

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ КАРДИОПРОТЕКТИВНОГО ЭФФЕКТА 3-(2,2,2-ТРИМЕТИЛГИДРАЗИНИЯ) ПРОПИОНАТА

*Кафедра фармакологии ФГАОУ ВПО «БелГУ», Медицинский институт,
факультет лечебного дела и педиатрии,
Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85; тел. (4722) 30-13-73. E-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru*

В работе оценены влияние 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата на площадь некротизированного миокарда левого желудочка и уровень тропонина I сыворотки крови при острой коронароокклюзии (60 мин) с последующей реперфузией (90 мин) у наркотизированных кроликов. Показано, что дистантное и фармакологическое preconditionирование 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионатом уменьшает зону некроза в 3 и 1,5 раза соответственно. Обнаружено участие АТФ-зависимых калиевых каналов (КАТФ-каналы) эндотелиальной и индуцибельной NO-синтазы в реализации цитопротекторного эффекта дистантного preconditionирования и 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата, что свидетельствует об участии механизма фармакологического preconditionирования в реализации его кардиопротективного действия.

Ключевые слова: preconditionирование, ишемия/реперфузия, 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат.

L. M. DANILENKO, M. V. POKROVSKY, M. V. KOROKIN, O. S. GUDYREV

STUDY OF THE MECHANISMS CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF 3-(2,2,2-TRIMETHYLHYDRAZINIUM) PROPIONATE

*Department of pharmacology FGAOU VPO «BSU», Institute of medicine,
department of pediatrics and medical business,
Russia, 308015, Belgorod, str., Victory, 85; tel. (4722) 30-13-73. E-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru*

The work evaluated the influence of 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate per square necrotic myocardium of the left ventricle and the level troponin I serum during acute coronary occlusion (60 minutes) followed by reperfusion (90 min) in anesthetized rabbits. It is shown that distant and pharmacological preconditioning 3 (2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate reduce nekrooza zone 3 and 1.5 times, respectively. Found participation ATP dependent potassium channels (KATF channels) of endothelial and inducible NO-synthase in the implementation of the cytoprotective effect of distant preconditioning and 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate, indicating that the implementation of the mechanism of pharmacological preconditioning in his kardioprotektivnom action.

Key words: preconditioning, ischemia/reperfusion, 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate.

Введение

Исследований, посвященных применению 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата (Милдронат®) при сердечно-сосудистых заболеваниях, достаточно. Общеизвестно, что 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат приводит к ограничению потока жирных кислот через мембраны митохондрий и защищает клетку от гибели в условиях кислородного голодания [5, 7]. Однако до сих пор не изучался вопрос о его возможности preconditionировать миокард.

Материалы и методы

Изучение выживаемости ишемизированного миокарда было проведено на 66 кроликах массой 2–2,5 кг. Влияние 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата на размер зоны некроза изучали на

модели коронароокклюзионного инфаркта миокарда. Инфаркт миокарда воспроизводился на наркотизированных животных (хлоралгидрат 300 мг/кг), находящихся на управляемом дыхании, путем перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии на уровне нижнего края ушка левого предсердия (60 мин) с последующей реперфузией (90 мин). Поперечные срезы миокарда производили через каждые 0,8 см, начиная с уровня 0,8 см ниже места наложенной лигатуры. Срезы миокарда помещали в емкость, содержащую фосфатный буфер (рН 7,4) и 1 мг/мл трифенилтетразолия хлорид, для образования красного формаза [1, 3, 4, 6]. Подсчет площадей интактного и некротизированного миокарда левого желудочка производили на каждом из четырех срезов с помощью попиксельного анализа в программе

«Adobe Photoshop 9.0». Уровень Troponin I (TnI) определяли на иммунофлуоресцентном приборе «Triage MeterPro» («Biosite», США).

Ишемическое прекондиционирование (ИП) осуществляли путем 5-минутного прекращения кровотока в лигированной коронарной артерии за 30 мин до тотальной ишемии миокарда. Дистантное ишемическое прекондиционирование (ДИП) осуществляли путем наложения жгута на верхнюю треть бедра на 10 мин с последующей 20-минутной реперфузией и воспроизведением модели инфаркта на 60 минут.

Фармакологическое прекондиционирование осуществляли с помощью внутривенного введения в маргинальную вену уха кролика 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата (Милдронат® производства «GRINDEX», Латвия) в дозе 90 мг/кг.

