

УДК 616.127-001.83--08:615.322:582.782:547.972

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-34-42

Для цитирования: Заднипрный И.В., Третьякова О.С., Кубышкин А.В., Сатаева Т.П. Эффективность применения концентрата полифенолов винограда «Фэнокор» при гипоксическом повреждении миокарда. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 34–42

## Эффективность применения концентрата полифенолов винограда «Фэнокор» при гипоксическом повреждении миокарда

Заднипрный И.В., Третьякова О.С., Кубышкин А.В., Сатаева Т.П.

Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет (КФУ) им. В.И. Вернадского Россия, 295006, Республика Крым, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Полифенолы винограда и их благотворное влияние на состояние здоровья человека известны давно и привлекают все больший интерес исследователей.

**Цель исследования** – изучение кардиопротекторных свойств концентрата полифенолов винограда «Фэнокор» при гистотоксической гипоксии в условиях эксперимента.

**Материал и методы.** Исследование проводилось на половозрелых самцах крыс линии Wistar ( $n = 21$ ), разделенных на три серии. Контрольную (первую) серию составили пять интактных животных. Крысам II серии ( $n = 8$ ) на протяжении 7 сут внутривенно через зонд вводился водный раствор хлорида кобальта ( $\text{CoCl}_2$ ) в дозе 60 мг/кг. Животным III серии ( $n = 8$ ) после введения  $\text{CoCl}_2$  внутривенно через зонд вводился водный раствор «Фэнокора» в дозе 2,5 мл/кг вместе с 0,05 мл воды. Исследования миокарда проводились с использованием световой и электронной микроскопии. В ходе проведения экспериментов исследовали следующие биохимические показатели: содержание малонового диальдегида (МДА), окислительную модификацию белков (ОМБ).

**Результаты.** Результатом влияния хлорида кобальта на сердце животных в эксперименте является развитие кардиомиопатии, что обуславливает необходимость проведения своевременной кардиопротекции. Структура миокарда, наблюдаемая у самцов крыс в III серии после кобальтовой интоксикации на фоне введения концентрата полифенолов винограда, в целом отражала тенденцию к минимализации объемов повреждения, проявляющуюся в виде нормализации структур клеток и волокон мышечной ткани. Применение «Фэнокора», продемонстрировавшего антиоксидантные и цитопротекторные свойства, способствовало сохранности структуры миокарда крыс в условиях гистотоксической гипоксии.

**Ключевые слова:** полифенолы винограда, миокард, гипоксия, кобальт, крысы, эксперимент.

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы интенсивно изучаются вопросы повышения резистентности организма к состояниям гипоксии и ишемии, которые развиваются в результате воздействия на организм различных экстремальных факторов, в той или иной мере инициирующих развитие многих заболеваний, в том числе кардиологических [1, 2].

✉ Сатаева Татьяна Павловна, e-mail: tanzcool@online.ua.

Одной из наименее изученных форм гипоксии, по нашему мнению, является тканевая или гистотоксическая гипоксия, которая развивается в связи с неспособностью клеток утилизировать кислород в результате инактивации ферментов тканевого дыхания. Промышленный экзотоксикант хлорид кобальта ( $\text{CoCl}_2$ ) в токсических дозах способен более прочно связываться с гемом, чем железо, и оказывает действие, аналогичное гистотоксической гипоксии, что позволяет применять его для

моделирования гипоксических состояний в эксперименте [3]. Кроме того, кобальт, проникая в клеточные структуры, непосредственно приводит к активации процессов перекисного окисления липидов, что усугубляет возникшую гипоксию [4].

Важное значение в лечении и профилактике негативных последствий активации свободно-радикальных процессов при гистотоксической гипоксии отводится антистрессорной терапии, перспективным направлением которой представляется использование различных природных и синтетических антиоксидантов [5]. Несмотря на широкое применение антиоксидантов для защиты организма от повреждающего действия стресса, их влияние на антиоксидантно-прооксидантный статус организма в условиях гистотоксического стресса изучено недостаточно. Поэтому целесообразным является изучение влияния различных субстанций, которые могут обладать антиоксидантными свойствами, на развитие гипоксической стресс-реакции.

К сожалению, большинство синтезированных веществ являются ксенобиотиками и сами могут активировать процессы образования свободных радикалов. Следовательно, внимание исследователей привлекают, прежде всего, препараты природного, в частности растительного происхождения [6]. Фенольные соединения представляют собой одни из наиболее распространенных вторичных метаболитов высших растений. Функции их чрезвычайно разнообразны и связаны с процессами фотосинтеза, дыхания, защиты и устойчивости ко многим стрессовым воздействиям. Им отводится важная роль в системе антиоксидантной защиты клеток, и именно этот аспект в последние годы привлекает большое внимание исследователей [6, 7].

Одними из новых природных лечебных препаратов, которые в последнее время начали применяться в здравницах Южного берега Крыма, являются полифенолы крымского винограда. Они не синтезируются в организме человека и поступают в него исключительно с растительной пищей. Группа высокомолекулярных полифенолов выступает в роли активных антиоксидантов, которые способны гасить цепные свободнорадикальные реакции, снижать активность окислительных ферментов и уменьшать концентрацию пероксидных липидов в плазме крови [8].

