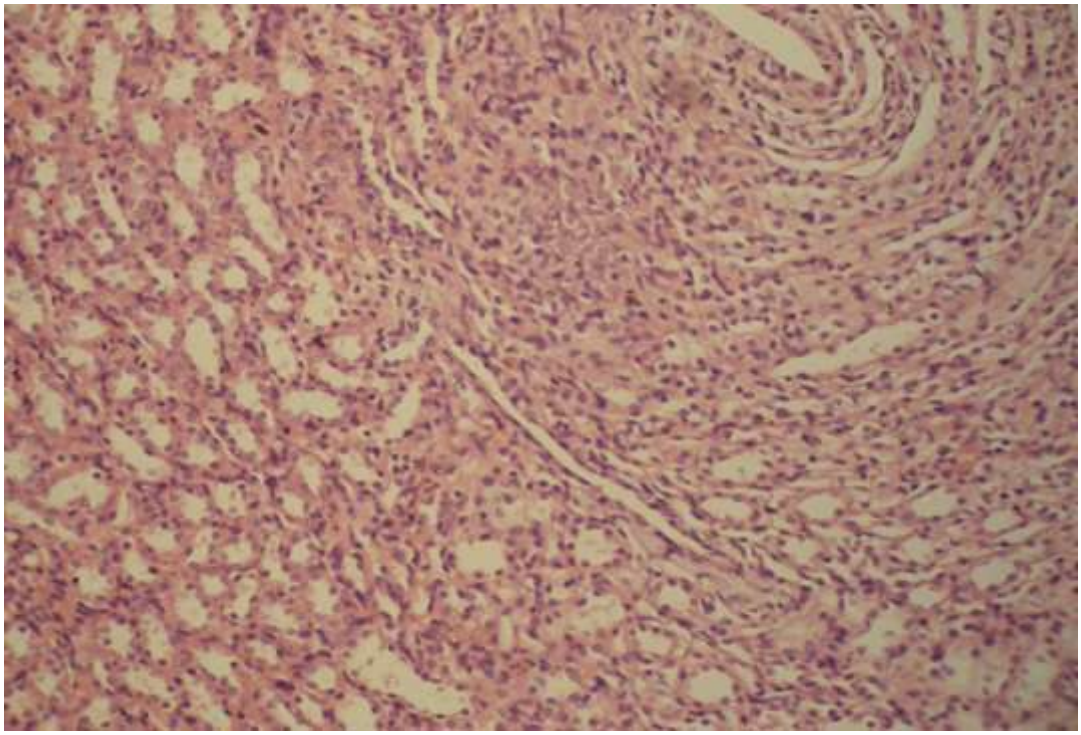

Рис. 6.5 Кіркова речовина нирки щура експериментальної групи SHR, що отримував комбінацію раміприлу з корвітином. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

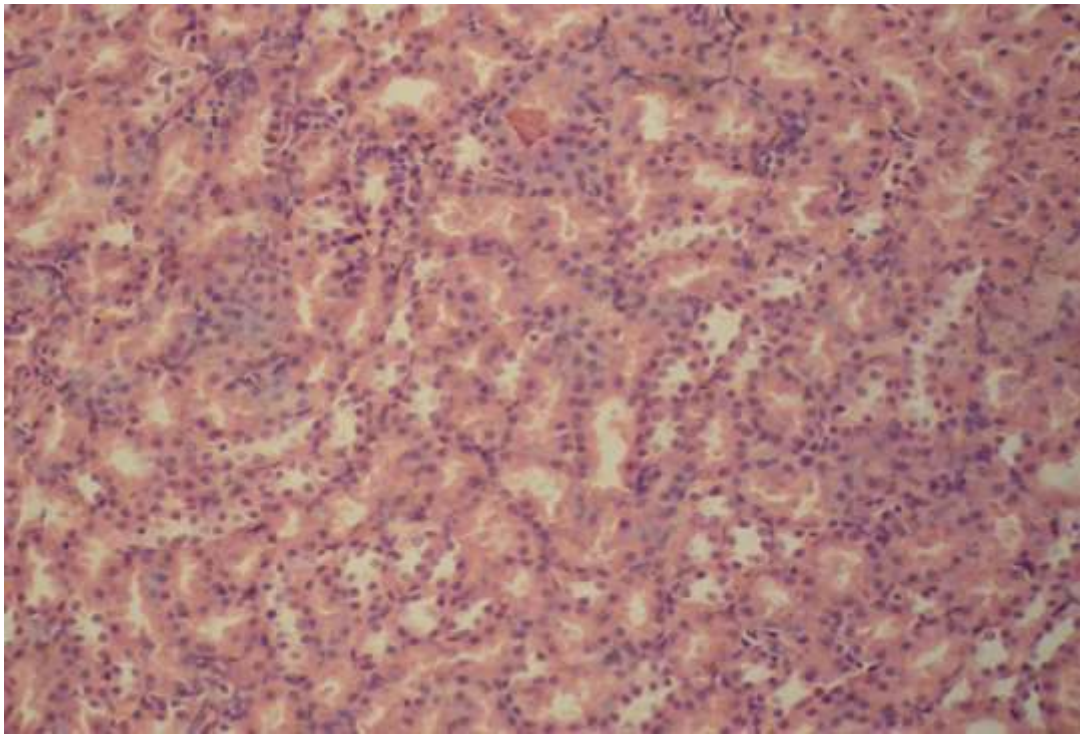

Рис. 6.6 Кіркова речовина нирки щура експериментальної групи SHR, що отримував комбінацію кандесартану з корвітином. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

Характерні для спонтанно-гіпертензивних щурів зміни виявлені також у міокарді шлуночків, на відміну від інтактних тварин (рис. 6.7, 6.8). Визначається гіпертрофія стінок лівого шлуночка серця та особливо міжшлуночкової перетинки із збільшенням розмірів кардіоміоцитів та деформацією пучків м’язових волокон. У 14,1 ± 0,19 % кардіоміоцитів спостерігається помітне гідропічне набухання (зерниста дистрофія), а в 5,3 ± 0,12 % – базофільна дегенерація (рис.6.8).

Гістоструктура серцевого м’язу змінена при використанні раміприлу та кандесартану (рис. 6.9, 6.10). Проте, вірогідне покращання гістологічних особливостей у зразках спостерігалося саме за використання комбінації раміприлу з корвітином та кандесартану з корвітином (рис. 6.11, 6.12).

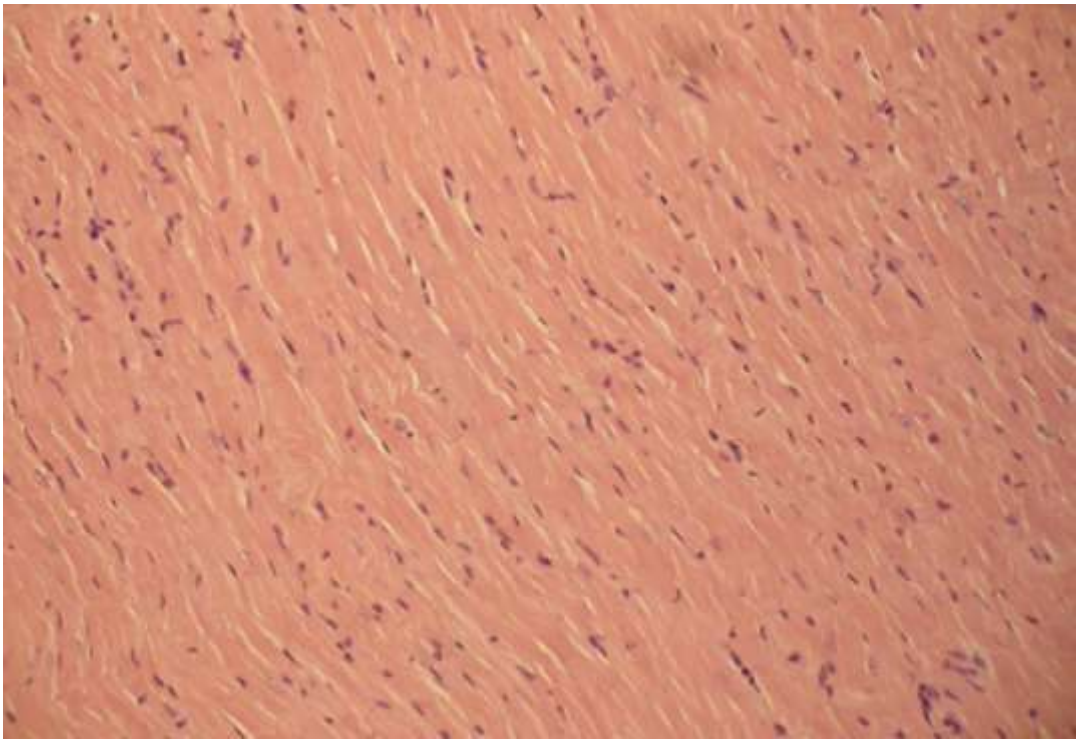

Рис. 6.7 Кіркова речовина міокарда щура інтактної групи. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

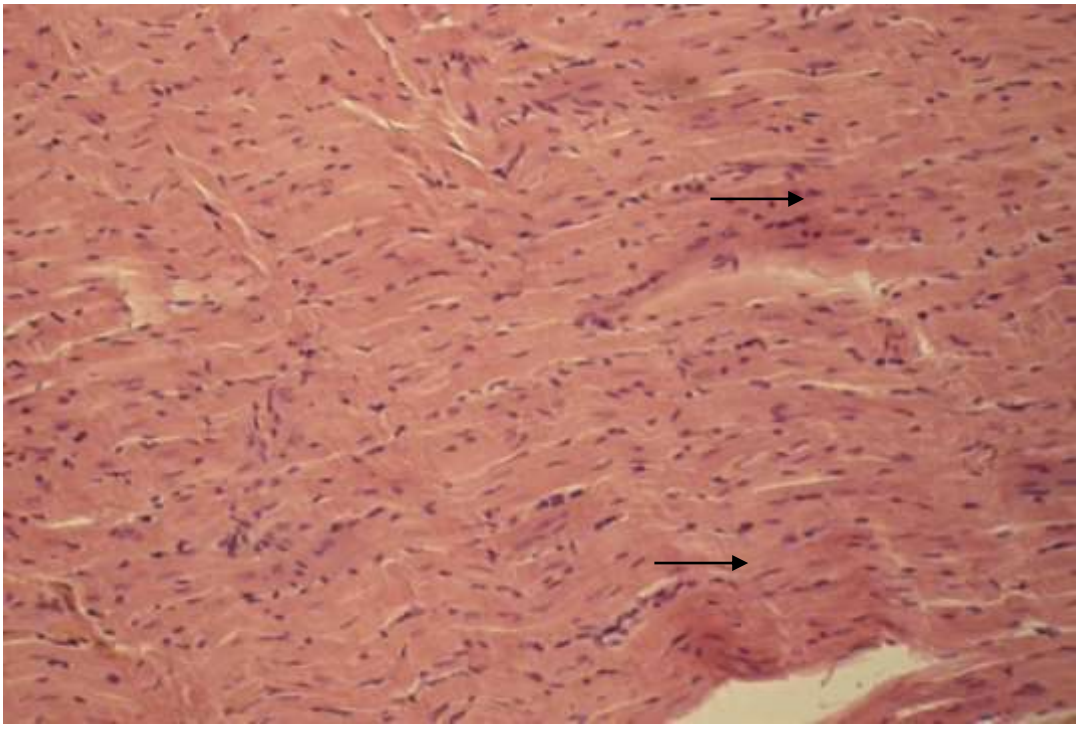

Рис. 6.8 Зміни у міокарді шлуночків щура експериментальної групи SHR. Ділянка деформації пучків м'язових волокон та гідропічне набухання кардіоміоцитів. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

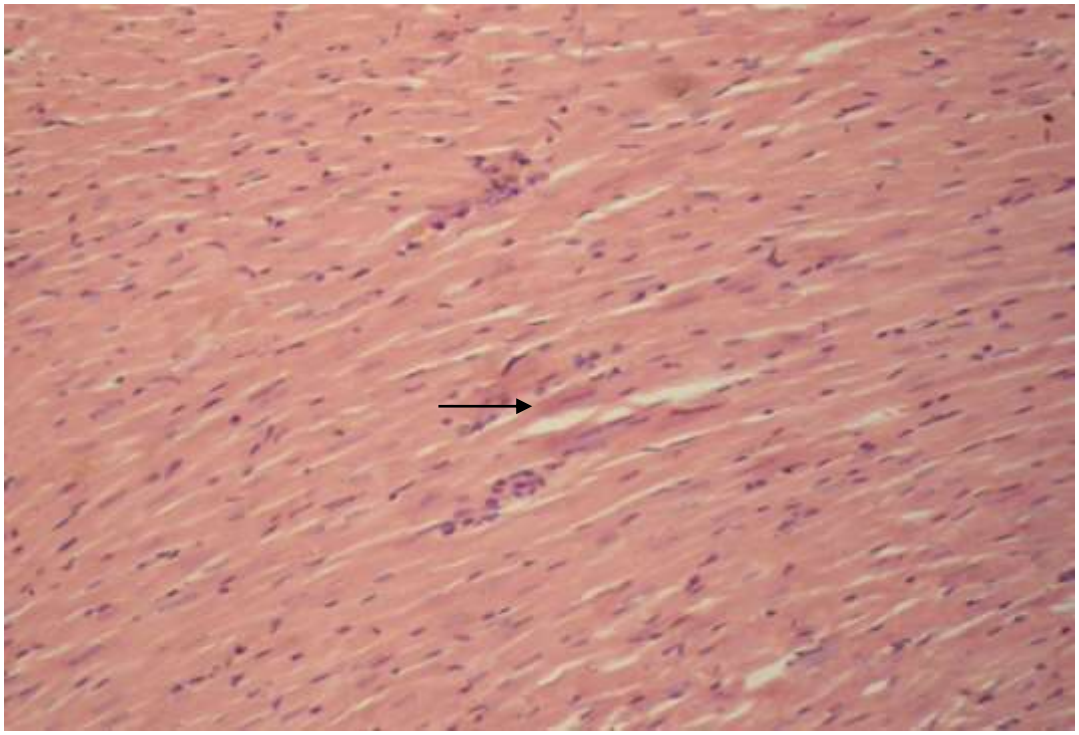

Рис. 6.9 Зміни у міокарді шлуночків щура експериментальної групи SHR, що отримував раміприл. Ділянка деформації серцевих м'язів. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

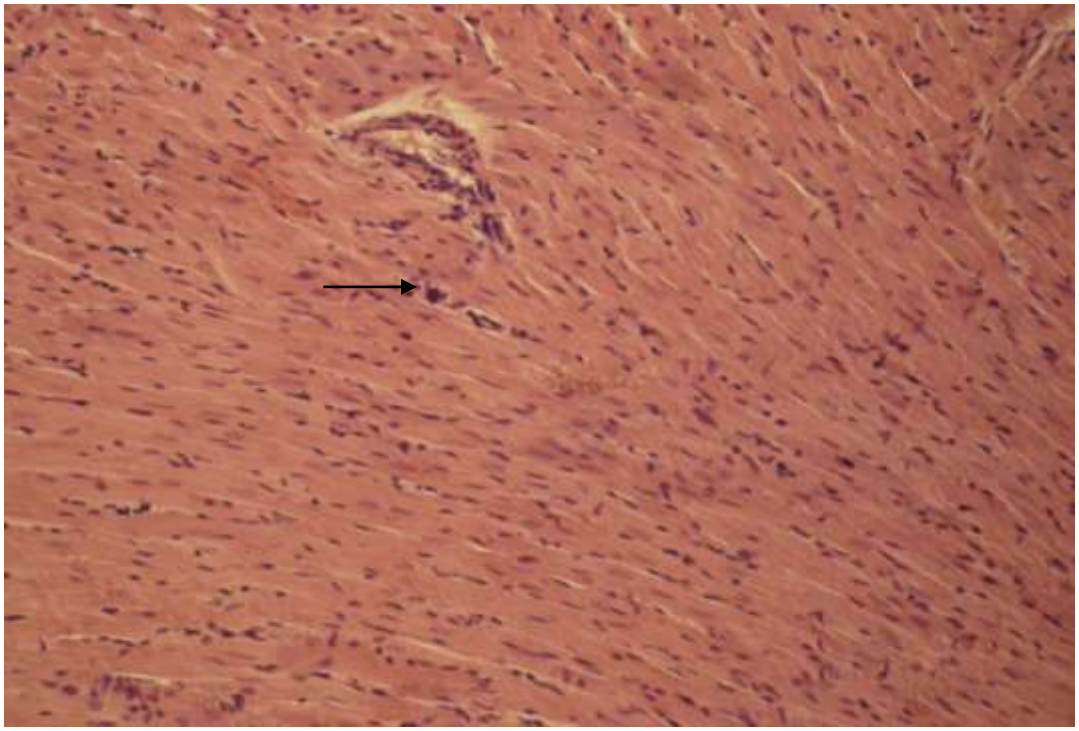

Рис. 6.10 Зміни у міокарді шлуночків щура експериментальної групи SHR, що отримував кандесартан. Ділянка деформації кардіоміоцитів. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