С целью подтверждения гипотезы о реализации эффектов прекондиционирования через активацию системы синтеза оксида азота и КАТФ-каналы животным вводили N-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME, Sigma) в дозе 25 мг/кг (блокатор индуцибельной (iNOS) и эндотелиальной (eNOS) NO-синтазы), глибенкламид (манинил производства «Берлин-Хеми/АГ», Германия, блокатор КАТФ-каналов) в дозе 0,4 мг/кг,

аминогуанидин (Sigma) (блокатор индуцибельной (iNOS) синтазы в дозе 100 мг/кг [8, 9].

Результаты исследования и их обсуждение

Моделирование ишемии/реперфузии коронарной артерии приводило к развитию некроза миокарда, размер которого составил $27,3 \pm 1,2\%$ от массы левого желудочка (таблица).

Ишемическое прекондиционирование (5 мин) за 30 мин до коронароокклюзии уменьшало площадь некротизированного миокарда в 3 раза – до $11,8 \pm 0,8\%$ (таблица).

Дистантное прекондиционирование, внутривенное введение 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата в дозе 90 мг/кг и их сочетания за 30 мин до моделирования коронароокклюзионного инфаркта миокарда привело к достоверному уменьшению площади некротизированного миокарда и составило $9,05 \pm 0,6\%$, $20,2 \pm 1,0\%$ и $11,69 \pm 0,58\%$ соответственно. Аналогичная тенденция прослеживалась и в динамике уровня TnI в сыворотке крови (таблица).

Неселективная блокада NO-синтазы с помощью внутривенного введения L-NAME и селективная блокада индуцибельной NO-синтазы (iNOS) с помощью внутривенного введения

Влияние 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата (90 мг/кг) в/в и дистантного ишемического прекондиционирования на размер зоны некроза и уровень тропонина I при острой коронароокклюзии (60 мин) с последующей реперфузией (90 мин) у наркотизированных кроликов ($M \pm m$; в % от массы левого желудочка; $n=6$)

№ п/п	Экспериментальная группа	% некроза	Уровень TnI в сыворотке (нг/мл)
1	КО/реперфузия (контроль)	$27,3 \pm 1,2$	$16,3 \pm 1,2$
2	КО/реперфузия + ИП	$11,8 \pm 0,8^*$	$5,4 \pm 1,4^*$
3	КО/реперфузия + ДИП	$9,05 \pm 0,6^*$	$4,6 \pm 0,8^*$
4	КО/реперфузия + 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат	$20,2 \pm 1,0^*$	$12,2 \pm 1,1^*$
5	КО/реперфузия + 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат + ДИП	$11,69 \pm 0,5^*$	$6,4 \pm 2,9^*$
6	КО/реперфузия + L-NAME (25 мг/кг/сут.) + ДИП	$25,3 \pm 0,8^\#$	$15,9 \pm 0,9^\#$
7	КО/реперфузия + L-NAME (25 мг/кг/сут.) + 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат	$23,6 \pm 1,3^\#$	$16,3 \pm 1,7^\#$
8	КО/реперфузия +аминогуанидин (100 мг/кг) + ДИП	$22,8 \pm 2,0^\#$	$14,6 \pm 1,8^\#$
9	КО/реперфузия +аминогуанидин (100 мг/кг)+ 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат	$26,3 \pm 1,3^\#$	$17,3 \pm 1,2^\#$
10	КО/реперфузия +глибенкламид (0,4 мг/кг) +ДИП	$24,2 \pm 1,5^\#$	$15,3 \pm 1,3^\#$
11	КО/реперфузия + глибенкламид (0,4 мг/кг) +3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат	$32,6 \pm 1,8^\#$	$17,7 \pm 0,9^\#$

Примечание: КО/реперфузия – коронароокклюзия нисходящей ветви левой коронарной артерии на уровне ушка (60 мин) с последующей реперфузией 90 мин); ИП – ишемическое прекондиционирование (5 мин); ДИП – дистантное ишемическое прекондиционирование (10 мин) верхней трети бедра; * $p < 0,05$ – в сравнении с контролем; $^\# p < 0,05$ – в сравнении с серией без фармакологического анализатора.

аминогуанидина на фоне моделирования ишемии/реперфузии частично устраняли протективное действие 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата и дистантного ишемического preconditionирования (таблица).

Блокада КАТФ-каналов с помощью глибенкламида на фоне моделирования ишемии/реперфузии миокарда полностью снимала кардиопротективные эффекты и применение 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата и дистантного ишемического preconditionирования в отношении зоны некроза и уровня TnI (таблица).

Таким образом, в ходе проведенного исследования было выявлено, что ИП, ДИП и 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат обладают сопоставимым кардиопротективным эффектом на модели ишемии/реперфузии у наркотизированных кроликов.