В настоящее время на фоне широкой гаммы современных фармакотерапевтических средств и разнообразных методов немедикаментозного лечения виноград и продукты его переработки не только сохраняют свою ценность, но и позво-

ляют получить важные и уникальные эффекты. Одним из таких наиболее ярких и убедительных проявлений может служить всемирно известный «французский парадокс» – значительно меньшая заболеваемость стенокардией среди жителей некоторых областей Франции, регулярно и умеренно употребляющих красные вина, по сравнению с населением других развитых стран. Установлена также достоверная обратная корреляционная зависимость между смертностью от инфаркта миокарда и умеренным потреблением красного сухого вина. Эти факты неоспоримо свидетельствуют о мощных лечебно-профилактических эффектах антоцианов винограда, входящих в состав традиционных для Франции сухих красных вин [7, 9].

Хотя ягоды крымского винограда содержат большое количество полифенолов, биологическая доступность нативных полифенолов крайне низка. Лишь в незначительных количествах нативные полифенолы ягод усваиваются организмом человека при употреблении винограда в пищу. В качестве компонентов технологий санаторно-курортного лечения полифенолы могут применяться в составе виноградных вин и пищевых концентратов, где они содержатся в биодоступной форме [8, 10]. Виноградные вина еще полностью не изучены с точки зрения их эффективности при санаторно-курортном лечении кардиопатологии, что в значительной степени обусловлено негативными эффектами сравнительно больших доз алкоголя, входящего в их состав.

Виноград «Каберне-Совиньон» используется в качестве компонента санаторно-курортного лечения в здравницах южного берега Крыма в форме безалкогольного пищевого концентрата «Эноант», где концентрация общих полифенолов достигает 18–20 г/л. Он разработан во Всероссийском научно-исследовательском институте винограда и вина «Магарач». С 2000 г. начато изучение эффектов применения «Эноанта» при санаторно-курортном лечении больных с патологией сердца и дыхательной системы [10]. По результатам предварительных исследований известно, что антиоксидантная активность суммарных полифенолов винограда в концентрате «Эноант» более чем в 3 000 раз превосходит антиоксидантную активность плазмы крови [7, 11].

Представляет интерес эффективность применения и других представителей группы пищевых концентратов, в частности новой разработки «Фэнокор», в составе которого присутствует весь спектр полифенолов винограда, существующих в красном вине, в то же время не содержащего алкоголя. Полифенолы винограда представлены в

нем преимущественно антоцианами, лейкоантоцианами, катехинами. Общее содержание суммарных полифенолов винограда в концентрате составляет 20–28 г/дм<sup>3</sup>, тогда как в красном вине лишь 0,2 г/дм<sup>3</sup>. Флавоноидные полифенолы в составе «Фэнокора» представлены преимущественно антоцианами в форме гликозидов дельфинидина, мальвидина, цианидина, петунидина, пеонидина, а также кверцетинном и его гликозидом, (+)-Б-катехином, (-)-эпикатехином [11].

Целью данного исследования явилось изучение кардиопротекторных свойств пищевого концентрата полифенолов винограда «Фэнокор» при гистотоксической гипоксии в условиях эксперимента.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на половозрелых самцах крыс линии Wistar ( $n = 21$ ) в возрасте 10–12 мес массой 250–280 г, разделенных на три опытные серии. В I (контрольной) серии интактным животным ( $n = 5$ ) внутрижелудочно через зонд вводился изотонический раствора натрия хлорида объемом 1,5 мл. Крысам II ( $n = 8$ ) и III ( $n = 8$ ) серий один раз в сутки на протяжении 7 сут внутрижелудочно через зонд вводился водный раствор  $\text{CoCl}_2$  в среднетоксической дозе 60 мг/кг, растворенный в 1,5 мл дистиллированной воды [12]. Животным III серии после введения хлорида кобальта внутрижелудочно через зонд вводился водный раствор «Фэнокора» (ООО «РЕССФУД», г. Ялта) в дозе 2,5 мл/кг, эквивалентной содержанию 87,5 мг полифенольных соединений, вместе с 0,5 мл воды [11].

Животные содержались в виварии, уход за ними осуществлялся в соответствии с нормами и правилами обращения с лабораторными животными (Западнюк И.П., 1983). Крысы выводились из эксперимента путем декапитации под наркозом (эфир с хлороформом) в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 №267).

После извлечения сердце останавливалось в диастолу путем погружения органа в 0,9%-й раствор  $\text{KCl}$ . Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм, сделанные с помощью роторного микротомы, окрашивались гематоксилином и эозином по стандартной методике [13]. Для выявления соединительнотканых элементов проводилось окрашивание патогистологических препаратов по Маллори [13]. Полученные микропрепараты исследовались с помощью микроскопа Olympus

SX-31 (Япония). Морфометрические измерения производили при увеличении 400 с помощью лицензионной программы J. Image.