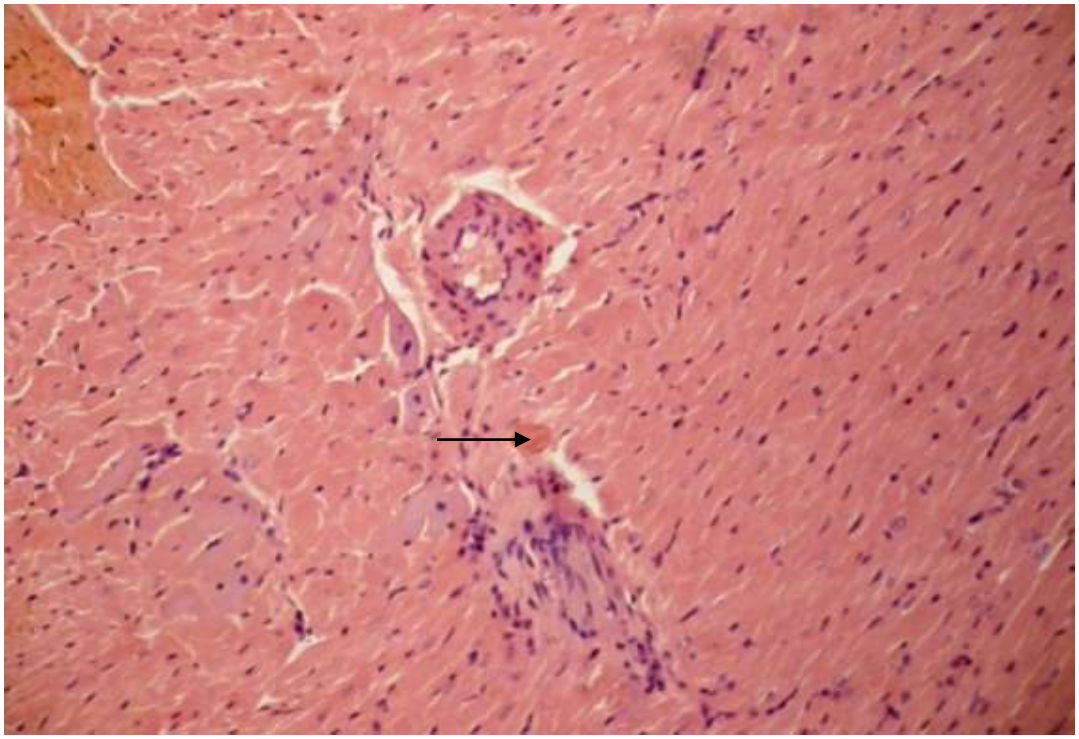

Рис. 6.11 Зміни у міокарді шлуночків щура експериментальної групи SHR, що отримував комбінацію раміприлу з корвітином. Ділянка гідропічного набухання кардіоміоцитів. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

У міокарді застосування раміприлу і корвітину в 4,7 раза зменшувало ступінь гідропічного набухання кардіоміоцитів, а при тривалому лікуванні ознаки гідропічного набухання були відсутні (рис. 6.11).

Базофільна дегенерація зменшувалась в 6,25 разів і тривалість лікування не мала значення. Комбінована терапія кандесартану і корвітину проявлялась відсутністю ознак гідропічної вакуолізації і зменшувало базофільну денерацію в 11,2 рази (рис. 6.12).

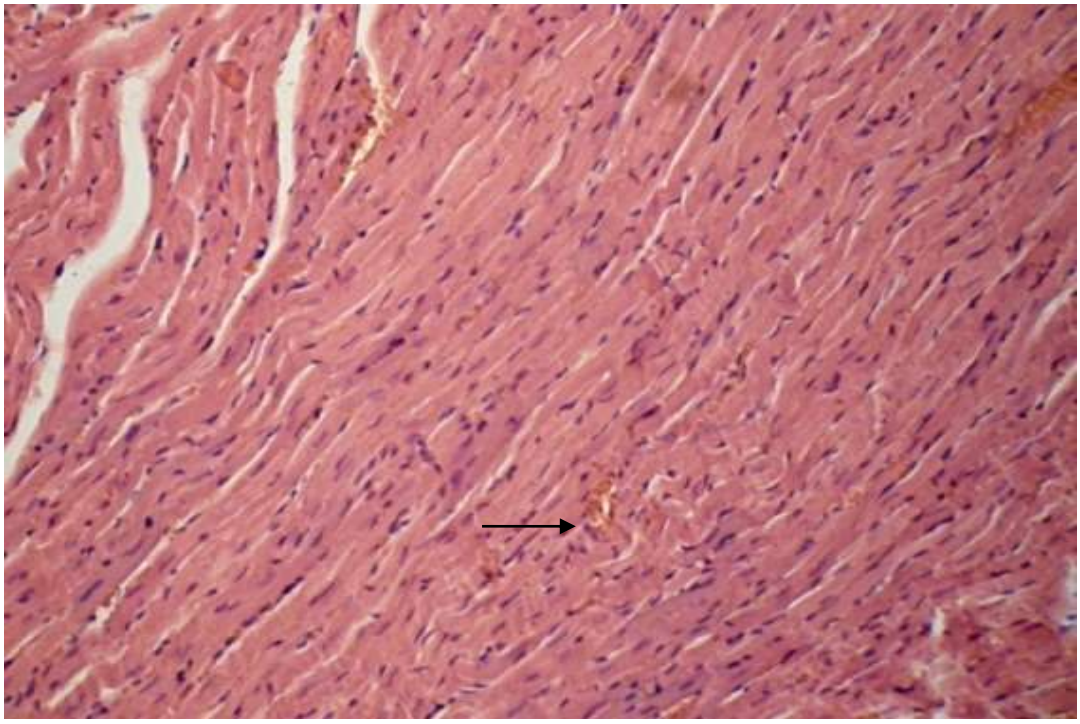

Рис. 6.12 Зміни у міокарді шлуночків щура експериментальної групи SHR, що отримував комбінацію кандесартану з корвітином. Ділянка гідропічної вакуолізації. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

У печінці щурів лінії SHR спостерігалося помітне оборотне набухання 94 ± 0,34% гепатоцитів, при цьому гідропічне набухання спостерігається переважно центролобулярно (III зона ацинуса), а гідропічна вакуолізація – периферолобулярно (I зона ацинуса) (рис. 6.14).

Спостерігалося зменшення відсотка оборотного набухання гепатоцитів до рівня 88 ± 0,38% за використання раміприлу та кандесартану, при цьому гідропічне набухання також розташовувалось переважно центролобулярно (III зона ацинуса), а гідропічна вакуолізація – периферолобулярно (I зона ацинуса) (рис. 6.15, 6.16). Проте покращання гістологічних особливостей у зразках спостерігалося при використанні саме нової комбінації раміприлу з корвітином та кандесартану з корвітином (рис. 6.17, 6.18).

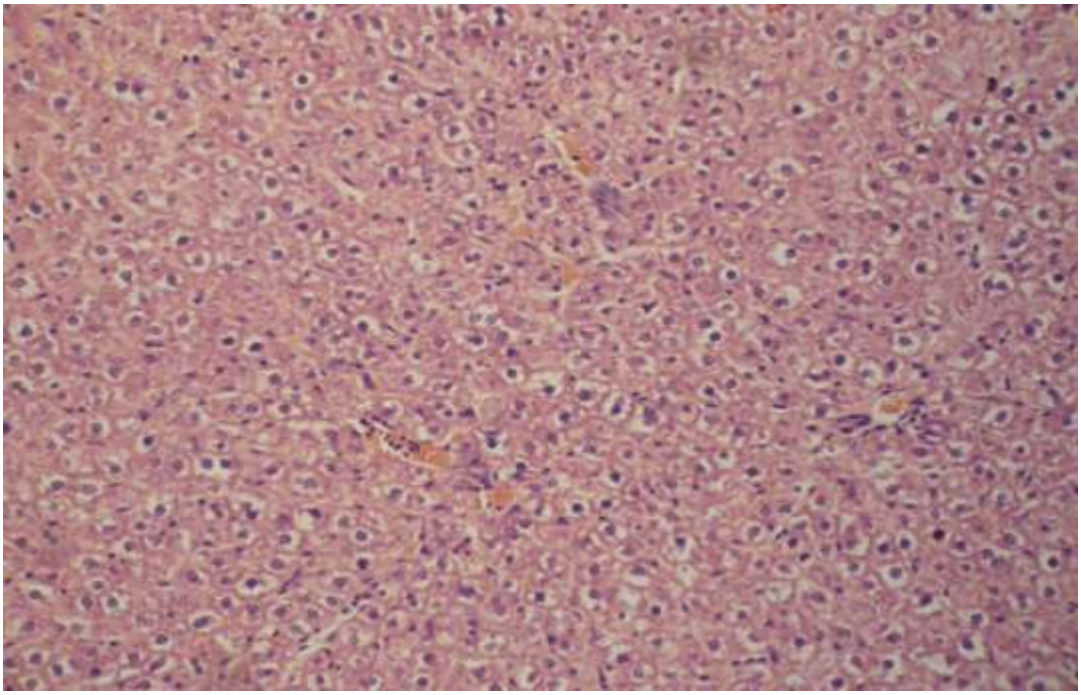

Рис. 6.13 Кіркова речовина печінки щура інтактної групи. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

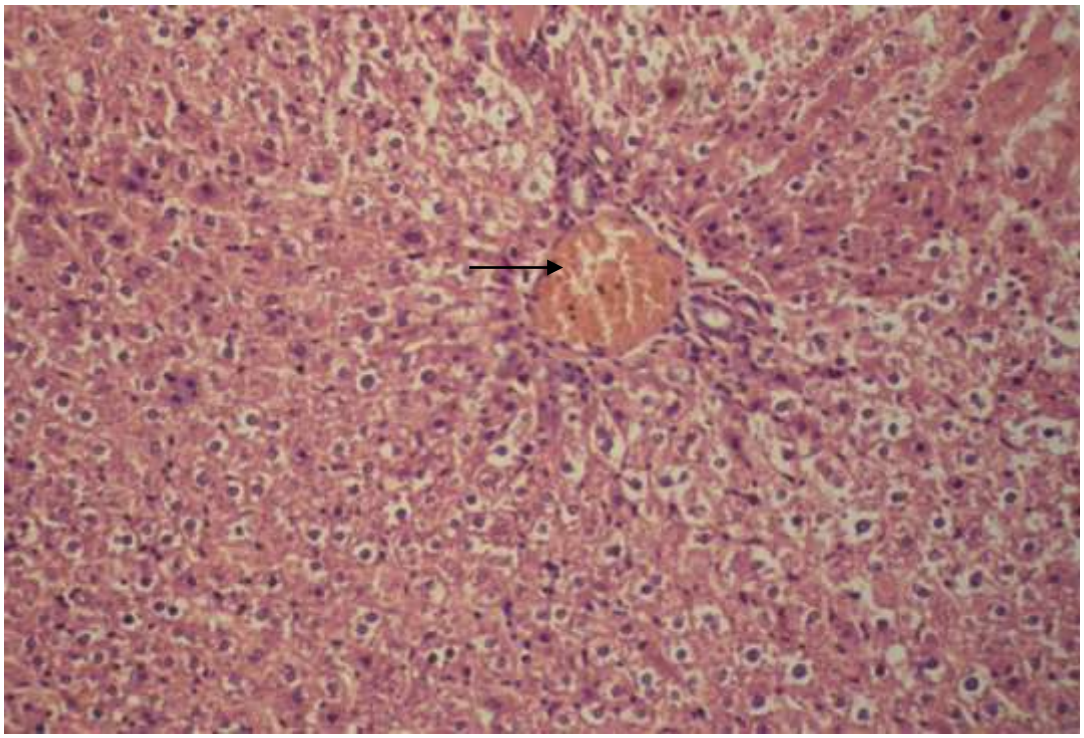

Рис. 6.14 Зміни у паренхімі печінки щура експериментальної групи SHR. Ділянка гідропічного набухання гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

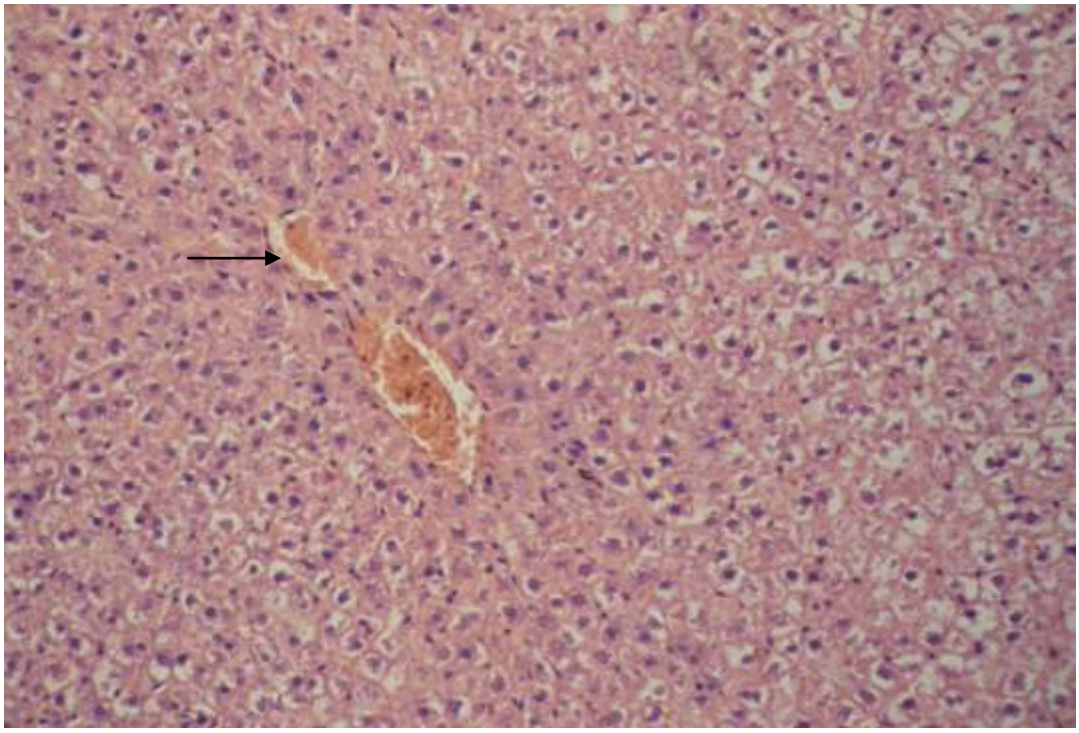

Рис. 6.15 Зміни у паренхімі печінки щура експериментальної групи SHR, що отримував раміприл. Ділянка гідропічної вакуолізації гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

