

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 615-03:616.127-005.8

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ 3-(2, 2, 2-ТРИМЕТИЛГИДРАЗИНИЙ) ПРОПИОНАТА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ КОРОНАРООККЛЮЗИОННОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

**Л.М. ДАНИЛЕНКО¹, М.В. ПОКРОВСКИЙ¹
О.В. ХАРИТОНОВА¹, Г.Н. КЛОЧКОВА²
С.Я. СНАЧИЛОВА³, О.Г. КЕСАРЕВ³
К.А. БЕЛЯЕВ¹, А.В. ХАВАНСКИЙ¹**

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет

² Областная клиническая больница Святителя Иоасафа, г. Белгород

³ Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ, п. Старая Кулавица

e-mail: Danilenkolyudmila@mail.ru

В настоящей работе проведено экспериментальное исследование влияния 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата и его производных: СТК-733, СТК-734, СТК-735 и СТК-61-К, на площадь некротизированного миокарда левого желудочка при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда. Показано, что фармакологическое прекондиционирование 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионатом и его производными может рассматриваться как превенция синдрома ишемии/реперфузионного повреждения при инфаркте миокарда.

Ключевые слова: 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионат, прекондиционирование, инфаркт.

Введение. Согласно современным представлениям, устойчивость сердца к ишемии может повышаться в результате прекондиционирования, вызванного короткими эпизодами ишемии/реперфузии или гипоксии, кратковременной гипотермией и другими умеренными стрессовыми воздействиями, способными активировать эндогенные защитные механизмы [6].

При этом помимо ишемического прекондиционирования существует фармакологическое, которое с клинической точки зрения выглядит предпочтительнее, так как технологически проще и лишено потенциальной опасности ишемических эпизодов для измененного миокарда. В связи с феноменом фармакологической тренировки упоминается хорошо известный миокардиальный цитопротектор – Милдронат (3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионат), являющийся ведущим представителем вышеупомянутого класса [7, 8]. При блокировании эндотелиальной, индуцибельной NO-синтазы, АТФ-зависимых калиевых каналов противоишемические эффекты Милдроната нивелируются [3].

Препарат эффективен в лечении ишемических состояний: он вызывает в клетках эффект прекондиционирования, оказывая выраженный защитный эффект при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда, способствуя повышению эффективности утилизации кислорода миокардиальной тканью [4]. Его антиоксидантный эффект позволяет уменьшить образование в крови и тканях активных форм кислорода и перекисных радикалов, предотвращая повреждение клеточных структур [1]. Выявлено, что Милдронат, сам не обладающий свойствами антиоксиданта, повышает в организме концентрацию ГББ, так как



под влиянием Милдроната он медленнее окисляется до карнитина. В свою очередь, ГББ способен индуцировать образование NO, который является одним из триггеров ишемического прекодиционирования и действует как один из эффективных природных агентов, связывающих свободные радикалы в организме, что обуславливает такие эффекты Милдроната, как снижение периферического сопротивления сосудов, уменьшение вызванных норадреналином или берproductive61 спазмов кровеносных сосудов, торможение агрегации тромбоцитов и увеличение эластичности мембран эритроцитов.

Общеизвестно, что введение в молекулу лекарственного вещества дополнительных функциональных групп приводит к расширению спектра его фармакологической активности. При этом важно, чтобы дополнительные свойства не приводили к снижению эффективности препарата, а наоборот способствовали усилению его основного эффекта.

В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение противоишемической активности 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата и его производных (лабораторные шифры СТК-733, СТК-734, СТК-735 и СТК-61-К), синтезированных в ВНИЦ БАВ, при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда.

Материалы и методы. Изучение выживаемости ишемизированного миокарда было проведено на 36 лабораторных кроликах массой 2-2,5 кг. Исследуемые соединения: 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата (Милдронат® производства «GRINDEX», Латвия) и его производные СТК-733, СТК-734, СТК-735 и СТК-61-К в дозе, рассчитанной по молярной массе от дозы Милдроната (90 мг/кг), предварительно растворяли в стерильном физиологическом растворе и вводили наркотизированным (хлоралгидратат 300 мг/кг) животным в маргинальную вену уха кролика, находящегося на управляемом дыхании, за 30 минут до перевязки левой нисходящей коронарной артерии. После 30 минут коронарной окклюзии осуществляли снятие лигатуры и осуществляли реперфузию миокарда в течение 90 мин. Затем проводили забор крови из правого желудочка в одноразовую вакуумную пробирку с антикоагулянтом для определения специфического маркера сердечной мышцы Troponin I (TnI). Уровень тропонина определяли на иммунофлуоресцентном приборе Triage MeterPro (Biosite, США). Размеры зоны некроза миокарда определяли через 2 ч. 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 (pH 7,4) и 1 мг/мл трифенилтетразолия хлорид. Соотношение масс участков ткани и буфера составляло 1:9. Бюксы помещали в термостат и инкубировали при 37С ° в течение 15 минут до образования красного формазана. Подсчет площадей интактного и некротизированного миокарда левого желудочка производили на каждом из четырех срезов с помощью попиксельного анализа в программе Adobe Photoshop 9.0.