Для электронно-микроскопического исследования был использован миокард левого желудочка пяти экспериментальных животных из II и III серий. Миокард подвергали префиксации в течение 2 ч в 2,5%-м растворе глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере с pH 7,2–7,4, а затем фиксировали в 1%-м растворе тетраоксида осмия на том же фосфатном буфере при температуре 0–4 °C в течение 1 ч. Для обеспечения прицельного электронно-микроскопического анализа серийные полутонкие срезы толщиной 1–2 мкм изготавливались из всех блоков с последующим окрашиванием 1%-м раствором метиленового синего. После идентификации необходимых объектов блоки затачивали и с помощью ультрамикротомы УМТП-7 изготавливали ультратонкие срезы. После контрастирования срезов в 2,5%-м растворе уранил-ацетата и 0,3%-м растворе цитрата свинца по E.S. Reynolds просмотр срезов осуществлялся в электронном микроскопе Selmi-125 (Украина) при ускоряющем напряжении 125 kV [14].

В ходе проведения экспериментов исследовали следующие биохимические показатели:

1. Содержание малонового диальдегида (МДА) как вторичного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли при помощи диагностических наборов ТБК-Агат (Россия). Метод определения вторичных продуктов перекисного окисления липидов основан на реакции МДА с тиобарбитуровой кислотой. Оптическую плотность измеряли при 535 и 570 нм.

Расчет ТБК-активных продуктов производили по формуле:

$$C = \frac{D_{535} - D_{570}}{0,156} \cdot 16,$$

где  $C$  – оптическая плотность;  $D_{535}$  – длина волны (535 нм);  $D_{570}$  – длина волны (570 нм). Содержание ТБК-активных продуктов выражали в мкмоль/л.

2. С целью изучения процессов окислительной модификации мембранных белков (ОМБ) были проведены исследования по определению карбонильных соединений, образующихся при модификации белков в состоянии окислительного стресса, вызванного воздействием нитрита натрия. Изучение спонтанной окислительной модификации белков проводилось по методу Mihara и R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой [15]. Спектрофотометрию проводили при длине волны 270, 274 и 363 нм. Результаты измерения пред-

ставлены в единицах оптической плотности, усл. ед. Изучение биохимических показателей проводили на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Все измерения и исследования производили с использованием средств измерительной техники, прошедших метрологическую поверку, и вспомогательного оборудования, прошедшего аттестацию на базе отдела морфологии с электронной микроскопией Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинской академии имени С.И. Георгиевского.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного программного обеспечения Microsoft Office Excel-2007 и Statistica 10.0. При анализе результатов гистоморфометрических методов исследования рассчитывали среднюю арифметическую для всей группы, среднее квадратическое отклонение, ошибку средней, коэффициент вариации, отклонение величины в эксперименте от величины в контроле в процентах. Полученные количественные данные морфометрии (для каждого животного изучено не менее 100 кардиомиоцитов в 10–15 полях зрения) подвергали предварительному анализу на соответствие распределения признаков нормальному закону распределения с использованием критерия Пирсона  $\chi^2$  и Колмогорова – Смирнова. Проверка однородности дисперсий в сравниваемых группах проводилась с использованием F-критерия, согласно полученным значениям которого всю группу дисперсий считали принадлежащей к единой совокупности. Статистически значимые различия в сравниваемых группах определяли на основании t – критерия Стьюдента. Результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – выборочное среднее,  $m$  – ошибка среднего,  $n$  – выборка.

Количественные данные биохимического исследования, не соответствующие нормальному закону, были представлены в виде медианы ( $Me$ ) и межквартильного размаха ( $LQ$ ;  $UQ$ ). Для межгруппового сравнения показателей использовались непараметрические методы статистического анализа с расчетом U-критерия Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при достижении уровня значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют о том, что введение хлорида кобальта оказывает выраженное патологическое воздействие на миокард половозрелых самцов крыс II серии. Так, при обзорном окрашивании гематоксилином и эозином выявляются признаки

гидропической дистрофии, явления геморрагий (рис. 1, а). Число и распространенность повреждений в разных отделах миокарда чрезвычайно варьировало. Чаще всего они встречались в левом желудочке и межжелудочковой перегородке, реже в стенке правого желудочка, еще реже в предсердиях. Повреждения преимущественно носили характер мелкоочаговых, нередко рассеянных и множественных. Окрашивание по Маллори выявило избыточное количество коллагеновых волокон в интерстиции, что, по-видимому, дополнительно затрудняло транспорт субстратов и кислорода из кровеносного русла к рабочим клеткам в условиях гипоксии (рис. 1, б). Помимо этого повсеместно выявлялись признаки нарушения гемодинамики, неравномерного капиллярного и венозного полнокровия, зауставания и спазма ряда сосудов гемомикроциркуляторного русла в виде периваскулярного отека.