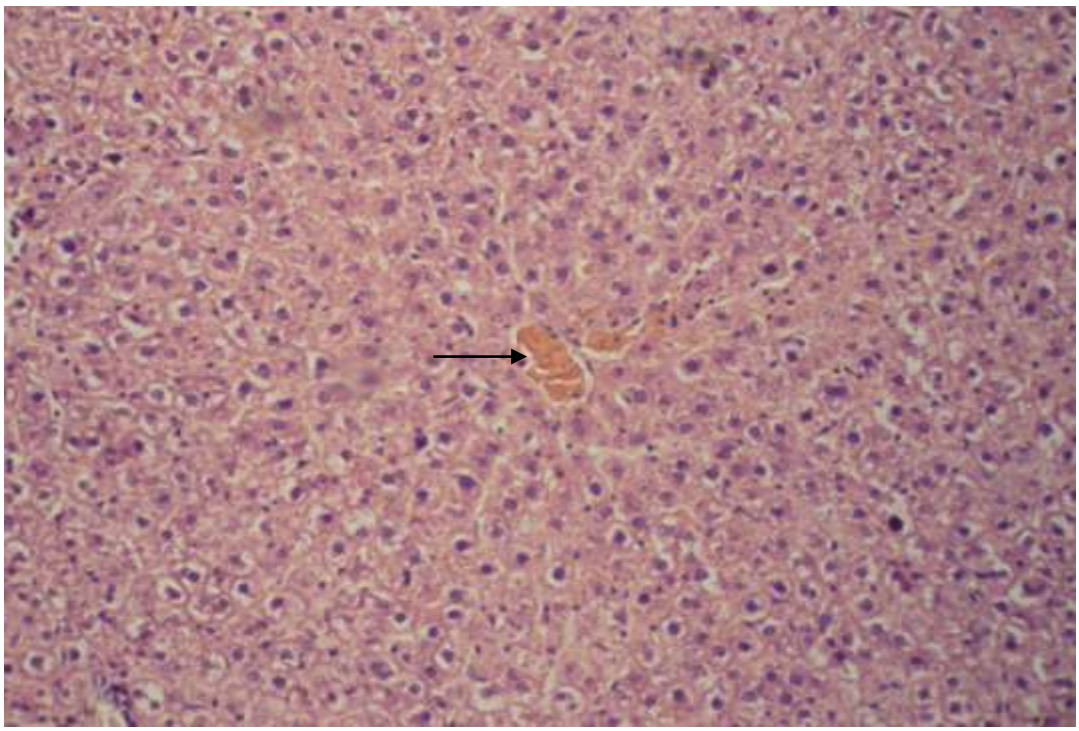

Рис. 6.16 Зміни у паренхімі печінки щура експериментальної групи SHR, що отримував кандесартан. Ділянка оборотного гідропічного набухання гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

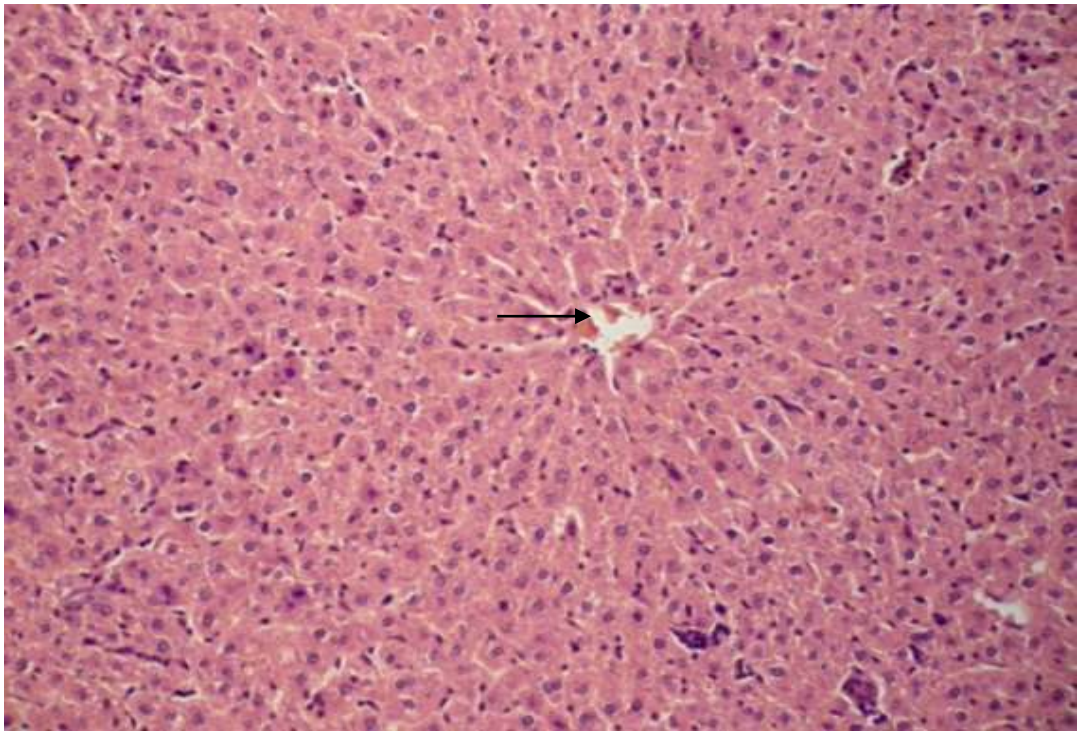

Рис. 6.17 Зміни у паренхімі печінки щурів експериментальної групи SHR, що отримували комбінацію раміприлу з корвітином. Ділянка оборотного гідропічного набухання гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

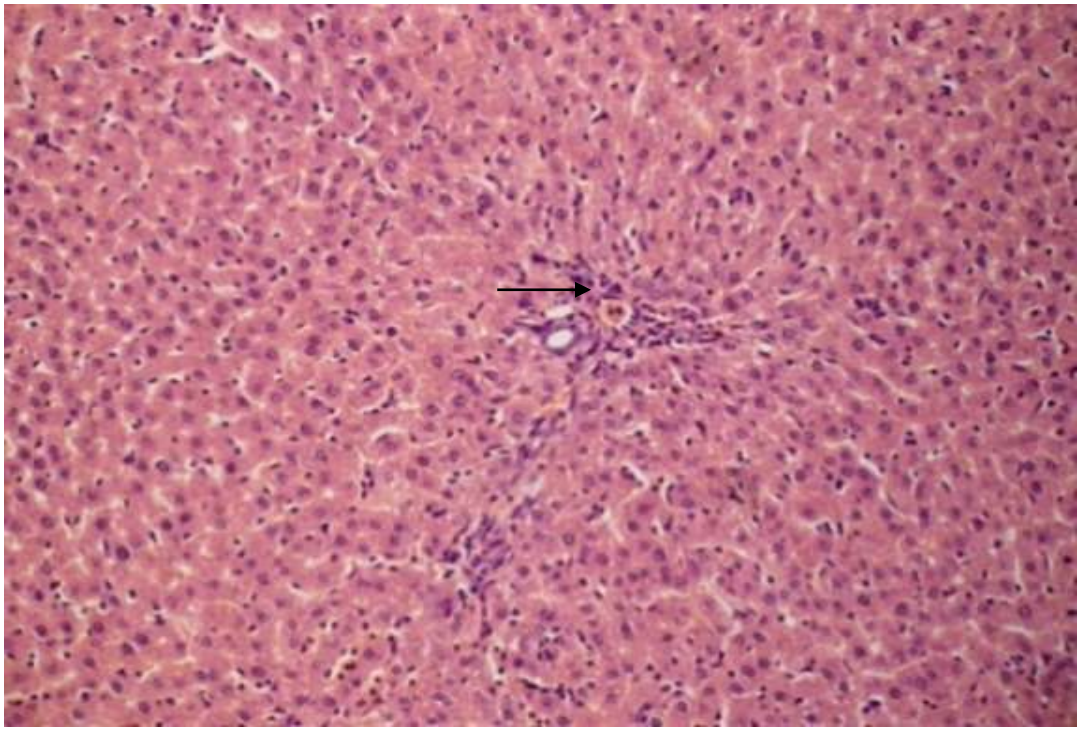

Рис. 6.18 Зміни у паренхімі печінки щура експериментальної групи SHR, що отримував комбінацію кандесартану з корвітином. Ділянка оборотного гідропічного набухання гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. Об.10^x, Ок.10^x.

Комбінована терапія раміприлу з корвітином та кандесартану з корвітином значно покращила морфологічну картину в усіх досліджуваних гістоструктурах, порівняно з показниками інтактної групи, та у тварин, які отримували терапію моно препаратами тільки раміприлу і кандесартану.

Також у рамках проведеного гістологічного дослідження нами було встановлено відсутність гендерних відмінностей фармакологічного впливу раміприлу з кандесартаном та їх комбінацій із корвітином за умов гіпертензії.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Maruschak A., Shorikov E., Timofiichuk I., Davydenko I., Slobodyan K. Pathomorphology of the myocardium, kidney and liver in spontaneously hypertensive rats treated with short and long-term use ramipril and candesartan. *Georgian medical news.* 2018. № 3 (276). P. 135-43.
2. Maruschak A. V. Short and long-term use of candesartan and ramipril in spontaneously hypertensive rats, liver, kidney and heart morphology. *Journal of pharma research.* 2019. № 8 (1). P. 15-21.
3. Maruschak A. V., Rogovyi Y. YE., Shvets V. I., Doroshko V. A., Savchuk T. P. Morphological changes in tissues of shr series bodies treatments with treatment of hypotensive medicines with ramipril and candesarthan) in combination with corvitin. *Scientific Journal «ScienceRise:* Pharmaceutical Science». 2020. № 1 (23). C. 39-44.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

АГ залишається однією з найбільш вагомих медико-соціальних проблем охорони здоров'я. Приймають антигіпертензивні препарати близько 60% хворих на АГ, проте ефективно лікуються лише 21,5% пацієнтів [141].

У більшості пацієнтів ефективний контроль артеріального тиску (АТ) може бути досягнутий тільки при комбінованій терапії, а у 15-20% пацієнтів контроль АТ не досягається навіть двохкомпонентною комбінацією [142]. У ряді великих клінічних досліджень (SHEP, MAPHY, STOP, coop, HOT) було показано, що для досягнення цільового рівня АТ 45-93% пацієнтів з АГ необхідне було застосування комбінації двох і більше препаратів [143]. Багатоцентрове дослідження POCA показало, що монотерапія виявилася ефективною у 47,9% хворих з АГ I ступеня, лише у 21,9% - з АГ II ступеня, і тільки в 9,1% випадків - при АГ III ступеня [144].

Перспективною комбінацією можна вважати одночасне застосування антигіпертензивного ЛП із доведеною ефективністю групи іАПФ або БРА із відомим антиоксидантом корвітином.

Для того, щоб вивчати ефективність нових комбінацій необхідно було з'ясувати, які зміни в системі згортання крові та фібринолізу відбуваються у щурів гіпертензивної лінії SHR.

Як відомо, до числа ключових ланок патогенезу АГ відноситься ендотеліальна дисфункція, яка пов'язана з порушенням рівноважного стану таких процесів, як вазодилатація і вазоконстрикція, інгібування і сприяння проліферації, синтез і інгібування факторів фібринолізу та агрегації тромбоцитів, вироблення про- і протизапальних факторів, анти- і прооксислюючих речовин [145]. Останнім часом з'явилися епідеміологічні та експериментальні дані, що констатують наявність протромботичних порушень при АГ. Відомо, що при стійкому підвищенні артеріального тиску внаслідок активного руйнування ендотеліоцитів відбувається переміщення іонів кальцію з тромбоцитів у навколишню плазму, збільшення вмісту тромбоксанів,

антиплазміну та інгібіторів активації плазміногену. Таким чином, вивчення змін в системі гемостазу, антигемостазу та фібринолізу, а також пошук взаємозв'язку структурно-функціональної перебудови міокарда з цими змінами при АГ, набуває найважливішого науково-практичного значення.

Встановлено, що вміст фібриногену є вірогідно вищим у щурів гіпертензивної лінії порівняно із вмістом (2,89 ± 0,63 г/л) в інтактних щурів ($F = 3,86$; $p = 0,004$). Рівень активності XIII фактора не мав змін із показниками інтактної групи. Аналіз вмісту АТ III у плазмі та серцевому м'язі як інтактних, так і щурів лінії SHR виявив значне відхилення показників від нормального розподілу (W у тесті Шапіро-Уїлка ~ 0,87; $p < 0,001$; у тесті Ліллієфорса $p < 0,01$), тому вміст АТ III представлено у вигляді медіани та 25 - 75 процентилів. Також у групі спонтанно гіпертензивних щурів спостерігалось зниження ПАП порівняно із групою інтактних щурів. Доведено, що гіпертензовані щурі серії SHR мають патологічні зсуви у балансі системи згортання крові та фібринолітичної активності, і встановлені зміни, подібні до тромботичних змін у пацієнтів на АГ.

Наступним фрагментом дослідження стало вивчення змін балансу ПОЛ-АОС у щурів з експериментальною гіпертензією.

Встановлено, що експериментальна гіпертензія у щурів супроводжується розвитком неконтрольованого оксидативного стресу.

Проведений аналіз засвідчив, що в щурів лінії SHR спостерігається суттєве підвищення вмісту МДА у плазмі крові, порівняно з аналогічним показником інтактної групи тварин. Одночасно із збільшенням інтенсивності процесів ПОЛ, для лінії щурів SHR, порівняно із щурами інтактної лінії, характерним є суттєве зниження показників ГВ, ГП та каталази.

Такі зміни балансу ПОЛ-АОС зареєстровані у плазмі крові та гомогенатах органів мішеней (зокрема нирок, міокарду та печінки).

Таким чином, експериментальна АГ характеризується підвищеними ризиками тромбоутворення та значним дисбалансом ПОЛ-АОС і якщо деякі антигіпертензивні ЛП, наприклад із груп іАПФ та БРА чинять фібринолітичну

дію, то для компенсації неконтрольованих процесів оксидативного стресу потрібне введення лікарського засобу з антиоксидантною дією. Як відомий препарат вітчизняного виробництва, було обрано кверцетин у комплексі із повідоном («Корвітин» НПЦ «БХФЗ» Україна).

Так, як АГ це хронічна хвороба, з терапією до кінця життя, парентеральний шлях введення не є доцільним. Було вирішено порівняти ефективність кверцетину на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів за Ягером, та антиоксидантною дією. Доведено, що мембраностабілізувальна активність корвітину, 30 мг/кг в/в шляху введення становить 64%, а в/ш – 57%. Тому статистичної різниці не було встановлено, внаслідок чого для подальших досліджень було обрано пероральний шлях введення корвітину у дозі 30 мг/кг, який поєднували з найбільш уживаними антигіпертензивними ЛП: іАПФ – раміприлом та БРА – кандесартаном у мінімальних терапевтичних дозах.

Доцільно було з’ясувати вплив монотерапії раміприлом та комбінації раміприл із корвітином, а також кандесартану та комбінації кандесартану з корвітином на показники згортання крові, фібриноліз, ендотеліальні показники стану судин та баланс системи ПОЛ-АОС у гіпертензивних щурів лінії SHR.

Експериментальна гіпертензія характеризується вірогідним збільшенням часу згортання крові відносно групи інтактного контролю. Монотерапія раміприлом та кандесартаном, дещо збільшує цей показник, але ці зміни не є статистично значущими. Комбінація іАПф та БРА з корвітином, достовірно збільшує час згортання крові у 1,2 рази ($p \leq 0,05$) відносно групи гіпертензивних нелікованих щурів і доводить його до меж фізіологічної норми. Отримані дані спонукали до поглибленого вивчення впливу монотерапії раміприлом, кандесартаном та комбінації раміприл із корвітином та кандесартан із корвітином на систему згортання крові - фібриноліз.

Гіпертензовані щурі характеризувались зсувом балансу згортання крові-фібриноліз, у бік тромбоутворення, що верифіковане за збільшенням у 1,4 рази вмісту фібриногену, та збільшенням у 1,1 рази рівня XIII фактору, зменшенням

у 1,3 рази рівня АТ III та зниженням потенційної активності плазміногену у 1,8 рази.

Під час застосування монотерапії раміприлом та комбінації раміприл із корвітином відбувалась нормалізація зазначених показників до рівня фізіологічної норми. Варто особливо зауважити, що відновлення вмісту фібриногену, фібринстабілізуючого фактору, антитромбіну III та потенційної активності плазміногену відбувалось в першу чергу за рахунок раміприлу. Введення корвітину немало в даному випадку суттєвого впливу на зазначені показники, хоча і можна відмітити позитивну тенденцію.

Аналогічні дані отримані для кандесартану та кандесартану із корвітином.

Для подальшої оцінки стану системи фібринолізу та загального протеолізу нами було проведено вивчення фібринолітичної активності плазми у підгрупах інтактних щурів та спонтанно гіпертензивної лінії, а також порівняно зміни фібринолізу і протеолізу під впливом лікування раміприлом та раміприлом із корвітином, а також кандесартаном та кандесартаном із корвітином.

Встановлено, що у тварин з артеріальною гіпертензією спостерігаються зміни фібринолітичних властивостей плазми, що може свідчити про зменшення інтенсивності розпаду високомолекулярних комплексів і про збільшення вмісту високомолекулярних антипротеаз. Опосередковано про це ж може свідчити тенденція до збільшення протеолітичної активності плазми за азоказеїном та азоколом у щурів з АГ. Збільшення кількості часток високо- і низькомолекулярних комплексів у плазмі крові може призводити до відкладання їх у стінці судин і призводити до порушень внутрішньопечінкової мікроциркуляції. Зниження фібринолітичної активності плазми і збільшення кількості часток середньо- і високомолекулярних білків може призвести до збільшення в’язкості пристінкового шару плазми у дрібних капілярах та до підвищення гіперв’язкості за рахунок плазмового компоненту.