КАТФ-каналы являются эффекторным механизмом в реализации противоишемического эффекта действия как ДИП, так и 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата. 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат, конкурируя за рецепторы гамма-бутиробетоина (ГББ), снижает концентрацию карнитина. В результате из-за сродства геометрии ГББ ацетилхолину происходит активация эндотелиальных ацетилхолиновых рецепторов, что приводит к индукции синтеза NO. NO выступает как триггер ИП, в том и другом случае синтез его осуществляется за счет активации iNOS и eNOS. NO приводит к активации универсального внутриклеточного мессенджера – протеинкиназы С. Под ее действием АТФ-зависимые калиевые каналы гладкомышечных клеток сосудов и кардиомиоцитов, закрытые в норме, открываются. За счет этого происходит защитное укорочение сердечных потенциалов действия. Такой эффект имеет энергосберегающее значение, и при возникновении в ближайшее время повторной ишемии миокарда отмечаются снижение его метаболической активности, уменьшение скорости распада АТФ, замедление гликогенолиза и снижение скорости нарастания внутриклеточного ацидоза. Благодаря всему этому миокард лучше переносит ишемию, в том числе более длительную и выраженную.

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат оказывает выраженное протективное действие на модели ишемии/реперфузии у наркотизированных кроликов, уменьшая зону некроза и уровень TnI в сыворотке крови в 1,5 раза.

В реализации кардиопротективных эффектов 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата принимают участие КАТФ-каналы и iNOS, о чем свиде-

тельствует устранение протективного действия при введении глибенкламида и аминогуанидина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артюшкова Е. Б., Покровский М. В., Корокин М. В. Исследование эндотелиопротективных эффектов препарата кардионата на ADMA-подобной модели дефицита азота при специфической блокаде NO-синтазы // International Journal on Immunorehabilitation (Международный журнал по иммунореабилитации). – 2009. – Т. 11. № 1. – С. 66–67.
2. Колесник И. М., Покровский М. В., Даниленко Л. М. Дистантное и фармакологическое preconditionирование – новые возможности стимуляции неоваскулогенеза // Кубанский научный медицинский вестник. – 2010. – № 6. – С. 56–58.
3. Михин В. П., Покровский М. В., Гуреев В. В. Эффективность отечественного миокардиального цитопротектора и его фармакодинамика при острой ишемии миокарда: клинические результаты и экспериментальные модели // Российский кардиологический журнал. – 2011. – № 2. – С. 37–42.
4. Рагулина В. А., Корокин М. В., Покровский М. В. Изучение кардиопротекторной активности производного 3-оксипиридина // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2011. – № 3. – С. 118.
5. Тепляков А. Т., Санкевич Т. В., Степачева Т. А. Миокардиальная цитопротекция ингибитором β -окисления жирных кислот милдронатом в виде монотерапии и в сочетании с β -адреноблокатором атенололом у больных с постинфарктной дисфункцией левого желудочка // Кардиология. – 2003. – № 2. – С. 15–18.
6. Черноморцева Е. С., Покровский М. В., Покровская Т. Г. Экспериментальное изучение кардиопротекторного и эндотелиопротекторного действия макралидов и азалидов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – № 2. – С. 29–31.
7. Dambrova M., Liepinsh E., Kalvinsh I. Mildronate: cardioprotective action through carnitine-lowering effect // Trends cardiovasc. med. – 2003. – Vol. 12. – P. 275–279.
8. Downey J. M., Davis A. M., Cohen M. V. Signaling pathways in ischemic preconditioning // Heart. fail. rev. – 2007. – Vol. 12. – P. 181–188.
9. Skyschally A., Schulz R., Heusch G. Pathophysiology of myocardial infarction: protection by ischemic pre- and postconditioning // Heart. fail. rev. – 2008. – Vol. 33. – P. 88–100.
10. Schaper W., Gorge G., Winkler B. et al. The collateral circulation of the heart // Prog. cardiovasc. – 2005. – Vol. 33. № 1. – P. 57–77.
11. Liepinsh E., Vilskersts R., Kalvinsh I. et al. Liepinsh E. mildronate, an inhibitor of carnitine biosynthesis, induces an increase in gamma-butyrobetaine contents and cardioprotection in isolated rat heart infarction // J. cardiovasc. pharmacol. – 2008. – Vol. 48. – P. 314–319.
12. Matsumura K., Jeremy R. W., Schaperet J. et al. Progression of myocardial necrosis during reperfusion of ischemic myocardium // Circulation. – 2008. – Vol. 97. № 8. – P. 795–804.

Поступила 23.12.2015