При проведении электронной микроскопии сократительного миокарда во II серии основные морфологические признаки кобальтового повреждения миокарда у крыс были представлены в виде отека, а в ряде случаев – деструкции сократительных кардиомиоцитов, лизиса миофибрилл, формирования ригорных комплексов. Отмечены митохондрии с повреждением крист разной степени, а также частично или полностью разрушенные клеточные органеллы. Наблюдавшиеся участки повреждения сарколеммы явились причиной развития внутриклеточного отека с последующей деструкцией и других органелл. Подобные патологические изменения также наблюдались в эндотелиоцитах. Значительные повреждения оболочки клетки, вероятно, были вызваны развитием интерстициального отека (рис. 2, а).

При окраске гематоксилином и эозином с последующей морфометрией во II серии без применения протектора по сравнению с I серией отмечалось достоверное уменьшение длины и площади кардиомиоцитов соответственно на 20,74 и 55,63% ( $p \leq 0,05$ ), что свидетельствовало, по-видимому, об их гипоксическом, а в некоторых случаях и ишемическом повреждении (табл. 1).

Исследование продуктов ПОЛ выявило увеличение уровня МДА в сыворотке крови при гистотоксической гипоксии в 4,18 раза, карбонильных соединений в 3,87 раза, что свидетельствует о резком усилении активности процессов ПОЛ и ОМБ, вызванного повышенным образованием гидроксильных радикалов и ведущего к необратимым структурным изменениям клеточных и внутриклеточных мембран (табл. 2).

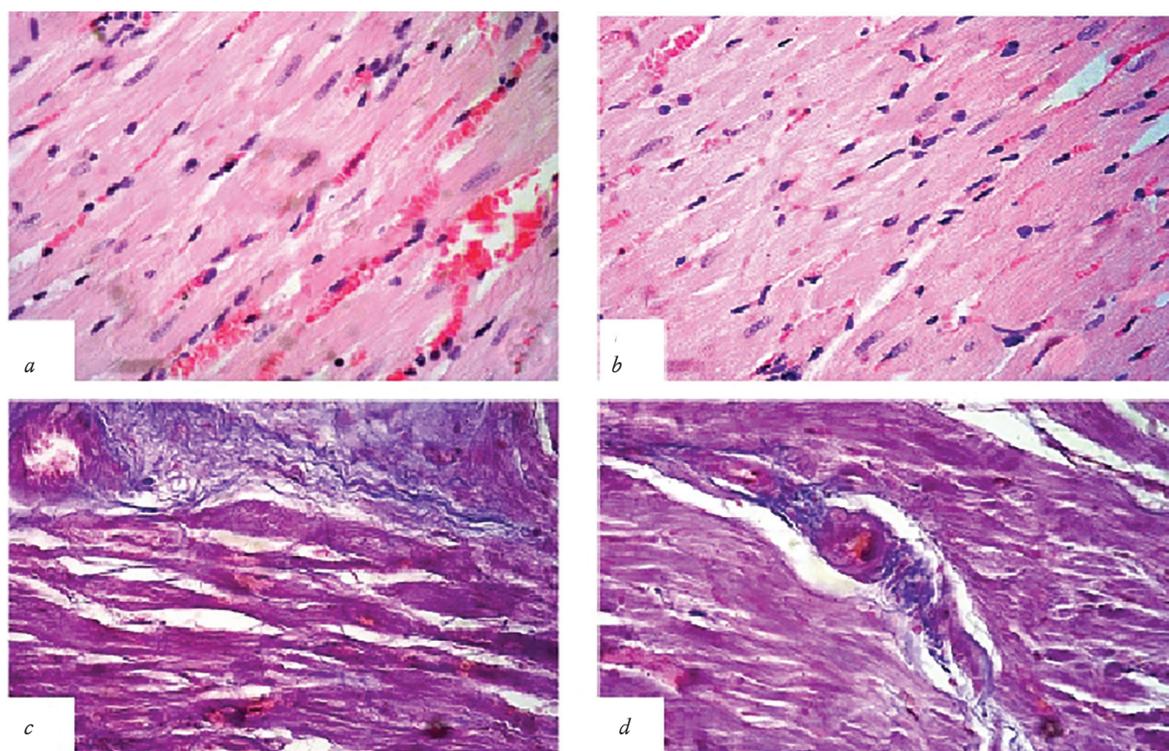


Рис. 1. Морфологические изменения миокарда самцов крыс в условиях гистотоксической гипоксии (световая микроскопия): *a* – признаки отека миокарда, гидропической дистрофии, наличие диапедезных кровоизлияний и явлений сладжа. Окрашивание гематоксилином-эозином. Ув.  $\times 400$ ; *b* – признаки отека миокарда с достаточно четким окрашиванием ядер кардиомиоцитов. Окрашивание гематоксилином-эозином. Ув.  $\times 400$ ; *c* – увеличение количества коллагеновых волокон в периваскулярном пространстве. Окрашивание по Маллори. Ув.  $\times 400$ ; *d* – умеренное количество коллагеновых волокон в периваскулярном пространстве. Окрашивание по Маллори. Ув.  $\times 400$