Застосування раміприлу та раміприлу із корвітином викликало вірогідні зміни фібринолітичної активності та процесів протеолізу в плазмі крові (на системному рівні) щурів серії SHR. Зареєстровано відновлення сумарної фібринолітичної активності (СФА), ферментативної фібринолітичної активності (ФФА) та неферментативної фібринолітичної активності (НФА) під дією раміприлу на 8-15 % ($p \leq 0,05$).

Що стосується впливу на показники протеолізу, то застосування препарату раміприлу в комбінації з корвітином призвело до вірогідного зростання активності лізису низькомолекулярних сполук, колагену та високомолекулярних білків відповідно на 4%, 12% та 17%, порівняно з групою контрольної патології (щурі серії SHR).

Слід зазначити, що застосування саме комбінації раміприлу із корвітином, досягло вірогідних змін, тоді як для щурів, що отримували монотерапію раміприлу зафіксована стійка позитивна тенденція. Ймовірно такі зміни можуть бути пов’язані з вираженою активацією окислювальної модифікації білків, яка насамперед, призводить до пошкодження високомолекулярних білків із наступним їх лізисом.

Призначення експериментального лікування із використанням корвітину в комбінації з кандесартаном призвело до змін активності процесів протеолізу вже впродовж нетривалого застосування даних препаратів. У групах, де було використання кандесартану та кандесартану в комбінації з корвітином, виявлено підвищення активності колагенового лізису ($p < 0,05$) та лізису як високо-, так і низькомолекулярних протеїнів.

У щурів лінії SHR спостерігаються зміни системного та місцевого фібринолізу і протеолізу, що може бути наслідком активації пристосувальних реакцій. Застосування раміприлу в комбінації з корвітином призвело до активації протеолітичної активності особливо високомолекулярних білків.

Наступним етапом дослідження стало вивчення вмісту ВМК у плазмі інтактних щурів та щурів лінії SHR. Встановлено, що у щурів лінії SHR спостерігається підвищення концентрації ВМК у плазмі, порівняно з щурами

інтактної лінії, про що засвідчує підвищена залученість даного компоненту в реакції тканинного фібринолізу та контактної (на рівні ендотелію судин) активації згортальних систем. Крім того, не можна виключити, що підвищена активність ВМК пов’язана відповідно із процесом посиленого вироблення брадикініну, необхідного для підтримання вазодилятації в умовах постійного підвищення артеріального тиску спонтанно-гіпертензивних щурів.

Наступним завданням нашого дослідження стало вивчення змін вмісту ВМК, яке проводили для груп тварин, що отримували монотерапію раміприлу та кандесартану за умов як тривалого, так і нетривалого (8 днів) застосування.

Враховуючи вищевикладене, на систему фібринолізу та згортання крові основний вплив чинить раміприл. Кандесартан викликав вірогідне зниження рівня ВМК впродовж нетривалого лікування. Проте порівнюючи кінцеві результати дослідження рівня ВМК доходимо висновку, що раміприл на противагу кандесартану під час нетривалого лікування значно більше знижує вміст ВМК у підгрупі тварин, які отримували саме раміприл, але різниця між прикінцевими показниками була невірогідною (p = 0, 25 за критерієм Уелча).

Порівнюючи нетривале лікування на противагу тривалому встановили: за критерієм Вілкоксона зміни під впливом нетривалого лікування є невірогідними, проте аналіз за критерієм знаків свідчить про те, що зниження ВМК у спонтанно гіпертензивних щурів продовжуються і за умов тривалого застосування даного препарату. Рівень зниження ВМК під впливом тривалого застосування раміприлу є відчутним, порівняно із застосуванням кандесартану, проте і в цьому випадку різниця між досягнутими рівнями ВМК є невірогідною (p = 0,19 за критерієм Уелша).

Таким чином, як раміприл, так і кандесартан мають виражену здатність змінювати вміст ВМК у плазмі крові щурів як під час тривалого, так і нетривалого застосування із відсутньою перевагою у величині ефекту на користь будь-якого засобу.

Наразі не існує специфічної дефініції для терміну ендотеліальної дисфункції, але, в цілому, загальний консенсус для визначення даного

патологічного процесу полягає в тому, що будь-які зміни, які свідчать про посилення запалення з боку ендотеліальних клітин, зміни їх адгезивних властивостей, порушення ендотеліального тромботичного потенціалу та здатності до проліферації, а не лише загальна вазомоторна відповідь чи зміни проникності, можуть вважатися порушенням його функції. У зв'язку з цим підвищення або зниження експресії або синтезу de novo, чи зміни у функціональній активності специфічних біохімічних або імунологічних сполук-маркерів може бути свідченням порушень функціональної здатності ендотелію. Варто зазначити, що більшість компонентів, незважаючи на різноманітність функцій, сигнальних та метаболічних шляхів, місця синтезу або депонування, часто є між собою взаємопов'язаними, і тому зміна активності сполук одного класу може спричиняти зрушення активності іншого, а отже, вивчення їх функціональної здатності має бути комплексним, із одночасним визначенням місця кожного із маркерів у розвитку тих чи інших функціональних або патологічних змін судинного русла. Найбільш важливою ланкою порушення ендотеліальної функції є система синтезу важливого ендотеліального фактору – оксиду азоту (NO) та пов'язаних з ним ферментних та неферментних систем. У даний час NO є одним з найбільш вивчених активаторів ендотелій-залежної вазодилатації, який може виконувати як паракринні, так і дистантні сигнальні функції. Принциповим питанням є те, що протромботичний, проліферативний, адгезійний типи дисфункції ендотелію переважно є вторинними та залежать від втрати біологічної функціональності NO. Зниження біологічної активності оксиду азоту може спричинятися зниженням експресії або активності NO-синтаз (eNOS), зниженням або недостатньою кількістю субстратів у реакції з eNOS та виділенням медіаторів чи дією факторів, які власне викликають протилежну (наприклад, вазоконстрикторну) дію.

Застосування раміприлу із корвітином викликало вірогідні зміни вмісту метаболітів монооксиду нітрогену у щурів серії SHR, порівняно з тваринами серії SHR, які не отримували лікування. Рівень метаболітів монооксиду нітрогену зростав у 1,2 рази у групі тварин, які отримували нетривале

лікування, та в 1,6 разів у тварин, які отримували препарат більш тривалий час. Отримані дані свідчать про вазодилятацію, показником якої є зростання рівня метаболітів NO.

Тривале застосування раміприлу покращує стан ендотеліальної функції, але цей препарат викликає не тільки пригнічення надлишкових вазоконстрикторних реакцій, але й сприяє поступовій реставрації ремодельованих судин. Препарати цього класу мають переваги над іншими антигіпертензивними засобами щодо впливу на вазодилятацію ендотелію, що пов'язано із впливом на ангіотензин II, а також пригнічення руйнування брадикініну, який в свою чергу викликає вивільнення ендотелій-залежного оксиду азоту.

Застосування кандесартану із корвітином викликало вірогідне зростання рівнів NO. Так, у щурів серії SHR, які отримували лікування, рівень метаболітів NO збільшився на 35% при лікуванні протягом 7 днів, а при тривалому лікуванні на 87% і досягав рівня показників інтактних тварин. Слід зазначити, що максимально ефективним є тривале застосування комбінації кандесартану та корвітину.

Як було зазначено, важливою ланкою патогенезу АГ є оксидативний стрес. Встановлено, що раміприл та кандесартан не чинять антиоксидантної дії, але за умов їх одночасного застосування із корвітином, відбувається потужне зниження процесів ПОЛ, верифіковане за зниженням МДА та ДК та відновлення АОС за активністю СОД, ГП та каталази.

Проведені нами гістологічні дослідження довели, що у гіпертензивних щурів серії SHR визначаються виражені патологічні зміни основних гістоструктур органів-мішеней, що зазнають впливу високого тиску, зокрема нирки, міокард та печінка.

При використанні монотерапії як раміприлу так і кандесартану дещо зменшилася площа атрофії та склероз ниркових клубочків і канальців нефрону, екскреція загального білка з сечею, тощо. Вищевказані препарати сприяють нормалізації системного артеріального тиску і збільшенню кровотоку в нирках,

а в комбінації з корвітином посилюють позитивну динаміку. Також зафіксовано зменшення оборотного набухання гепатоцитів та зниження ушкодження клітинних структур кардіоміоцитів. Проте значна нормалізація структури клітин нирок, міокарду та печінки встановлена лише за умов застосування саме нової комбінації даних антигіпертензивних засобів із корвітином, які мінімізують наслідки патологічних процесів у клітинах органів-мішеней та відновлюють їх до фізіологічної норми.

Резюмовані результати отриманих досліджень наведено на рис. 7.

Раміприл	**Кандесартан**	**Раміприл + корвітин**	**Кандесартан + корвітин**
Фібринолітична активність		-	-
Нормалізуючий вплив на ендотеліальну функцію			
-	-	Антиоксидантна дія	
-	-	Органопротекторна дія на органи мішені	

Рис. 7. Переваги комбінації раміприлу та кандесартану із корвітином.

Перевагами нових комбінацій перед монотерапією є виражена антиоксидантна дія, через яку відбувається органопротекторна дія на органи мішені та посилення нормалізуючого впливу на ендотеліальну функцію.

Комбінації раміприл із корвітином та кандесартан із корвітином за вираженістю фармакологічного впливу рівноцінні і це дозволяє рекомендувати їх до медичної практики, а вибір залишається за лікарем та пацієнтом.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне та експериментальне вирішення актуальної наукової задачі, що полягає в обгрунтуванні складу та вивченні фармакологічних властивостей нових комбінацій відомих лікарських засобів (раміприлу із корвітином та кандесартану із корвітином), що пропонуються для оптимізації терапії артеріальної гіпертензії.

1. Встановлено, що у щурів лінії SHR перебіг артеріальної гіпертензії ускладнюється змінами тромботичного потенціалу, що супроводжується зростанням концентрації фібриногену у плазмі та серцевому м'язі у 1,1 рази ($p > 0,05$), змінами потенційної активності плазміногену, значним збільшенням продуктів ПОЛ (МДА на 51%, $p > 0,05$) та зниженням активності АОС (глутатіону відновленого на 15%; глутатіонпероксидази на 4%, каталази на 19%, $p > 0,05$).

2. Визначено, що антиоксидантна дія корвітину немає суттєвих відмінностей за умов внутрішньовенного та внутрішньошлункового застосування, 64% мембраностабілізувальної активності та 57% відповідно. Зазначене дає можливість перорального введення корвітину із раміприлом та кандесартаном у подальших дослідженнях.

3. Застосування раміприлу у комбінації з корвітином нормалізує показники згортання крові та фібринолізу. Цей вплив реалізується за рахунок раміприлу. Застосування раміприлу в комбінації з корвітином чинить виражений системний антиоксидантний захист та захист органів мішеней. Антиоксидантна дія комбінації реалізується виключно введенням до її складу корвітину, рівень МДА та ДК у плазмі крові та гомогенаті органів мішеней знижено в 1,2-1,5 рази ($p > 0,05$), показники АОС відновлені до меж інтактного контролю. Раміприл у монотерапії антиоксидантного впливу не чинить.

4. Застосування кандесартану в комбінації з корвітином на тлі експериментальної гіпертензії відновлює як ферментативну, так і неферментативну фібринолітичну активність, нормалізує інтенсивність низько-

та високомолекулярного протеолізу (5% та 13% відповідно, $p \leq 0,05$) суттєво у 1,2 рази ($p \leq 0,05$) підвищує колагенолітичну активність у процесі нетривалого й тривалого застосування. Вірогідно нормалізує баланс ПОЛ-АОС у щурів гіпертензивної лінії SHR.

5. Гістологічні дослідження довели, що у гіпертензивних щурів серії SHR визначаються виражені патологічні зміни основних структур органів-мішеней, що зазнають впливу високого тиску, це нирки, міокард та печінка. Раміприл та кандесартан, дещо сприяли відновленню гістоструктури органів мішеней, але значна нормалізація клітин нирок, міокарда та печінки встановлена лише за умов застосування саме нової комбінації даних антигіпертензивних засобів із корвітином.

6. За результатами дослідження щурів серії SHR, встановлено, що нові комбінації відомих на фармацевтичному ринку лікарських засобів раміприлу з корвітином та кандесартану з корвітином, за умов внутрішньошлункового введення, суттєво переважають монотерапію даними антигіпертензивними засобами. Комбінація даних препаратів суттєво впливає на основний патогенетичний ланцюг гіпертензії – оксидативний стрес. Отримані результати є доклінічним обгрунтуванням оптимізації фармакотерапії артеріальної гіпертензії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Cardiovascular diseases - World Health Organization. URL: https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases/#tab=tab_1 (дата звернення 2.01.2021).

2. Цимбалюк В. І., Тронько М. Д., Попова В. В. Проблемні питання лікування цукрового діабету за наявності коронавірусного захворювання. Національна академія медичних наук України. URL: http://amnu.gov.ua/problemni-pytannya-likuvannya-czukrovogo-diabetu-zanayavnosti-koronavirusnogo-zahvoryuvannya (дата звернення: 02.01.2021).

3. Артеріальна гіпертонія призводить до серйозних ускладнень. Харків. URL: https://20pol.city.kharkov.ua (дата звернення: 02.01.2021).

4. Guignabert C., Tu L., Girerd B., Ricard N. New molecular targets of pulmonary vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension : importance of endothelial communication. Chest. 2015. 147 (2) P. 529-537. URL: http://10.1378/chest.14-0862 (date of application: 02.01.2021). PMID: 25644906.

5. Державний реєстр лікарських засобів України. URL: http://www.drlz.com.ua (дата звернення: 02.01.2021).

6. Sezai A., Osaka S., Yaoita H. et al. CHangeover trial of Azilsartan and Olmesartan comparing effects on the renin-angiotensin-aldosterone System in patients with essential hypertension after cardiac surgery (CHAOS Study). Ann Thorac Cardiovasc Surg. 2016. 22: 161-167.

7. Timmis A., Townsend N., Gale C., Torbica A. European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2019, *European Heart Journal*, Volume 41, Issue 1, 1 January 2020, P. 12–85. DOI: https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz859 (date of application: 02.01.2021).

8. Jordan J., Kurschat C., Reuter H. Arterial Hypertension Diagnosis and treatment. Dtsch Arztebl Int. 2018. 115: P. 557-68. URL: http://10.3238/arztebl.2018.0557 (date of application: 02.01.2021).

9. Горшунова Н. К., Рахманова О. В. Оксидативный стресс и его разновидности в патогенезе артериальной гипертонии. *Современные проблемы науки и образования.* 2018. № 3. URL: http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27701 (дата звернення: 02.01.2021).

10. Cunha P. G., Boutouyrie P., Nilsson P. M., Laurent S. Early vascular ageing (EVA): definitions and clinical applicability [published online ahead of print April 12, 2017. *Curr Hypertens Rev*. URL: http://10.2174/1573402113666170413094319 (дата звернення:0201.2021).

11. Gaine S., Chin K., Coghlan G., Channick R. Selexipag for the treatment of connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension. Eur Respir J. 2017 Aug 17. 50(2) :1602493. URL: http://10.1183/13993003.02493-2016 (date of application: 02.01.2021). PMID: 28818881. PMCID: PMC5593379.

12. Guzik T. J., Touyz R. M. Oxidative Stress, Inflammation, and Vascular Aging in Hypertension. *Hypertension.* 2017;70:660 –667. DOI: https://doi.org/10.1161/ HYPERTENSIONAHA.117.07802 (Date of application: 02.01.2021).

13. Carey R. M. Resistant hypertension: mineralocorticoid receptor antagonist or renal denervation? *Hypertension*. 2016; 67:278–280

14. Arnold A. C., Okamoto L. E, Gamboa A., Black B. KMineralocorticoid receptor activation contributes to the supine hypertension of autonomic failure. *Hypertension*. 2016. 67. P. 424–429. URL: http://10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06617 (date of application: 02.01.2021).

15. Ayuzawa N., Nagase M., Ueda K., Nishimoto M. Rac1-mediated activation of mineralocorticoid receptor in pressure overload-induced cardiac injury. *Hypertension*. 2016. 67. P. 99–106. URL: http://10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06054 (date of application: 02.01.2021).

16. Bauersachs J., Jaisser F., Toto R. Mineralocorticoid receptor activation and mineralocorticoid receptor antagonist treatment in cardiac and renal diseases. *Hypertension*. 2015. 65: 257–263. URL: http://10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04488 (date of application: 02.01.2021).