Fig. 1. Morphological changes in the myocardium of male rats under conditions of histotoxic hypoxia (light microscopy): *a* – signs of myocardial edema, hydroptic dystrophy, the presence of diapedesis hemorrhages and the phenomena of sludge. Staining with hematoxylin-eosin. In.  $\times 400$ ; *b* – signs of myocardial edema with a fairly clear staining of cardiomyocyte nuclei. Staining with hematoxylin-eosin. In.  $\times 400$ ; *c* – increase in the number of collagen fibers in the perivascular space. Staining by Mallory. In.  $\times 400$ ; *d* – a moderate amount of collagen fibers in the perivascular space. Staining by Mallory. In.  $\times 400$

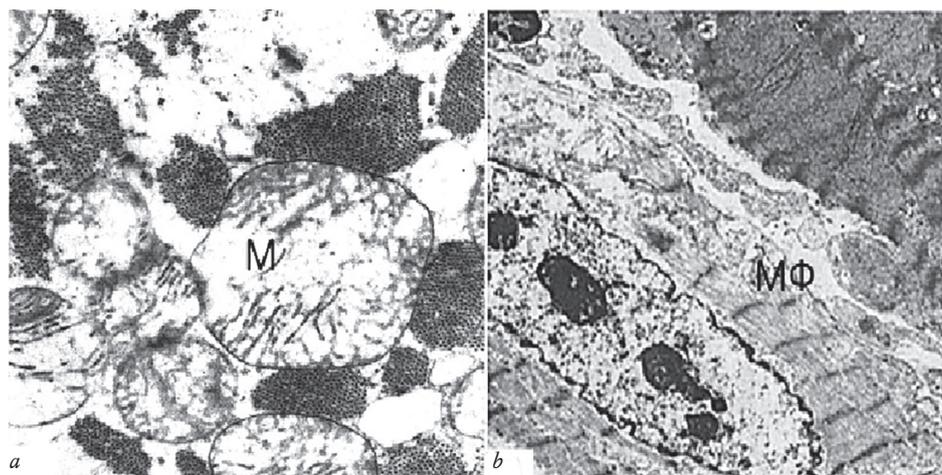


Рис. 2. Морфологические изменения миокарда самцов крыс в условиях гистотоксической гипоксии (электронная микроскопия): *a* – отек саркоплазмы, расширение цистерн саркоплазматической сети, деструкция крист митохондрий (М). Ув.  $\times 19\ 000$ ; *b* – просветление нуклеоплазмы ядра, сохранение структуры миофибрилл (МФ), ригорные комплексы в соседнем кардиомиоците. Ув.  $\times 15\ 000$

Fig. 2. Morphological changes in the myocardium of male rats under conditions of histotoxic hypoxia (electron microscopy): *a* – sarcoplasm edema, expansion of the sarcoplasmic network, destruction of the mitochondrial cristae (M). In.  $\times 19\ 000$ ; *b* – clarification of the nucleoplasm of the nucleus, preservation of the structure of myofibrils (МФ), rigor complexes in the neighboring cardiomyocyte. In.  $\times 15\ 000$

Т а б л и ц а 1

Морфометрические показатели миокарда самцов крыс, $M \pm m$			
Показатель	I серия Контроль (норма) $n = 5$	II серия Введение $CoCl_2$ $n = 8$	III серия Введение $CoCl_2 +$ «Фэноркор» $n = 8$
Длина кардиомиоцитов, мкм	73,10 $\pm$ 3,87	60,54 $\pm$ 2,82*	65,12 $\pm$ 3,14*
Площадь кардиомиоцитов, мкм <sup>2</sup>	618,31 $\pm$ 40,33	397,29 $\pm$ 20,88*	506,55 $\pm$ 7,12*/**
Площадь цитоплазмы кардиомиоцитов, мкм <sup>2</sup>	591,41 $\pm$ 42,42	356,47 $\pm$ 27,69*	475,12 $\pm$ 16,23*/**
Диаметр ядер кардиомиоцитов, мкм	5,32 $\pm$ 0,41	5,01 $\pm$ 0,26	5,12 $\pm$ 0,19
Площадь ядер кардиомиоцитов, мкм <sup>2</sup>	24,71 $\pm$ 2,19	26,45 $\pm$ 3,05	25,58 $\pm$ 0,08

\*  $p \leq 0,05$  по сравнению с животными I серии; \*\*  $p \leq 0,05$  по сравнению с животными II серии.

Т а б л и ц а 2

Содержание продуктов ПОЛ и окислительной модификации белков (ОМБ) сыворотки крови в контроле и опыте, $Me [LQ; UQ]$			
Показатель	I серия Контроль (норма) $n = 5$	II серия Введение $CoCl_2$ $n = 8$	III серия Введение $CoCl_2 +$ «Фэноркор» $n = 8$
ПОЛ, мкмоль/л	2,38 [2,05; 2,67]	9,96 [9,91; 9,98] *	7,17 [6,94; 7,39] */**
ОМБ, усл. ед.	0,16 [0,155; 0,17]	0,62 [0,6; 0,65]*	0,51 [0,48; 0,54]*

\*  $p \leq 0,05$  по сравнению с животными I серии; \*\*  $p \leq 0,05$  по сравнению с животными II серии.