17. Briet M., Barhoumi T., Mian M. O., Coelho S. Aldosterone-induced vascular remodeling and endothelial dysfunction require functional angiotensin type 1a receptors. *Hypertension*. 2016. 67 :897–905. URL: http://10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.07074. (date of application: 02.01.2021).

18. Lother A., Fürst D., Bergemann S., Gilsbach R. Deoxycorticosterone acetate/salt-induced cardiac but not renal injury is mediated by endothelial mineralocorticoid receptors independently from blood pressure. *Hypertension*. 2016. 67: 130–138. URL: http://10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06530 (date of application: 02.01.2021).

19. Lother A., Hein L. Vascular mineralocorticoid receptors: linking risk factors, hypertension, and heart disease. *Hypertension*. 2016. 68: 6–10. URL: http://10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07418 (date of application: 02.01.2021).

20. Huby A. C., Otvos L., Belin de Chantemèle E. J. Leptin induces hypertension and endothelial dysfunction via aldosterone-dependent mechanisms in obese female mice. *Hypertension.* 2016. 67. 1020–1028. URL: http://10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06642 (date of application: 02.01.2021).

21. Nosalski R., Guzik T. J. Perivascular adipose tissue inflammation in vascular disease. 2017. *Br J Pharmacol*. URL: http://10.1111/bph.13705 (date of application: 02.01.2021).

22. Bruno R. M., Duranti E., Ippolito C., Segnani C. Different impact of essential hypertension on structural and functional age-related vascular changes. *Hypertension*. 2017. 69: 71–78. URL: http://10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08041 (date of application: 02.01.2021).

23. Nosalski R., McGinnigle E., Siedlinski M., Guzik T. J. Novel immune mechanisms in hypertension and cardiovascular risk. *Curr Cardiovasc Risk Rep*. 2017. 11:12. URL: http://10.1007/s12170-017-0537-6 (date of application: 02.01.2021).

24. Januszewicz A., Guzik T., Prejbisz A., Mikołajczyk T. Malignant hypertension: new aspects of an old clinical entity. *Pol Arch Med Wewn*. 2016. 126: 86–93.

25. Mikolajczyk T. P., Nosalski R., Szczepaniak P., et al.. Role of chemokine RANTES in the regulation of perivascular inflammation, T-cell accumulation, and vascular dysfunction in hypertension. *FASEB J*. 2016. 30: 1987–1999.

26. Scheiermann C., Frenette P. S., Hidalgo A. Regulation of leucocyte homeostasis in the circulation. *Cardiovasc Res*. 2015. 107: 340–351. URL: http://10.1093/cvr/cvv099 (date of application: 02.01.2021).

27. Itani H. A., McMaster W. G., Saleh M. A., et al.. Activation of human T cells in hypertension: studies of humanized mice and hypertensive humans. *Hypertension*. 2016. 68: 123–132. URL: http://10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.0723 (date of application: 02.01.2021).

28. Odoi K., Yamashita T., Sasaki N., Kasahara K. Foxp3+ regulatory T cells play a protective role in angiotensin II-induced aortic aneurysm formation in mice. *Hypertension*. 2015. 65: 889–895.

29. Sundgren N. C., Vongpatanasin W., Boggan B. M., Tanigaki K. IgG receptor FcγRIIB plays a key role in obesity-induced hypertension. *Hypertension*. 2015. 65: 456–462.

30. Tay C., Liu Y. H., Hosseini H., Kanellakis P. B-cell-specific depletion of tumour necrosis factor alpha inhibits atherosclerosis development and plaque vulnerability to rupture by reducing cell death and inflammation. *Cardiovasc Res*. 2016. 111: 385–397.

31. Biancardi V. C, Bomfim G. F., Reis W. L., Al-Gassimi S. The interplay between angiotensin II, TLR4 and hypertension. *Pharmacol Res*. 2017. 120: 88–96. URL: http://10.1016/j.phrs.2017.03.017 (date of application: 02.01.2021).

32. Echavarria R., Mayaki D., Neel J. C., Harel S. Angiopoietin-1 inhibits toll-like receptor 4 signalling in cultured endothelial cells: role of miR-146b-5p. *Cardiovasc Res*. 2015. 106: 465–477. URL: http://10.1093/cvr/cvv120 (date of application: 02.01.2021).

33. Jiang Y., Lu L., Hu Y., Li Q. Resistin induces hypertension and insulin resistance in mice via a TLR4-dependent pathway. *Sci Rep*. 2016. 6: 22193. URL: http://10.1038/srep22193 (date of application: 02.01.2021).

34. Singh M. V., Cicha M. Z., Meyerholz D. K., Chapleau M. W. Dual activation of TRIF and MyD88 adaptor proteins by angiotensin II evokes opposing effects on pressure, cardiac hypertrophy, and inflammatory gene expression. *Hypertension*. 2015. 66: 647–656. URL: http://10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06011 (date of application: 02.01.2021).

35. Baradaran A., Nasri H., Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and hypertension: Possibility of hypertension therapy with antioxidants. *J Res Med Sci.* 2014 Apr. 19 (4): 358–367.

36. Rodrigo R., González J., Paoletto F. The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. *Hypertens Res*. 2011. 34: 431–40.

37. Wang M., Kim S. H., Monticone R. E., Lakatta E. G. Matrix metalloproteinases promote arterial remodeling in aging, hypertension, and atherosclerosis. *Hypertension*. 2015; 65:698–703.

38. Williams B., Mancia G., Spiering W., Agabiti Rosei E. et al. Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH), *European Heart Journal*, Volume 39, Issue 33, 01 September 2018. P. 3021–3104. URL: https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339 (date of application: 02.01.2021).

39. Poulter N. International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. *Hypertension.* 2020. 75: 1334–1357.

40. Williams B., Mancia G., Spiering W., Agabiti Rosei E. et al. Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management Of Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2018. 36: 1953–2041.

41. Whelton P. K., Carey R. M., Aronow W. S., Casey D. E. Guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Hypertension.* 2018. 71: 1269–1324.

42. Kario K., Shin J., Chen C. H., Buranakitjaroen P. et al. Expert panel consensus recommendations for ambulatory blood pressure monitoring in Asia: The HOPE Asia Network. *J Clin Hypertens*. 2019. 21: 1250–1283.

43. Stergiou G. S., O'Brien E., Myers M., Palatini P. Scientific Advisory Board. STRIDE BP: an international initiative for accurate blood pressure measurement. *Hypertens*. 2019. 38: 395–399.

44. Stergiou G. S., Kyriakoulis K. G., Kollias A. Office blood pressure measurement types: Different methodology-Different clinical conclusions. *J Clin Hypertens*. 2018. 20: 1683–1685.

45. Asayama K., Thijs L., Li Y., Gu Y. M.net al. International Database on Ambulatory Blood Pressure in Relation to Cardiovascular Outcomes (IDACO) Investigators. Setting thresholds to varying blood pressure monitoring intervals differentially affects risk estimates associated with white-coat and masked hypertension in the population. *Hypertension*. 2014. 64: 935–942.

46. Stergiou G. S., Asayama K., Thijs L., Kollias A. International Database on HOme blood pressure in relation to Cardiovascular Outcome (IDHOCO) Investigators. Prognosis of white-coat and masked hypertension: International Database of HOme blood pressure in relation to Cardiovascular Outcome. *Hypertension*. 2014. 63: 675–682.

47. He F. J., Li J., Macgregor G. A. Effect of longer term modest salt reduction on blood pressure: Cochrane systematic review and meta-analysis of randomised trials. *BMJ*. 2013. 346: f1325.

48. Gay H. C., Rao S. G., Vaccarino V., Ali M. K. Effects of different dietary interventions on blood pressure: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension*. 2016. 67: 733–739. URL: http://www.dashforhealth.com

49. Cicero A. F. G., Grassi D., Tocci G., Galletti F. Nutrients and nutraceuticals for the management of high normal blood pressure: an evidence-based consensus document. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2019. 26: 9–25.

50. Xie C., Cui L., Zhu J., Wang K. Coffee consumption and risk of hypertension: a systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies. *J Hum Hypertens*. 2018. 32: 83–93.

51. Roerecke M., Kaczorowski J., Tobe S. W., Gmel G. The effect of a reduction in alcohol consumption on blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Public Health.* 2017. 2: e108–e120.

52. Casonatto J., Goessler K. F., Cornelissen V. A., Cardoso J. R. The blood pressure-lowering effect of a single bout of resistance exercise: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Eur J Prev Cardiol*. 2016. 23: 1700–1714.

53. Costa E. C., Hay J. L., Kehler D. S., Boreskie K. F. Effects of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on blood pressure in adults with pre-to established hypertension: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Sports Med.* 2018. 48: 2127–2142.

54. Geldsetzer P., Manne-Goehler J., Marcus M. E., Ebert C. et al. The state of hypertension care in 44 low-income and middle-income countries: a cross-sectional study of nationally representative individual-level data from 1.1 million adults. Lancet. 2019. 394: 652–662.

55. Non-communicable Disease Risk Factor Collaboration . Long-term and recent trends in hypertension awareness, treatment, and control in 12 high-income countries: an analysis of 123 nationally representative surveys. Lancet. 2019. 394: 639–651.

56. Amerson K., Weber M. A., Bakris G. L., Dahlof B. Benazepril plus amlodipine or hydrochlorothiazide for hypertension in high-risk patients. N Engl J Med. 2008. 359: 2417–2428.

57. Williams B., MacDonald T. M., Morant S., Webb D. J. British Hypertension Society's PATHWAY Studies Group. Spironolactone versus placebo, bisoprolol, and doxazosin to determine the optimal treatment for drug-resistant hypertension (PATHWAY-2): a randomised, double-blind, crossover trial.Lancet. 2015. 386: 2059–2068.

58. Ojji D., Mayosi B., Francis V., Badri M. et al. CREOLE Study Investigators. Comparison of dual therapies for lowering blood pressure in black Africans. N Engl J Med. 2019. 380: 2429–2439.

59. Радченко А. Д. Нужны ли споры на тему: лучше сартаны или ингибиторы АПФ?. *Артериальная гипертензия*. 2014. №2 (34). С. 97-107.

60. Dahlof B., Devereux R. B., Kjeldsen S. E. et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol / Lancet. 2002. Vol. 359. P. 995-1003.

61. Weber M. A., Julius S., Kjeldsen S. E. et al. Blood pressure dependent and independent effects of antihypertensive treatment on clinical values in the VALUE trial / Lancet. 2004. Vol. 363. P. 2047-2049.

62. Demers C., McMurray J. J., Swedberg K. et al. Impact of candesartan on nonfatal myocardial infarction and cardiovascular death in patients with heart failure / JAMA. 2005. Vol. 294. P. 1794-1798;

63. Granger B. B., Swedberg K., Ekman I. et al. Adherence to candesartan and placebo and outcomes in chronic heart failure in the CHARM programme: double-blind, randomised, controlled clinical trial / Lancet. 2005. Vol. 366. P. 2011.

64. McMurray J., Solomon S., Pieper K. et al. The effect of valsartan, captopril, or both on atherosclerotic events after acute myocardial infarction: an analysis of the Valsartan in Acute Myocardial Infarction Trial (VALIANT) / J. Am. Coll. Cardiol. 2006. Vol. 47. P. 726 -733.

65. Wolf G. The road not taken: role of angiotensin II type 2 receptor in pathophysiology / Nephrol. Dial. *Transplant.* 2002. Vol. 17. P. 195-198.

66. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Management of Blood Pressure in Chronic Kidney Disease / Kidney international supplements. 2012. Vol. 2. P. 337-414.

67. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease / Kidney Am. J. Disease. 2007. Vol. 49, Suppl. 2. P. 1S-179S.

68. Lindholm L. H., Ibsen H., Dahlof B. et al. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with diabetes in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomized trial against atenolol / Lancet. 2002. Vol. 359. P. 1004-1010.

69. Lithell H., Hansson L., Skoog I. et al. The Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE): principal results of a randomized double-blind intervention trial / *J. Hypertens.* 2003. Vol. 21. P. 875-886.

70. Rayner B. Comments. Telmisartan shown to reduce cardiovascular death, myocardial infarction and stroke in ACE-intolerant high-risk patients / *Cardiovascular Journal of South Africa.* 2008. advance publication 10 September. P. 1.

71. Julius S., Kjeldsen S. E., Weber M. Outcomes in hypertensive patients at high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan or amlodipine: the VALUE randomised trial / Lancet. 2004. Vol. 363. P. 2022-2031.

72. Kim M. P., Zhou M., Wahl L. M. Angiotensin II increases human monocyte matrix etalloproteinase-1 through the AT2 receptor and prostaglandin E2: implications for atherosclerotic plaque rupture / J. Leukoc. Biol. 2005. Vol. 78. P. 195-201.

73. Lévy B. Can Angiotensin II Type 2 Receptors Have Deleterious Effects in Cardiovascular Disease? Implications for Therapeutic Blockade of the Renin-Angiotensin System / Circulation. 2004. Vol. 109. P. 8-13.

74. Vacanti L. Could angiotensin receptor blockers and activation of At2 induce plaque rupture, rather than repair? / BMJ. 2004. rapid Response (23 Dec. 2004).

75. Julius S., Kjeldsen S. E., Weber M. et al. Outcomes in hypertensive patients at high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan or amlodipine: the VALUE randomised trial / Lancet. 2004. Vol. 363. P. 2022-2031.

76. Strauss M., Lonn E., Verma S. Is the jury out? Class specific differences on coronary outcomes with ACE-inhibitors and ARBs: insight from meta-analysis and The Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration / *European Heart Journal.* 2005. Vol. 26. P. 2351-2353.

77. Strauss M., Hall A. Angiotensin Receptor Blockers May Increase Risk of Myocardial Infarction: Unraveling the ARB-MI Paradox / Circulation. 2006. Vol. 114. P. 838-854.

78. Strippoli G. F., Craig M., Deeks J. J., Schena F. P., Craig J. C. Effects of angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor antagonists on mortality and renal outcomes in diabetic nephropathy: systematic review / BMJ. 2004. Vol. 9, 329. P. 828.

79. Fitchett D. Results of the ONTARGET and TRANSCEND studies: an update and discussion / Vascular Health and Risk Management. 2009. Vol. 5. P. 21-29.

80. The ONTARGET Investigators. Telmisartan, Ramipril, or Both in Patients at High Risk for Vascular Events / New Engl. J. Med. 2008. Vol. 358. P. 1547-59.

81. Настанова та клінічний протокол надання медичної допомоги «Артеріальна гіпертензія». Наказ МОЗ України № 384 від 24.05.2012. Київ, 2012. 107 с.

82. Gu Q., Burt V., Dillon C., Yoon S. Trends in Antihypertensive Medication Use and Blood Pressure Control Among United States Adults With Hypertension: The National Health and Nutrition Examination Survey, 2001 to 2010 / Circulation. 2012. Vol. 126. P. 2105-2114.

83. Кузнецов В. И., Стуров Н. В. Применение ингибиторов АПФ и блокаторов рецепторов ангиотензина II (сартанов) в общей врачебной практике / ЗВ. 2010. №2. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/primenenie-ingibitorov-apf-i-blokatorov-retseptorov-angiotenzina-ii-sartanov-v-obschey-vrachebnoy-praktike (дата обращения: 04.01.2021).

84. Rodrigo R, González J, Paoletto F. The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. *Hypertens Res.* 2011 34. P. 431–40.

85. Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: What is the clinical significance? *Hypertension.* 2004.44. P. 248–52.

86. Touyz RM. Reactive oxygen species and angiotensin II signaling in vascular cells: Implications in cardiovascular disease. Braz J Med Biol Res. 2004. 37. P. 1263–73.

87. Rauf A., Imran M., Khan I. A., Ur-Rehman M. Anticancer potential of quercetin: A comprehensive review. *Phytother*. Res. 2018. 32. P. 2109–2130. URL: http://10.1002/ptr.6155 (date of application: 04.01.2021).

88. Almeida A. F., Borge G. I. A., Piskula M., Tudose A. Bioavailability of Quercetin in Humans with a Focus on Interindividual Variation. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 2018. 17. P. 714–731. URL: http://10.1111/1541-4337.12342 (date of application: 04.01.2021).

89. David A., Arulmoli R., Parasuraman S. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. Pharmacogn. Rev. 2016. 10. P. 84–89.

90. Anand David A. V., Arulmoli R., Parasuraman S. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. Pharmacogn. Rev. 2016. 10. P. 84–89.

91. Xu D., Hu M. J., Wang Y. Q., Cui Y. L. Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules*. 2019. 24(6). P. 1123.

92. Xie X., Shen Q., Cao L., Chen Y. Depression caused by long-term stress regulates premature aging and is possibly associated with disruption of circadian rhythms in mice. *Physiol.* Behav. 2019. 199. P. 100–110.

93. Halevas E. Encapsulation of flavonoid quercetin in PEGylated SiO_2 nanoparticles against Cu (II)-induced oxidative stress. Hell. *J. Nucl. Med.* 2017. 20. P. 156–168.

94. Halevas E. Encapsulation of flavonoid quercetin in PEGylated SiO_2 nanoparticles against Cu (II)-induced oxidative stress. Hell. *J. Nucl. Med.* 2017. 20. P, 156–168.

95. Aytac Z., Kusku S. I., Durgun E., Uyar T. Quercetin/β-cyclodextrin inclusion complex embedded nanofibres: Slow release and high solubility. *Food Chem.* 2016. 197. P. 864–871.

96. Liao H., Tang M., Luo L., Li C., Chiclana F. A bibliometric analysis and visualization of medical big data research. Sustainability. 2018. 10. P.166.

97. Kobori M., Takahashi Y., Akimoto Y., Sakurai M. Chronic high intake of quercetin reduces oxidative stress and induces expression of the antioxidant enzymes in the liver and visceral adipose tissues in mice. J. Funct. Foods. 2015. 15. P. 551–560.

98. Kinaci M. K., Erkasap N., Kucuk A., Koken T. Effects of quercetin on apoptosis, NF-κB and NOS gene expression in renal ischemia/reperfusion injury. Exp. Ther. Med. 2012. 3. P. 249–254.

99. Gao W. N., Pu L. L., Chen M., Wei J. Y. Glutathione homeostasis is significantly altered by quercetin via the Keapl/Nrf2 and MAPK signaling pathways in rats. J. *Clin. Biochem*. Nutr. 2018. 62. P. 56–62.

100. Ademosun A. O., Oboh G., Bello F., Ayeni P. O. Antioxidative Properties and Effect of Quercetin and Its Glycosylated Form (Rutin) on Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Activities. J. Evid. Based Complement. Altern. Med. 2016. 21. P. Np11–Np17. URL: http://10.1177/2156587215610032 (date of application: 04.01.2021).

101. Chen B. H., Park J. H., Ahn J. H., Cho J. H. et al. Pretreated quercetin protects gerbil hippocampal CA1 pyramidal neurons from transient cerebral ischemic injury by increasing the expression of antioxidant enzymes. Neural Regen. Res. 2017. 12. P. 220–227.

102. Braun K. F., Ehnert S., Freude T., Egana J. T. et al. Quercetin protects primary human osteoblasts exposed to cigarette smoke through activation of the antioxidative enzymes HO-1 and SOD-1. Sci. World J. 2011. 11. P.2348–2357.

103. Akkoyun D. C., Akyuz A., Dogan M., Erboga M. Quercetin Inhibits Heart Injury in Lipopolysaccharide-induced Endotoxemic Model by Suppressing the Effects of Reactive Oxygen Species. Anal. Quant. *Cytopathol. Histopathol.* 2016. 38. P. 183–188.

104. Song Y., Liu J., Zhang F., Zhang J. Antioxidant effect of quercetin against acute spinal cord injury in rats and its correlation with the p38MAPK/iNOS signaling pathway. Life Sci. 2013. 92. P. 1215–1221.

105. Chen H., Lu C., Liu H., Wang M. Quercetin ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice via the NF-κB pathway. Int. *Immunopharmacol.* 2017. 48. P. 110–117.

106. Ung C. H., Chan S. H., Chu P. M., Tsai K. L. Quercetin is a potent anti-atherosclerotic compound by activation of SIRT1 signaling under oxLDL stimulation. Mol. Nutr. Food Res. 2015. 59. P. 1905–1917.

107. Lu X. L., Zhao C. H., Yao X. L., Zhang H. Quercetin attenuates high fructose feeding-induced atherosclerosis by suppressing inflammation and apoptosis via ROS-regulated PI3K/AKT signaling pathway. *Biomed. Pharmacother.* 2017. 85. P. 658–671;

108. Du L., Hao M., Li C., Wu W. et al. Quercetin inhibited epithelial mesenchymal transition in diabetic rats, high-glucose-cultured lens, and SRA01/04 cells through transforming growth factor-beta2/phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. Mol. Cell. Endocrinol. 2017. 452. P. 44–56.

109. Li B., Yang M., Liu J. W., Yin G. T. Protective mechanism of quercetin on acute myocardial infarction in rats. Genet. Mol. Res. 2016. 15. P. 15017117. URL: http://10.4238/gmr.15017117 (date of application: 04.01.2021).

110. Jing Z. H., Wang Z. R., Li X. J., Li X. T. et al. Protective Effect of Quercetin on Posttraumatic Cardiac Injury. Sci. Rep. 2016. 6. P. 30812. URL: http://10.1038/srep30812 (date of application: 04.01.2021).

111. Park S. M., Hong M. K., Kim S. H., Jung S. Comparison of Efficacy between Ramipril and Carvedilol on Limiting the Expansion of Abdominal Aortic Aneurysm in Mouse Model. J Cardiovasc Pharmacol Ther. 2019. Mar. 24(2). P. 172-181. URL: http://10.1177/1074248418798631 . Epub 2018. Sep 13. PMID: 30213197.

112. Walczak-Gałęzewska M., Szulińska M., Miller-Kasprzak E., Pupek-Musialik D. The effect of nebivolol and ramipril on selected biochemical parameters, arterial stiffness, and circadian profile of blood pressure in young men with primary

hypertension: A 12-week prospective randomized, open-label study trial. Medicine (Baltimore). 2018. Jul. 97(30). P. e11717. URL: http://10.1097/MD.0000000000011717 (date of application: 04.01.2021). PMID: 30045336. PMCID: PMC6078720.

113. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. / За ред. Стефанова О. В. Київ: Авіцена. 2001. 528 с.

114. Simone F. Biotechnology, animal health and animal welf arewithin the framework of European Unionlegislation / F. Simone, J. Serratosa / Rev. Sci. Tech. Oie. 2005. Vol. 24 (1). P. 89–99.

115. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. //За ред. Стефанова О. В. Київ: Авіцена. 2001. 528 с.

116. Современные подходы и новые методические возможности в оценке функционального состояния мелких лабораторных животных. Ю. М. Колесник, О. В. Ганчева, А. В. Абрамов и др. *Патология*. 2017. Т. 3(41). С. 364–370.

117. ЧАС ЗГОРТАННЯ КРОВІ. URL: https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/73/chas-zgortannya-krovi (дата звернення: 03.01.2021).

118. Кухарчук О. Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормональномесенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок. Автореф. дис. д-ра мед. наук: 14.00.60 / Кухарчук О. Л. — Одеса, 1996. –36 с.

119. Коваленко С. В., Дорофєєв А. Е.. Активність фібринолітичної та протеолітичної систем крові у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень та бронхіальну астму. *Український пульмонологічний журнал.* 2012. №3. С. 35-37.

120. Тиц Н. Энциклопедия клинических лабораторних тестов / Под ред. Меншикова В. В. — Москва: Лабинформ,1997.960 с.

121. Камышников В. С. Справочник по клинико–биохимической лабораторной диагностике / Минск: Беларусь, 2000. 168 с.

122. Клінічна біохімія / Бойків Д. П., Бондарчук Т. І., Іванків О. Л. та ін. ; за ред. Склярова О. Я.К. : Медицина, 2006. 432 с.

123. Metelskaya V. A., Gumanova N. G. Screening Method forDetermining the Level of Nitric Oxide Metabolites in Blood Serum.Clinical Laboratory Diagnostics. 2015. 6. P. 15–18.

124. Harbaum L., Ghataorhe P., Wharton J., et al. Reduced plasma levels of small HDL particles transporting fibrinolytic proteins in pulmonary arterial hypertension. *Thorax*. 2019. 74(4). P. :380-389. DOI:

125. Sesso H. D., Jiménez M. C., Wang L., Ridker P. M. Plasma Inflammatory Markers and the Risk of Developing Hypertension in Men. *J Am Heart Assoc*. 2015. 4(9). P. e001802. Published 2015 Sep 21. URL: http://10.1161/JAHA.115.001802 .

126. Spinthakis N., Gue Y., Farag M., et al. Impaired endogenous fibrinolysis at high shear using a point-of-care test in STEMI is associated with alterations in clot architecture. *J Thromb Thrombolysis*. 2019. 47(3). P. 392-395. DOI: http://10.1007/s11239-018-01799-1 (date of application: 04.01.2021).

127. Le A., Zhang L., Liu W., Li X., Ren J., Ning A. A case control study on the structural equation model of the mechanism of coagulation and fibrinolysis imbalance in chronic schistosomiasis. *Medicine (Baltimore)*. 2017. 96(7). P. e6116. URL: http://10.1097/MD.0000000000006116 (date of application: 04.01.2021).

128. Chang X., Zhang T., Zhang W., Zhao Z. Natural Drugs as a Treatment Strategy for Cardiovascular Disease through the Regulation of Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev*. 2020. P. :5430407. Published 2020 Sep 27. URL: http://10.1155/2020/5430407

129. Hendrix J., Nijs J., Ickmans K., Godderis L. The Interplay between Oxidative Stress, Exercise, and Pain in Health and Disease: Potential Role of Autonomic Regulation and Epigenetic Mechanisms. *Antioxidants (Basel)*. 2020. 9(11). P. 1166. Published 2020. Nov 23. URL: http://10.3390/antiox9111166 (date of application: 04.01.2021).

130. Пархоменко А. Н., Кожухов С. Н. Результаты открытого рандомизированного исследования по изучению переносимости

и эффективности препарата Корвитин® у пациентов с застойной сердечной недостаточностью и систолической дисфункцией левого желудочка. *Український медичний часопис*. 2014. №4 (102) URL: http://https://www.umj.com.ua/article/78368/rezultaty-otkrytogo-randomizirovannogo-issledovaniya-po-izucheniyu-perenosimosti-i-effektivnosti-preparata-korvitin (дата обращения: 04.01.2021).

131. Корвітин® – нові можливості відомого препарату крізь призму досліджень URL: https://health-ua.com/multimedia/userfiles/files/2019/Cardio_4_2019/Cardio_4_2019_str_37.pdf (дата звернення: 04.01.2021).

132. Gross O., Tönshoff B., Weber L. T., Pape L. German Pediatric Nephrology (GPN) Study Group and EARLY PRO-TECT Alport Investigators. A multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind phase 3 trial with open-arm comparison indicates safety and efficacy of nephroprotective therapy with ramipril in children with Alport's syndrome. Kidney Int. 2020. 97(6). P. 1275-1286.

133. Borghi C., Omboni S., Novo S., Vinereanu D. Efficacy and Safety of Zofenopril Versus Ramipril in the Treatment of Myocardial Infarction and Heart Failure: A Review of the Published and Unpublished Data of the Randomized Double-Blind SMILE-4 Study. Adv Ther. 2018. May.35(5). P. 604-618.

134. Amat-Santos I. J., Santos-Martinez S., López-Otero D., Nombela-Franco L. Ramipril in High-Risk Patients With COVID-19. J Am Coll Cardiol. 2020. Jul 21. 76(3)/ P. 268-276. URL: http://10.1016/j.jacc.2020.05.040 (date of application: 04.01.2021). Epub 2020. May 26. PMID: 32470515. PMCID: PMC7250557.

135. Torika N., Asraf K., Apte R. N., Fleisher-Berkovich S. Candesartan ameliorates brain inflammation associated with Alzheimer's disease. CNS Neurosci Ther. 2018. Mar. 24(3). P. 231-242.

136. Lund L. H., Claggett B., Liu J., Lam C. S. Heart failure with mid-range ejection fraction in CHARM: characteristics, outcomes and effect of candesartan across the entire ejection fraction spectrum. Eur J Heart Fail. 2018. Aug. 20(8). P. 1230-1239.

137. Hajjar I., Okafor M., McDaniel D., Obideen M., Dee E. Effects of Candesartan vs Lisinopril on Neurocognitive Function in Older Adults With Executive Mild Cognitive Impairment: A Randomized Clinical Trial. JAMA Netw Open. 2020. Aug 3. 3(8). P. :e2012252. URL: http://10.1001/jamanetworkopen.2020.12252 (date of application: 04.01.2021). PMID: 32761160. PMCID: PMC7411539.

138. Adults With Executive Mild Cognitive Impairment: A Randomized Clinical Trial. JAMA Netw Open. 2020. Aug 3. 3(8). P. e2012252. URL: http://10.1001/jamanetworkopen.2020.12252 (date of application: 04.01.2021). PMID: 32761160. PMCID: PMC7411539.

139. Messerli F. H., Bangalore S., Bavishi C., Rimoldi S. F. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Hypertension: To Use or Not to Use? J Am Coll Cardiol. 2018. Apr 3. 71(13). P. 1474-1482. URL: http://10.1016/j.jacc.2018.01.058 (date of application: 04.01.2021). PMID: 29598869.

140. Kuwana M., Blair C., Takahashi T., Langley J. Initial combination therapy of ambrisentan and tadalafil in connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension (CTD-PAH) in the modified intention-to-treat population of the AMBITION study: post hoc analysis. Ann Rheum Dis. 2020. May. 79(5). P. 626-634. URL: 10.1136/annrheumdis-2019-216274 (date of application: 04.01.2021). Epub 2020. Mar 11. Erratum in: Ann Rheum Dis. 2020. Sep. 79(9). P. e118. PMID: 32161055. PMCID: PMC7213337.

141. Carey R. M., Whelton P. K.; 2017 ACC/AHA Hypertension Guideline Writing Committee. Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: Synopsis of the 2017 American College of Cardiology/American Heart Association Hypertension Guideline. Ann Intern Med. 2018. Mar 6. 168(5). P. 351-358. URL: http://10.7326/M17-3203 . Epub 2018. Jan 23. PMID: 29357392.

142. Остроумова О. Д., Шапошник И..И., Пауков С..В. и др. Комбинированная терапия артериальной гипертонии: что нового? / *Рус. мед. журнал.* 2007. №15(№20). С. 1466-1470.

143. Thenappan T., Ormiston M. L., Ryan J. J., Archer S. L. Pulmonary arterial hypertension: pathogenesis and clinical management. BMJ. 2018. Mar 14. 360. P.

j5492. URL: http://10.1136/bmj.j5492 (date of application: 04.01.2021). PMID: 29540357. PMCID: PMC6889979.

144. Jordan J., Kurschat C., Reuter H. Arterial Hypertension. Dtsch Arztebl Int. 2018. Aug 20. 115(33-34). P. 557-568. URL: http://10.3238/arztebl.2018.0557 PMID: 30189978. PMCID: PMC6156553.

145. Kossmann S., Lagrange J., Jäckel S., Jurk K. Platelet-localized FXI promotes a vascular coagulation-inflammatory circuit in arterial hypertension. Sci Transl Med. 2017. Feb 1. 9(375). P. eaah4923. URL: http://10.1126/scitranslmed.aah4923 (date of application: 04.01.2021). PMID: 28148841.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Марущак А. В., Шоріков Є. І., Шорікова Д. В., Тимофійчук І. Р., Гайдичук В. С. Зміни пероксидного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в спонтанно-гіпертензивних щурів під час експериментального лікування раміприлом та кандесартаном. *Медична та клінічна хімія.* 2016. Т. 18 № 1. С. 5-51. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i1.6183 (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів, оформлення статті).

2. Марущак А. В. Особливості змін показників фібринолізу і протеолізу у спонтанно-гіпертензивних щурів за умови лікування раміприлом. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2016. № 11 (3). С. 87-91. (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті).

3. Maruschak A. V. Lipid peroxidation and state of antioxidant protection in spontaneously hypertensive rats during and experimental treatment ramipril and candesartan. *The unity of science: International scientific periodical journal*. 2016. № 3. P. 131-134. (Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів, оформлення статті та аналіз літератури).

4. Марущак А. В., Шоріков Є. І., Тимофійчук І. Р. Особливості впливу лікування раміприлом і кандесартаном коротко і довготривалої дії на показники рівня метаболітів монооксиду нітрогену у щурів серії SHR. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2017. № 12 (2). С. 21-6. (Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів, оформлення статті та аналіз літератури).

5. Maruschak A. V. The impact of modern antihypertensive drugs on microcirculation in patients with arterial hypertension. *The unity of science: International scientific periodical journal*. 2017. № 3. P. 84-87. (Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів, оформлення статті та аналіз літератури).