Таким образом, результатом влияния хлорида кобальта на сердце животных в эксперименте является развитие кардиомиопатии, что обуславливает необходимость проведения своевременной кардиопротекции.

Структура миокарда, наблюдаемая в III серии с введением «Фэноркора» при кобальтовой интоксикации, в целом отражала тенденцию к минимализации объемов повреждения, проявляющуюся в виде интактности структур большей части клеток и волокон мышечной ткани (см. рис. 1, *b*). Основная масса структурных компонентов миокарда при гистологическом исследовании выглядела достаточно сохранно: отмечалось снижение патологической проницаемости сарколеммы, что проявлялось уменьшением интерстициального отека и явлений дистрофии в большинстве кардиомиоцитов. При этом встречались участки ткани, которые находились в состоянии дистрофии и некроза, проявляющемся гомогенизацией цитоплазмы или появлением в ней значительных размеров просветлений, что, как известно, является свидетельством развития дистрофических и преднекротических процессов [2, 7]. При проведении морфометрии длина и площадь кардиомиоцитов уменьшались по сравнению с контролем на 13,28 и 18,07% соответственно ( $p \leq 0,05$ ), что превышало аналогичные показатели во II серии без применения протектора на 7,46 и 33,56%, что свидетельствовало о цитопротекторном эффекте «Фэноркора» (см. табл. 1). При окраске по Маллори выявлялись тонкие прослойки соединительной ткани в интерстиции, а также пепериваскулярном пространстве (см. рис. 1, *d*).

Согласно результатам электронной микроскопии, кардиомиоциты крыс после 7-суточного введения «Фэноркора» имели повреждения как необратимого, так преимущественно и обратимого характера. Обратимые изменения заключались в неравномерном распределении нуклеарного хроматина, очаговом лизисе митохондриальных крист, при этом большинство митохондрий сохраняли свою нормальную структуру (рис. 2, *c*). Однако цитопротекторное влияние вышеуказанного антиоксиданта все же не смогло полностью компенсировать деструктивное влияние мощного гипоксического стресса. Об этом свидетельствует обнаружение кардиомиоцитов, в цитоплазме которых развивался отек и отмечались участки лизиса компонентов миофибрилл. Следует отметить тот факт, что даже в таких клетках встречались довольно крупные митохондрии, которые не имели повреждений структуры. Это, по-видимому, также объясняется положительным влиянием антиоксидантной коррекции. О неполном компенсировании действия гипоксического стресса свидетельствует диффузный фиброгенез в интерстиции кардиомиоцитов.

Антиоксидантный эффект концентрата «Фэноркор» проявлялся в существенном снижении концентрации МДА по сравнению со II серией на 28,01% ( $p < 0,05$ ) (см. табл. 2). Концентрация продуктов ОМБ уменьшалась статистически незначимо по сравнению со II серией, превышая нормальные значения на 67,30% ( $p < 0,01$ ).

Исследование кардиомиоцитов крыс II серии показало, что более выраженную сохранность

структуры миокард имеет при назначении концентрата полифенолов винограда «Фэнокор». Полифенолы винограда связывают свободные радикалы [7, 9, 10], таким образом удаётся уменьшить их количество, получить большее количество аденозин-трифосфорной кислоты даже в условиях недостаточности субстратов и предотвратить прогрессирование окислительного стресса на ранних стадиях ишемического и гипоксического повреждения миокарда, что нашло подтверждение в данном исследовании.

## ВЫВОДЫ

Экспериментальное введение хлорида кобальта половозрелым самцам крыс за счет развития гистотоксической гипоксии, ускоряющей процессы перекисного окисления липидов, вызывает комплекс реактивно-дистрофических изменений в миокарде, проявляющихся в нарушении ультраструктуры ядер, сарколеммы и мембран органелл, в частности митохондрий, повреждении миофибриллярного аппарата, что требует введения протекторных веществ.

При проведении морфометрии животных III серии длина и площадь кардиомиоцитов уменьшились по сравнению с контролем на 13,28 и 18,07% соответственно ( $p \leq 0,05$ ), что превышало аналогичные показатели во II серии на 7,46 и 33,56%, что свидетельствовало о цитопротекторном эффекте «Фэнокора». Антиоксидантный эффект концентрата «Фэнокор» проявлялся в статистически значимом снижении концентрации МДА по сравнению со II серией на 28,01%.

Использование концентрата полифенолов винограда «Фэнокор» приводит к блокированию патогенетических звеньев окислительного стресса – важного патогенетического звена развития гистотоксической гипоксии за счет подавления перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков, что обуславливает антиоксидантный эффект концентрата «Фэнокор».

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено на средства гранта молодым ученым Государственного Совета Республики Крым № п170-1/16.

## СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Проведение исследования одобрено локаль-

ным этическим комитетом Медицинской академии имени С.И. Георгиевского (протокол № 8 от 15.03.2016 г.)

## ЛИТЕРАТУРА

- Nichols M., Townsend N., Scarborough P., Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update // *European Heart Journal*. 2014; 1: 1–10.
- Buja L.M. The pathobiology of acute coronary syndromes: clinical implications and central role of the mitochondria // *Tex. Heart Inst. J.* 2013; 40 (3): 221–228.
- Hatori N., Pehrsson S.K., N. Clyne N. et al. Acute cobalt exposure and oxygen radical scavengers in the rat myocardium // *Biochimica et Biophysica Acta*. 1993; 1181: 257–260.
- Bruick R.K. Oxygen sensing in the hypoxic response pathway: regulation of the hypoxia-inducible transcription factor // *Genes Dev*. 2003; 17: 2614–2623.
- Zadniptyanyi I.V., Tretyakova O.S., Sataeva T.P. Investigation of the antioxidant activity and cardioprotective effect of reamberin and cytoflavin in newborn rats exposed to chronic hemic hypoxia // *Arkhiv patologii*. 2015; 77 (6): 39–44.
- Santangelo C., Vari R., Scazzocchio D. et al. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation // *Ann. Ist. Super. Snita*. 2007; 43 (4): 394–405.
- Tamura H., Yamagami A., Agric J. Antioxidative Activity of Monoxylated Antocyanins isolated from Muscat Bailey A Grape // *Food Chem*. 1994; 42: 1612–1615.
- Левченкова О.С., Новиков В.Е. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2013; 5 (76): 37–47.
- Зайцев Г.П., Катрич А.И., Огай Ю.А. Полифенольные биологически активные компоненты красного сухого винограда сорта Каберне-Совиньон и пищевого концентрата «Эноант» // *Магазач. Виноградарство и виноделие*. 2010; 3: 25–27.
- Mizin V.I., Yezhov V.V., Severin N.A., Kruglova A.Y. Syndrome pathogenic approach to application of therapeutic and prophylactic effects of grape polyphenol complex under pathology of cardiovascular system // *Journal of Health Sciences*. 201; 3 (16): 95–108.
- Mohiuddin, Syed M., Taskar P.K., Rheault M. et al. Experimental cobalt cardiomyopathy // *American Heart Journal*. 1970; 80 (4): 532–543.
- Мешков В.В., Богданов Н.Н., Богданов А.Н. Экспериментальные предпосылки к оптимизации методик применения «Эноанта» // *Вестн. физиотерапии и курортологии*. 2002; 2: 30–33.
- Меркулов Г.А. Курс патолого-гистологической техники. Л.: Медицина, 1969.
- Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols. New Jersey: Humana Press. Inc., 2007: 608.
- Mihara M., Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // *Anal Biochem*. 1978; 86 (1): 271–278.

Поступила в редакцию 21.11.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

**Заднипрыйный Игорь Владимирович**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой топографической анатомии человека, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Республика Крым.

**Третьякова Ольга Степановна**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой общественного здоровья и здравоохранения, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Республика Крым.

**Кубышкин Анатолий Владимирович**, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе, зав. кафедрой общей и клинической патофизиологии, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Республика Крым.

**Сатаева Татьяна Павловна**, канд. мед. наук, доцент кафедры медицинской биологии, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Республика Крым.

(✉) Сатаева Татьяна Павловна, e-mail: tanzcool@online.ua.

УДК 616.127-001.83--08:615.322:582.782:547.972

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-34-42

For citation: Zadnipyryany I.V., Tretiakova O.S., Kubyshkin A.V., Sataieva T.P. Protective effect of grapes polyphenol concentrate "Fenokor" in terms of hypoxic myocardial injury. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 34–42

## Protective effect of grapes polyphenol concentrate "Fenokor" in terms of hypoxic myocardial injury

Zadnipyryany I.V., Tretiakova O.S., Kubyshkin A.V., Sataieva T.P.

*Medical Academy named after S.I. Georgievskiy, Crimean Federal University (CFU) named after V.I. Vernadsky 5/7, Bulv. Lenina, Simferopol, 295006, Republic of Crimea, Russian Federation*

### ABSTRACT

Polyphenols of grapes and their beneficial effects on human health have been known for a long time and still attract more and more research interest.

**The aim** of the research was to reveal cardioprotective properties of polyphenols contained in grape concentrate "Fenokor" in terms of experimental histotoxic hypoxia.

**Materials and methods.** The study was conducted on 21 adult male Wistar rats divided into 3 groups, 2 of which were administered  $\text{CoCl}_2$  aqueous solution in a dose of 60 mg/kg for 7 days intragastrically. The control group consisted of 5 intact animals. The rats of the second group ( $n = 8$ ) after the introduction of the cobalt did not receive any treatment, the animals of the third group ( $n = 8$ ) after the administration of cobalt chloride intragastrically, were given Fenokor aqueous solution at a dose of 2,5 ml/kg along with 0,05 ml of water orally. Morphological study was performed using light and electron microscopy. During the experiment the following biochemical parameters such as contents of malondialdehyde, oxidative modification of proteins were estimated.

**The results.** The result of the influence of cobalt on the heart of animals in experiments is the development of severe cardiomyopathy that requires cardio-protection. Histological structure of myocardium observed in the second group of male rats after cobalt intoxication on the background of grape polyphenol concentrate generally reflected a tendency to minimize the damage extent which was manifested in the form of normalization of cell structures and muscle fibers.

Application of Fenokor has demonstrated its antioxidant and cytoprotective properties, which contributed to myocardial structure preservation in rats exposed to histotoxic hypoxia.

**Key words:** grape polyphenols, myocardium, hypoxia, cobalt, rats, experiment.

## REFERENCES

1. Nichols M., Townsend N., Scarborough P., Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update // *European Heart Journal*. 2014; 1:1–10.
2. Buja L.M. The pathobiology of acute coronary syndromes: clinical implications and central role of the mitochondria // *Tex. Heart Inst. J.* 2013; 40 (3): 221–228.
3. Hatori N., Pehrsson S.K., N. Clyne N. et al. Acute cobalt exposure and oxygen radical scavengers in the rat myocardium // *Biochimica et Biophysica Acta*. 1993; 1181: 257–260.
4. Bruick R.K. Oxygen sensing in the hypoxic response pathway: regulation of the hypoxia-inducible transcription factor // *Genes Dev*. 2003; 17: 2614–2623.
5. Zadnipyryanyi I.V., Tretyakova O.S., Sataeva T.P. Investigation of the antioxidant activity and cardioprotective effect of reamberin and cytoflavin in newborn rats exposed to chronic hemic hypoxia // *Arkhiv patologii*. 2015; 77 (6): 39–44.
6. Santangelo C., Vari R., Scaccocchio D. et al. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation // *Ann. Ist. Super. Snita*. 2007; 43 (4): 394–405.
7. Tamura H., Yamagami A., Agric J. Antioxidative Activity of Monoxylated Antocyanins isolated from Muscat Bailey A Grape // *Food Chem*. 1994; 42: 1612–1615.
8. Levchenkova O.S., Novikov V.E. Novyye napravleniya poiska lekarstvennykh sredstv s antigipoksicheskoy aktivnostyu i misheni dlya ih deystviya [New drugs search direction with antigipoksicheskoy activity and targets for their actions] // *Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya – Experimental and Clinical Pharmacology*. 2013; 5 (76): 37–47 (in Russian).
9. Zajcev G.P., Katrich L.I., Ogaj Ju.A. Polifenol'nye biologicheski aktivnye komponenty krasnogo suhogo vinomateriala iz vinograda sorta Kaberne-Sovin'on i pishhevego koncentrata «Enoant» [Polyphenolic biologically active components of red dry wine from grapes of Cabernet Sauvignon and food “Enoant” concentrate] // *Magarach. Vinogradarstvo i vinodelie*. 2010; 3: 25–27 (in Russian).
10. Mizin V.I., Yezhov V.V., Severin N.A., Kruglova A.Y. Syndrome pathogenic approach to application of therapeutic and prophylactic effects of grape polyphenol complex under pathology of cardiovascular system // *Journal of Health Sciences*. 2011; 3 (16): 95–108.
11. Mohiuddin, Syed M., Taskar P.K., Rheault M. et al. Experimental cobalt cardiomyopathy // *American Heart Journal*. 1970; 80 (4): 532–543.
12. Meshkov V.V., Bogdanov N.N., Bogdanov A.N. Eksperimentalnyye predposylki k optimizatsii metodik primeneniya «Enoanta» [The experimental conditions to optimize the use of techniques “Enoant”] // *Vestn. fizioterapii i kurortologii. – Herald Physiotherapy and Health Resort*. 2002; 2: 30–33 (in Russian).
13. Merkulov G.A. Kurs patologo-gistologicheskoy tehnik [The course of pathological and histological techniques]. L.: Meditsina Publ., 1969 (in Russian).
14. Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols. New Jersey: Humana Press. Inc., 2007: 608.
15. Mihara M., Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // *Anal Biochem*. 1978; 86 (1): 271–278.

Received November 21.2016

Accepted June 30.2017

**Zadnipyryanyi Igor V.**, DM, Professor, Head of the Topographical Anatomy Department, Medical Academy named after S.I. Georgievskiy, CFU named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation.

**Tretiakova Olga S.**, DM, Professor, Head of the Public Health and Healthcare Department, Medical Academy named after S.I. Georgievskiy, CFU named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation.

**Kubyshkin Anatoliy V.**, DM, Professor, Head of the General and Clinical Pathophysiology Department, Medical Academy named after S.I. Georgievskiy, CFU named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation.

**Sataeva Tatiana P.**, DM, Associate Professor, Medical Biology Department, Medical Academy named after S.I. Georgievskiy, CFU named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation.

(✉) Sataeva Tatiana P., e-mail: tanzcool@online.ua