6. Maruschak A. V., Shorikova D. V., Shorikov E. I., Tymofiychuk I. R. Features changes parameters fibrinolysis and proteolysis in spontaneously hypertensive rats, if treatment Ramipril. *The unity of science: International scientific periodical journal.* 2017. № 1. P.116-118. (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів та оформлення статті).

7. Maruschak A., Shorikov E., Timofiichuk I., Davydenko I., Slobodyan K. Pathomorphology of the myocardium, kidney and liver in spontaneously hypertensive rats treated with short and long-term use ramipril and candesartan. *Georgian medical news.* 2018. № 3 (276). P. 135-43. (Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів досліджень).

8. Maruschak A. V., Shorikov E. I. Pharmacoeconomic analysis of the use of ramipril and candesartan in patients with arterial hypertension. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science».* 2018. № 3 (13). С. 8-13. (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів та оформлення статті).

9. Maruschak A. V. Hypertension models spontaneously hypertensive rats. *International scientific-practical congress «Mind technologies: investments in innovation».* 2018. № 1. P. 94-97. (Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів досліджень).

10. Maruschak A. V., Shorikov E. I., Shorikova D. V., Tymofiychuk I. R., Savchyk T.P. Influence of candesartan on the activity of free radical lipid peroxidation in rats with congenital arterial hypertension. *International scientific-practical congress «Mind technologies: investments in innovation».* 2018. № 1. P. 98-104. (Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів досліджень).

11. Maruschak A. V. Short and long-term use of candesartan and ramipril in spontaneously hypertensive rats, liver, kidney and heart morphology. *Journal of pharma research.* 2019. № 8 (1). P. 15-21. (Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів).

12. Maruschak A. V., Rogovyi Y. YE., Shvets V. I., Doroshko V. A., Savchuk T. P. Morphological changes in tissues of shr series bodies treatments with treatment of hypotensive medicines with ramipril and candesarthan) in combination with corvitin. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2020. № 1 (23). С. 39-44. (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів досліджень).

13. Maruschak A. V., Rogovyi Y. YE., Savchuk T. P. Changes in the prooxidative-antioxidant system in shr series rats with treatment of hypotensive medicines (ramipril and candesartane) in combination with corvitin. *Ukrainian scientific medical youth journal: наук.-практ. вид.* / Нац. мед. ун-т ім. О. О. Богомольця. – Київ: 2020. № 1. С. 27-36. DOI: https://doi.org/10.32345/USMYJ.1(115).2020.27-36 (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, оформлення статті).

14. Спосіб лікування артеріальної гіпертензії, поєднаної з ішемічною хворобою серця, у спонтанно-гіпертензивних щурів: пат. № 111343 на корисну модель Україна № u 201604140 / А. В. Марущак, Є. І. Шоріков, І. Р. Тимофійчук; заявл. 15.04.2016; опубл. 10.11.2016, Бюл. № 21. (Особистий внесок – відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення патенту).

15. Марущак А. В., Шоріков Є. І. Оптимізація схем фармакотерапії хворих на артеріальну гіпертензію шляхом проведення фармакоекономічного аналізу використання інгібітора АПФ раміприлу. *Українські медичні вісті*: *матеріали XV конгресу СФУЛТ*, м. Чернівці-Київ-Чікаго, 16-18 жовтня, 2014р. Чернівці, 2014. № 11 (1-4). С. 487. (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення тез).

16. Shanker M., Marushchak A. A complex primary prophylaxis is a fight against arterial hypertension and cardiovascular diseases. *Хист: всеукраїнський медичний журнал молодих вчених,* м. Чернівці, 2015р. Т. 17. С. 141. (Особистий

внесок – аналіз літератури, підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення тез).

17. Марущак А. В., Шоріков Є. І., Шорікова Д. В., Тимофійчук І. Р. Зміни пероксидного окислення ліпідів та стану антиоксидантного захисту у спонтанно-гіпертензивних щурів. *Актуальні питання клінічної медицини: матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф. молодих вчених*; м. Запоріжжя, 30 листопада 2015р. Запоріжжя, 2015. С. 72-73. (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення тез).

18. Bonto M., Marushchak A., Amoah N. Changes in lipid peroxidation and antioxidant protection in spontaneousl hypertensive rats. *Хист. всеукраїнський медичний журнал молодих вчених,* м. Чернівці, 2016р. Т. 18. С. 365. (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення тез).

19. Марущак А. В., Шоріков Є. І. Зміни пероксидного окислення ліпідів та стану антиоксидантного захисту в спонтанно-гіпертензивних щурів під час експериментального лікування раміприлом та кандесартаном. *Актуальні питання теоретичної та практичної медицини: зб. тез доповідей IV міжнародної наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених*; м. Суми, 21-22 квітня 2016р. Суми, 2016. С. 69-70. (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення тез).

20. Марущак А. В., Шоріков Є. І., Шорікова Д. В. Пероксидне окислення ліпідів та стан антиоксидантного захисту в спонтанно-гіпертензивних щурів. *Українські медичні вісті*: матеріали XVI конгресу Світової Федерації Українських Лікарських Товариств, м. Берлін-Київ, 18-23 серпня, 2016р. Одеса, 2016. С. 209. (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення тез).

21. Марущак А. В., Шоріков Є. І. Ендокринна регуляція активності брадикінінів у спонтанно-гіпертензивних щурів лінії SHR при лікуванні

раміприлом і кандесартаном коротко та довготривалої дії. *Вікові та хронобіологічні аспекти медицини та фармації:* матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю м. Чернівці 4-5 жовтня 2018р. Чернівці, 2018. С. 75-77. (Особистий внесок – аналіз літератури, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів та оформлення тез).

Продовження додатку А

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях:

1. XV конгрес Світової Федерації Українських Лікарських Товариств: «Оптимізація схем фармакотерапії хворих на артеріальну гіпертензію шляхом проведення фармакоекономічного аналізу використання інгібітора АПФ раміприлу» (Чернівці-Київ-Чікаго 16-18 жовтня 2014 р., форма участі – публікація тез);
2. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Актуальні питання клінічної медицини»: «Зміни пероксидного окислення ліпідів та стану антиоксидантного захисту у спонтанно-гіпертензивних щурів» (м. Запоріжжя, 30 жовтня 2015 р., форма участі – публікація тез);
3. XVI конгрес Світової Федерації Українських Лікарських Товариств: «Пероксидне окислення ліпідів та стан антиоксидантного захисту в спонтанно-гіпертензивних щурів» (Берлін-Київ. Одеса, 8-23 серпня 2016 р., форма участі – публікація тез);
4. IV міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих учених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини»: «Зміни пероксидного окислення ліпідів та стану антиоксидантного захисту в спонтанно-гіпертензивних щурів під час експериментального лікування раміприлом та кандесартаном» (м. Суми 21-22 квітня 2016 р., форма участі – публікація тез);
5. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Вікові та хронобіологічні аспекти медицини та фармації»: «Ендокринна регуляція активності брадикінінів у спонтанно-гіпертензивних щурів лінії SHR при лікуванні раміприлом і кандесартаном коротко та довготривалої дії» (м. Чернівці 4-5 жовтня 2018 р., форма участі – публікація тез);

Додаток Б
Патенти та акти впровадження за темою дисертації

УКРАЇНА

(19) UA (11) 111343 (13) U

(51) МПК (2016.01)
A61K 31/00
A61P 9/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 04140**
(22) Дата подання заявки: **15.04.2016**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.11.2016**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.11.2016, Бюл.№ 21**

(72) Винахідник(и):
Марущак Альона Василівна (UA),
Шоріков Євген Іванович (UA),
Тимофійчук Інга Романівна (UA)

(73) Власник(и):
ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ "БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ",
пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ, ПОЄДНАНОЇ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ, У СПОНТАННО-ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ

(57) Реферат:

Спосіб лікування артеріальної гіпертензії, поєднаної з ішемічною хворобою серця, у спонтанно-гіпертензивних щурів шляхом призначення базисної терапії та додатково до неї препарату групи інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту. Додатково до базисної терапії призначають препарати раміприл в дозі 5 мг 1 раз на добу та кандесартан в дозі 4 мг 1 рази на добу.

UA 111343 U

Продовження додатку Б

UA 111343 U

Продовження додатку Б

UA 111343 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до терапії, кардіології, клінічної імунології та сімейної медицини, і може бути використана для оцінки тяжкості перебігу артеріальної гіпертензії, поєднаної з ішемічною хворобою серця.

Вивчення особливостей стану проокисно-антиоксидантної системи щурів серії SHR при використанні препаратів інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту (АПФ) короткотривалої дії, в яких відбувається наростання процесів пероксидації при одночасному зниженні активності антиоксидантних ферментів у щурів серії SHR, а також існують реґіонарні особливості впливу вищезазначених препаратів на рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів і активність ферментів антиоксидантного захисту.

Щорічно у світі реєструється 3 млн летальних випадків унаслідок артеріальної гіпертензії (АГ), асоційованих із нею захворювань та ускладнень, таких як інсульт, ішемічна хвороба серця (ІХС), серцева недостатність. Аналіз загальної смертності населення України свідчить, що 65 % становить смертність від ІХС та цереброваскулярних порушень. У осіб із високим артеріальним тиском у 3-4 рази частіше розвивається ІХС та в 7 разів частіше порушення мозкового кровообігу. Серед осіб із підвищеним артеріальним тиском знають про наявність захворювання 63 % хворих, з них лікуються лише 38 %, причому ефективно тільки 14 %.

За останні роки дослідниками вирощені спеціальні трансгенні лінії щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією (SHR), що є адекватною моделлю даного захворювання у людей. З цією патологією тварини народжуються, що розширило можливість експериментального вивчення як патогенетичних механізмів розвитку артеріальної гіпертензії, так і можливості її фармакокорекції. Спонтанно-гіпертензивні щури лінії SHR в перші тижні життя мають нормальний артеріальний тиск. У щурів цієї лінії підвищений артеріальний тиск спостерігається у віці 4-12-ти тижнів. Гіпертензія виникає без видимих причин в 100 % випадків і передається по спадковості. По мірі старіння тварин рівень артеріального тиску підвищується, розвивається гіпертрофія міокарда.

На сьогодні про АГ можна говорити як про неінфекційну епідемію, що охопила населення всієї планети у XX ст. Приблизно третина всього дорослого населення світу страждає від підвищеного артеріального тиску (АТ). АГ посідає перше місце за внеском у смертність від серцево-судинних захворювань і формує основу для розвитку багатьох серцево-судинних захворювань та ускладнень. За результатами досліджень Міжнародного товариства по вивченню АГ, близько 54 % всіх інсультів, 47 % випадків ІХС і 25 % інших серцево-судинних захворювань обумовлені наявністю гіпертензії. У поєднанні з такими 10 поширеними факторами ризику як дисліпідемія, надлишкова маса тіла, паління, гіподинамія АГ є причиною не менше 70-75 % всіх інсультів і 80-90 % випадків ІХС. Поєднання АГ та ІХС, яке зустрічається більше, ніж у 60 % пацієнтів, значно підвищує ризик таких загрозливих для життя ускладнень, як інфаркт міокарда, інсульт, серцева недостатність. Поширеність АГ у молодому віці нижча, ніж у осіб похилого віку, але чим раніше вона розвивається, тим суттєвіше впливає на тривалість життя, зменшуючи його. Відомо, що очікувана тривалість життя чоловіка, у якого у віці 35 років рівень АТ 120/80 мм рт. ст., складає 76 років, в той час, як при значеннях 150/100 мм рт. ст. - лише 55 років (при відсутності лікування).

Найближчим аналогом є спосіб лікування ішемічної хвороби серця та артеріальної гіпертензії (Патент №39049 від 26.01.2001, 15.05.2001, бюл. № 4), в якому хворим при наявності у них АГ, поєднаної з ІХС призначають базисну терапію (метопролол (корвітол) в дозі 25 мг 2 рази на добу, аспірин в дозі 160 мг 1 раз на добу) і додатково призначають препарат групи інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту еналаприл в дозі 10 мг 2 рази на добу.

В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалити спосіб лікування артеріальної гіпертензії, поєднаної з ішемічною хворобою серця у спонтанно-гіпертензивних щурів шляхом додаткового призначення до базисної терапії препаратів групи інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту - раміприл та кандесартан.

Спільними ознаками аналога та корисної моделі є призначення базисної терапії та додатково до неї препарату групи інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту.

Відмінними ознаками корисної моделі від аналога є те, що додатково до базисної терапії призначають раміприл та кандесартан.

Теоретичні передумови здійснення корисної моделі.

У базисну терапію при лікуванні АГ, поєднаної з ІХС, входять препарати метопролол (корвітол) в дозі 25 мг 2 рази на добу та аспірин в дозі 160 мг 1 раз на добу.

На кафедрі були проведені дослідження, які показали, що застосування раміприлу та кандесартану для спонтанно-гіпертензивних щурів хворих на АГ у поєднанні з ІХС призвело до наступних змін:

Продовження додатку Б

UA 111343 U

- у серці: зниження рівня каталази в 1,1 рази, зростання рівня глутатіону в 1,7 рази; а застосування кандесартану призвело до зниження рівня малонового альдегіду в 2,2 рази та зростання рівня глютатіону в 1,9 рази.

- у печінці: зниження рівня малонового альдегіду в 1,4 рази та незначне зниження рівня каталази в 1,2 рази, а також зростання рівня глютатіону відновленого в 1,24 рази; а застосування кандесартану призвело до незначного зниження рівня каталази;

- у нирках: зниження рівня малонового альдегіду в 1,7 рази та зростання рівня глютатіон пероксидази в 1,1 рази при незмінній активності ферментів антиоксидантного захисту.

Спосіб здійснюється наступним чином.

Спонтанно-гіпертензивним щурам при лікуванні АГ, поєднаної з ІХС проводять базисну терапію (призначають метопролол (корвітол) в дозі 25 мг 2 рази на добу та аспірин в дозі 160 мг 1 раз на добу) та додатково до неї призначають препарати групи інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту - раміприл в дозі 5 мг 1 раз на добу та кандесартан в дозі 4 мг 1 раз на добу.

Приклади використання корисної моделі.

За допомогою запропонованого способу було проліковано 20 спонтанно гіпертензивних щурів (лінії SHR, хворих на АГ, поєднаною з ІХС) масою 248,0-431,0 г (розплідник лабораторних тварин "Біомодельсервіс", м. Київ). У період акліматизації після перевезення з розплідника (2 тижні) та упродовж лікування щури знаходилися у віварії при 20-25 °С, вологості не більше 50 %, природному світловому режимі "день-ніч" у стандартних пластикових клітках на стандартному харчовому раціоні. Отримані дані лікування представлені в таблицях 1, 2, 3. В кожній із представлених таблиць порівнюється вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту в серці (табл. 1), в печінці (табл. 2) та в нирках (табл. 3) для здорових щурів звичайної лінії та для щурів лінії SHR, пролікованих запропонованим способом.

Таблиця 1

Порівняння даних вмісту продуктів переписного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту в серці щурів звичайної лінії та щурів лінії SHR

Стать щурів	Малоновий альдегід (ммоль/л)	Глутатіон відновлений (ммоль/л)	Глутатіон-пероксидаза (ммоль/л)	Каталаза (ммоль/л)
Щури звичайної лінії				
жіноча стать	0,056±0,002	0,07±0,002	0,728±0,017	0,508±0,041
чоловіча стать	0,059±0,001	0,08±0,001	0,725±0,019	0,503±0,043
Щури лінії SHR				
жіноча стать	0,056±0,004	0,065±0,007	0,725±0,024	0,509±0,012
чоловіча стать	0,055±0,002	0,075±0,004	0,728±0,048	0,510±0,012
Щури лінії SHR, проліковані з призначенням раміприлу				
жіноча стать	0,051±0,001	0,12±0,009	0,645±0,005	0,472±0,036
чоловіча стать	0,047±0,001	0,13±0,003	0,648±0,002	0,488±0,042
Щури лінії SHR, проліковані з призначенням кандесартану				
жіноча стать	0,029±0,001	0,12±0,004	0,662±0,05	0,414±0,02
чоловіча стать	0,032±0,001	0,13±0,002	0,667±0,05	0,418±0,02
Примітка: рівень значущості P<0,05.				

Таблиця 2

Порівняння даних вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту в печінці щурів звичайної лінії та щурів лінії SHR

Стать щурів	Малоновий альдегід (ммоль/л)	Глутатіон відновлений (ммоль/л)	Глутатіон-пероксидаза (ммоль/л)	Каталаза (ммоль/л)
Щури звичайної лінії				
жіноча стать	0,134±0,012	0,44±0,82	0,642±0,098	0,582±0,011
чоловіча стать	0,138±0,02	0,48±0,53	0,638±0,048	0,604±0,014

Продовження додатку Б

UA 111343 U

Щури лінії SHR				
жіноча стать	0,131±0,07	0,47±0,012	0,636±0,018	0,591±0,01
чоловіча стать	0,132±0,03	0,46±0,012	0,638±0,014	0,597±0,01
Щури лінії SHR, проліковані з призначенням раміприлу				
жіноча стать	0,097±0,001	0,55±0,07	0,626+0,028	0,549±0,024
чоловіча стать	0,0104±0,004	0,54±0,06	0,630±0,028	0,541±0,02
Щури лінії SHR, проліковані з призначенням кандесартану				
жіноча стать	0,087±0,001	0,64+0,012	0,617±0,007	0,538±0,018
чоловіча стать	0,089±0,004	0,62±0,012	0,614±0,017	0,571±0,018
Примітка: рівень значущості P<0,05.				

Таблиця 3

Порівняння даних вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту в нирках щурів звичайної лінії та щурів лінії SHR

Стать щурів	Малоновий альдегід (ммоль/л)	Глутатіон відновлений (ммоль/л)	Глутатіон-пероксидаза (ммоль/л)	Каталаза (ммоль/л)
Щури звичайної лінії				
жіноча стать	0,215±0,023	0,24±0,012	0,510±0,012	0,485±0,024
чоловіча стать	0,218±0,038	0,26±0,014	0,512±0,018	0,489±0,036
Щури лінії SHR				
жіноча стать	0,127±0,021	0,24±0,012	0,565+0,024	0,489±0,012
чоловіча стать	0,132±0,018	0,26±0,014	0,572±0,028	0,491±0,018
Щури лінії SHR, проліковані з призначенням раміприлу				
жіноча стать	0,182±0,019	0,33±0,014	0,576±0,024	0,443±0,014
чоловіча стать	0,179±0,019	0,32±0,014	0,578±0,024	0,445±0,014
Щури лінії SHR, проліковані з призначенням кандесартану				
жіноча стать	0Д43±0,14	0,43±0,012	0,535±0,024	0,406±0,012
чоловіча стать	0,144±0,14	0,45±0,012	0,539±0,024	0,405±0,012
Примітка: рівень значущості P<0,05.				

З представлених таблиць видно, що дані пролікованих запропонованим способом щурів, наближаються до норми, тобто до даних для здорових щурів звичайної лінії, що вказує на високу ефективність запропонованого способу.

Технічний результат. Запропонований спосіб дозволяє ефективно лікувати спонтанно-гіпертензивних щурів хворих на АГ у поєднанні з ІХС, що вказує на можливість в подальшому використання даного способу для лікування людей.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб лікування артеріальної гіпертензії, поєднаної з ішемічною хворобою серця, у спонтанно-гіпертензивних щурів, що включає призначення базисної терапії та додатково до неї препарату групи інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту, який **відрізняється** тим, що додатково до базисної терапії призначають препарати раміприл в дозі 5 мг 1 раз на добу та кандесартан в дозі 4 мг 1 рази на добу.

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601

Продовження додатку Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
В.о. проректора з науково-педагогічної (навчально-методичної) роботи
Одеського національного медичного університету
д.мед.н., професор Шмакова І.П.
«__6__» «__11__» 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Марущак Альони Василівни
у науково-педагогічний процес

1. **Найменування пропозицій для впровадження:**«Особливості впливу коротко і довготривалого лікування раміприлом і кандесартаном на стан системи монооксиду нітрогену при експериментальній артеріальній гіпертензії».

2. Ким запропоновано: Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», кафедра патологічної фізіології; Чернівці 58002, м. Чернівці, Театральна площа, 2, Марущак А. В.

3. Джерело інформації: Марущак А.В. «Особливості впливу лікування раміприлом і кандесартаном коротко і довготривалої дії на показники рівня метаболітів монооксиду нітрогену у щурів серії shr» / Марущак А.В., Шоріков Є.І., Тимофійчук І.Р. // Український журнал клінічної та лабораторної медицини.- 2017.-Т. 12, № 2, С – 21-26.

4. Де впроваджено: Одеський національний медичний університет, кафедра внутрішньої медицини № 2 з курсом клінічної фармакології.

5.Форма впровадження: науково-дослідна робота.

6. Результати впровадження:використання результатів наукових досліджень Марущак А.В. у науковому та педагогічному процесі дає змогу розширити уявлення про лікування раміприлом і кандесартаном коротко і довготривалої дії на показники рівня метаболітів монооксиду нітрогену у щурів серії shr.

7. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Затверджено на засіданні кафедри внутрішньої медицини №2
з курсом клінічної фармакології
протокол № 4 від 05.11.2018 р.
Завідувач курсу клінічної фармакології
кафедри внутрішньої медицини №2 з курсом клінічної фармакології,
к.мед.н., доцент Стречень С.Б.

Продовження додатку Б

Проректор з науково-педагогічної роботи
Вінницького національного медичного
університету імені М.І. Пирогова
д.мед.н., проф. _____ Ю.Й. Гумінський
«____»«_____» 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Марущак Альони Василівни
у науково-педагогічний процес

1. **Найменування пропозицій для впровадження:**«Особливості змін показників фібринолізу та протеолізу у спонтанно-гіпертензивних щурів за умови лікування раміприлом».

2. Ким запропоновано:Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», кафедра патологічної фізіології; Чернівці 58002, м. Чернівці, Театральна площа, 2, Марущак А. В.

3. Джерело інформації:МарущакА.В. ««Особливості змін показників фібринолізу та протеолізу у спонтанно-гіпертензивних щурів за умови лікування раміприлом» / Марущак А.В./Український журнал клінічної та лабораторної медицини.- 2016.-Т. 11, № 3, С – 87-91.

4. Де впроваджено:Вінницький національний медичний університетімені М.І. Пирогова, кафедра клінічної фармації та клінічної фармакології.

5.Форма впровадження:науково-дослідна робота.

6. Результати впровадження:використання результатів наукових досліджень Марущак А.В. у науковому та педагогічному процесі дає змогу розширити уявлення про стан системи фібринолізу та протеолізу при використання моделі експериментальної артеріальної гіпертензії за умови лікування раміприлом.

7. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Затверджено на засіданні кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології,
протокол № 4 від 06 11 2018 р.

Завідувач кафедри клінічної фармації та
клінічної фармакології
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
д.мед.н., професор Яковлєва О.А.

Продовження додатку Б

Проректор з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного медичного
університету ім. І.Я. Горбачевського
МОЗ України
проф. А.Г Шульгай _____
«_____» «_____» 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Марущак Альони Василівни
у науково-педагогічний процес

1. **Найменування пропозицій для впровадження:** «Метаболічний, антитромботичний та фармакоекономічний потенціал раміприлу та кандесартану у лікуванні артеріальної гіпертензії» (експериментальне дослідження).

2. Ким запропоновано: Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», кафедра патологічної фізіології; Чернівці 58002, м. Чернівці, Театральна площа, 2, Марущак А. В.

3. Джерело інформації: Марущак А.В. «Спосіб лікування артеріальної гіпертензії, поєднаної з ішемічною хворобою серця, у спонтанно-гіпертензивних щурів.» / Марущак А.В., Шоріков Є.І., Тимофійчук І.Р.; Заявник – ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці - № заяви u111343 від 10.11.2016; опубл. 10.11.2016; бюл. № 21/2016.

4. Де впроваджено: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра фармакології з клінічною фармакологією.

5. Форма впровадження: науково-дослідна робота.

6. Результати впровадження: використання результатів наукових досліджень Марущак А.В. у науковому та педагогічному процесі дає змогу розширити уявлення про додаткові фармакологічні властивості раміприлу та кандесартану при лікуванні хворих на артеріальну гіпертензію.

7. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Затверджено на засіданні кафедри фармакології з клінічною фармакологією
протокол № 8 від 3 жовтня 2018 р.

Завідувач кафедри фармакології
з клінічною фармакологією
Тернопільського національного медичного університету
д.мед.наук, професор О.М.Олещук

Продовження додатку Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
В.о. проректора з науково-педагогічної роботи
Одеського національного медичного університету
д.мед.н., професор Вастьянов Р.С.

_____

"___" _____ 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
матеріалів наукових досліджень Марущак Альони Василівни
у науково-педагогічний процес кафедри фармакології Одеського національного медичного університету

1. **Назва впровадження:** «Особливості впливу коротко і довготривалого лікування раміприлом і кандесартаном на стан системи монооксиду нітрогену при експериментальній артеріальній гіпертензії».
2. **Установа-розробник, автор:** Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», кафедра патологічної фізіології; Чернівці 58002, м. Чернівці, Театральна площа, 2, Марущак А. В.
3. **Джерело інформації:** Марущак А.В. Особливості впливу лікування раміприлом і кандесартаном коротко і довготривалої дії на показники рівня метаболітів монооксиду нітрогену у щурів серії shr / А.В. Марущак, Є.І. Шоріков, І.Р. Тимофійчук // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2017. – Т. 12, № 2. – С. 21-26.
4. **Де впроваджено:** На кафедрі фармакології ОНМедУ при проведенні лекційного курсу та практичних занять за темою «Антигіпертензивні препарати».
5. **Терміни впровадження:** 2019/20 навч. рік. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри, протокол № 3 від 02.10. 2018 р.
6. **Результати впровадження:** використання результатів наукових досліджень Марущак А.В. у науковому та педагогічному процесі дає змогу розширити уявлення про лікування раміприлом і кандесартаном коротко і довготривалої дії на показники рівня метаболітів монооксиду нітрогену у щурів серії shr.
7. **Зауваження та пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:
В.о. завідувача кафедри фармакології,
д.мед.н., професор П.Б. Антоненко

" 6 " 11 2018 р.

Продовження додатку Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Головний лікар ОКУ «Лікарня
швидкої медичної допомоги»
_____ О.І. Грушко
«___» «_____» 20___ р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозицій для впровадження:** «Клінічні та фармакоекономічні переваги застосування раміприлу та кандесартану на госпітальному етапі терапії артеріальної гіпертензії та подальшим застосуванням у амбулаторній практиці ».

2. Ким запропоновано: Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», кафедра патологічної фізіології; кафедра внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, Чернівці 58002, м. Чернівці, Театральна площа, 2, Марущак А. В., Шоріков Є.І.

3. Джерело інформації: Марущак А.В., Шоріков Є.І. «Pharmacoeconomic analysis of the use of ramipril and candesartan in patients with arterial hypertension» / Maruschak A.V., Shorikov E.I., Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science». 2018;3:8-13.

4. Де впроваджено: ОКУ «Лікарня швидкої медичної допомоги», І терапевтичне відділення.

5.Термін впровадження квітень по вересень 2018 р.

6. Загальна кількість випадків: 25

7. Ефективність впровадження у співвідношенні з критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3).

Показники	За даними	
	розробників	організації, що впроваджує
Досліджено вплив раміприлу та кандесартатну на кінцевий рівень АТ у хворих на гіпертонічну хворобу із різними супутніми захворюванням та станами перед переведенням хворого на амбулаторне лікування.	на 70-75%	68%

Область застосування методу: А) лікувально-профілактична робота +
Б) педагогічний процес +
В) наукова діяльність +

8. Зауваження, пропозиції[4]: *Рекомендовано використання з метою покращення лікування.*

«___» «_____» 2018 р. _____ посада, підпис, П.І.Б.

Продовження додатку Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Начальник ОКУ «Чернівецький
обласний госпіталь ветеранів війни»
_____ Кожухар В.М.
«___» _____ 20_18_ р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозицій для впровадження:** «Оптимізація схем фармакотерапії хворих на артеріальну гіпертензію із різними супутніми станами шляхом застосування раміприлу».

2. Ким запропоновано: Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет», кафедра патологічної фізіології; кафедра внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, Чернівці 58002, м. Чернівці, Театральна площа, 2. Марущак А. В., Шоріков Є.І.

3. Джерело інформації: Марущак А.В. Шоріков Є.І. «Оптимізація схем фармакотерапії хворих на артеріальну гіпертензію шляхом проведення фармакоекономічного аналізу використання інгібітора АПФ раміприлу. Матеріали XV конгресу СФУЛТ; 2014 Жовт. 16-18; Чернівці-Київ-Чікаго. Українські медичні вісті. 2014; 11(1-4): 487.

4. Де впроваджено: ОКУ «Чернівецький обласний госпіталь ветеранів війни», кардіологічне відділеня, терапевтичне відділення

5.Термін впровадження _____ по _____ 20_18_ р.

6. Загальна кількість випадків: _____32_____

7. Ефективність впровадження у співвідношенні з критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3).

Показники	За даними	
	розробників	організації, що впроваджує
Досліджено вплив раміприлу кінцевий рівень АТ у хворих на гіпертонічну хворобу із різними супутніми захворюванням та станами перед переведенням хворого на амбулаторне лікування.	на 75%	72%

Область застосування методу: А) лікувально-профілактична робота +
Б) педагогічний процес +
В) наукова діяльність +

8. Зауваження, пропозиції[1]: *Рекомендовано використання з метою покращення лікування.*

«___» «_____» 20_18_ р. _____ посада, підпис, ПІБ

Додаток В

Сертифікат та ветеринарне свідоцтво на щурів гіпертензивної лінії SHR

«12» 08 2012р.–2014р

СЕРТИФІКАТ № 469 (оновлений)

Даний підтверджує, що кроки "Вістар", миші лабораторні SHR належать ЛП «Біомодельсервіс» по стану здоров'я відповідають другій категорії якості. Проведено дослідження на носійство нижче перерахованих патогенних агентів із слідуючими результатами:

Вид збудника	Результат
Бактерії	
1. Salmonella spp.	Не виділено
2. Listeria monocitogenes	Не виділено
3. Streptobacillus monilliformis	Не виділено
4. Erisipelothriks rhusiopathiae	Не виділено
5. Yersinia pseudotuberculosis	Не виділено
6. Mycobacterium tuberculosis bovis, avium	Не виділено
Паразити	
1. Sarkoptes sp.	Не виявлено
2.Toxoplasma gondii.	Не виявлено
3.Myobia musculi.	Не виявлено
4.Nosopsyllus fasciatus.	Не виявлено
5Leptopsylla segnis.	Не виявлено
6. Hymenolepis sp.	Не виявлено

Директор лабораторії М. С. Павленко

Завідувач бактеріологічним відділом Г. М. Денисюк

Завідувач паразитологічним відділом О. П. Літвіненко

Продовження додатку В

ДЕРЖАВНИЙ КОМІТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ УКРАЇНИ

Д.Е.В.О.З.Т.

(найменування ветеринарної служби)

Район (місто) Київ

Область Солом'янський

«4» вересня 2014 року

ФОРМА № 1

ВЕТЕРИНАРНЕ СВІДОЦТВО К І-33 № 042534

Видане ПП. „Біомодель медіа"

(кому – найменування юридичної особи та її місцезнаходження або прізвище, ім'я та по-батькові фізичної особи чи фізичної особи-підприємця та місце її проживання)

у тому, що серед тварин миші SHR

(указати вид тварин)

у кількості 70 голів

(цифрами)

голів, що пред'явлені для ветеринарного огляду і підлягають відправленню, хворих і підозрюваних на захворювання на заразні хвороби не виявлено, вони виходять (вивозяться) із м. Київ, Є. Чатьє, 14

(назва населеного пункту)

(господарства або власника)

благополучного щодо заразних хвороб тварин. Тварини перед відправленням

дезінфіковано на лентоліпу

(указати строки і місце профілактичного карантину, яким підлягали дослідженням, ветеринарним

5.05.до 14

щепленням або іншим обробкам і тту)

м. Чернівці, БДМУ

Тварини направляються м. Тернопіль. Медоколадомія

для експлоатації

(мабою, відгодівлі, продажу, розведення та ін.)

і прямують: залізницею, водним, автомобільним, повітряним транспортом (потрібне підкреслити) за маршрутом м. Київ – м. Тернопіль – м. Чернівці

(указати основні пункти транспортування: станцію, порт навантаження)

Специфікація (гуртова відомість, товарно-транспортна накладна) № ____ від «___» _____ року

Особливі відмітки:

(дата та номер погодження на вивіз за межі адміністративної території)

(ідентифікаційний номер тварини, серія та номер паспорта, серія та номер ветеринарної картки)

Захворювань у А і В відсутні

(необхідні відмітки, які знаходяться при відправленні тварин, що перевозяться на заразні хвороби)

(підпис, прізвище, посада, ініціали особи, що видала свідоцтво)

лікар вет. мед.

Андрієнко О.В.