Результаты исследования и их обсуждение. Наложение лигатуры на нисходящую ветвь левой коронарной артерии у кроликов в контрольной группе животных приводило к развитию некроза миокарда, размер которого составил 27,3±1,2 % от общей площади миокарда. Соответственно, размер интактного миокарда составлял 72,7±1,2 %. Введение перед моделированием коронароокклюзии эталонного препарата Милдроната® в дозе 90 мг/кг, приводило к уменьшению площади некротизированного миокарда до 20,2±1,0%. Наибольшая протективная активность обнаружена у вещества СТК-735 (199 мг/кг), введение которого привело к достоверному уменьшению площади некротизированного миокарда в 2 раза, до 13,1±1,4%. Введение всех остальных соединений также привело к достоверному снижению размера зоны некроза (табл. 1).

Являясь специфическим маркером инфаркта миокарда тропонина I, (TnI) обнаруживается в сыворотке крови спустя несколько минут после инфаркта миокарда и коррелирует с его размером. При определении концентрации TnI в нашем эксперименте наименьшая концентрация обнаружена у соединения СТК-735 - 6,04±1,6 нг/мл. У всех остальных она сопоставима с размером инфаркта данной группы (табл.).

Таблица

**Влияние Милдроната и его производных
на величину зоны некроза и концентрацию Тропонин I
при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда (M±m, n=6)**

Группа	% некроза	% интактного миокарда	Уровень тропонина I (нг/мл)
Контроль(инфаркта миокарда)	27,3±1,2	72,7±1,2	16,26±1,9
ИМ+ милдронат (90 мг/ кг)	20,2±1,0*	79,8 ± 0,5	12,2±1,1*
ИМ + СТК-733(189 мг/ кг)	17,9±1,3*	82,1±0,7	10,95±1,8*
ИМ+ СТК-734 (237 мг/кг)	16,0±0,8*	84,0±1,2	7,7±1,5*
ИМ+ СТК-735(199 мг/ кг)	13,1±1,4*	86,9±1,3	6,04±1,6*
ИМ + СТК-61-К (159 мг/ кг)	17,2±1,4*	82,8±1,1	10,15±1,1*

Примечание: * - p<0,05 при сравнении с контрольной группой.

Определение зоны некроза миокарда является информативным показателем в определении противоишемического действия препарата. Установлено, что профилактическое введение соединений производных 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата СТК-733, СТК-734, СТК-735 и СТК-61-К в соответствующих дозах приводит к уменьшению зоны некроза. Зона некроза миокарда в контроле составляет 27,3±1,2%, предварительное введение субстанций снижает размер некроза до 17,9±1,3%, 16,0±0,8%, 13,1±1,4%, 17,2±1,4% соответственно. Результаты экспериментов с введением исследуемых соединений указывают на их выраженную противоишемическую активность, большую, чем у препарата сравнения.

При введении в молекулу 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата новой функциональной группы предполагает выявление новых свойств и усиление противоишемического эффекта, однако закономерно, что в зависимости от вводимой компоненты диапазон активности полученных субстанций может варьировать.

Несмотря на многочисленные эксперименты и клинические исследования, фармакотерапия ишемической болезни сердца нуждается в изыскании и внедрении в практику новых препаратов [2, 5].

Данные, полученные в наших экспериментах, подтверждают перспективность дальнейшего углубленного изучения производных 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата как потенциальных кардиофармакологических препаратов.

Выводы:

1. Введение 3- (2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата (Милдронат® производства «GRINDEX», Латвия) в дозе 90 мг/кг относительно контрольной группы животных уменьшало площадь зоны некроза миокарда левого желудочка при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда.

2. Производные 3- (2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата: СТК-733, СТК-734, СТК-735 и СТК-61-К – оказали выраженный противоишемический эффект. Данный показатель варьирует в зависимости от введенной в структуру молекулы функциональной группы, максимально проявляясь у вещества СТК-735 .

3. Производные 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия способны оказывать наиболее выраженный противоишемический эффект, в отличие от препарата сравнения Милдронат, что позволяет предположить их использование для наиболее эффективного лечения при ишемии/реперфузионных повреждениях миокарда и продолжить их дальнейшее изучение.

Литература

1. Акимов, А.Г. Перспективы применения миокардиальных цитопротекторов в кардиологической практике / А.Г. Акимов, В.Ю. Полумисков // Terra Medica. – 2005. – Кардиология. – №4. – С. 21-23.



2. Голиков, А.П. Свободнорадикальное окисление и сердечно-сосудистая патология: коррекция антиоксидантами/А.П. Голиков, С. А. Бойцов, В.П. Михин и др.//Лечащий врач. – 2003. – №4. – С.70-74.

3. Покровский, М.В. Влияние индуцибельной, эндотелиальной NO-синтазы и АТФ-зависимых калиевых каналов на эффекты 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата и дистантного preconditionирования при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда / М.В.Покровский, Л.М. Даниленко, О.В. Харитоновна и др. // Вестник ВолгГМУ: приложение. Материалы III Всероссийского научно-практического семинара для молодых ученых «Методологические аспекты экспериментальной и клинической фармакологии». – 2011. – С.24-25.

4. Ланкин, В.З. Моделирование каскада ферментных реакции в липосомах, включающих свободнорадикальное окисление, восстановление и гидролиз полиеновых анилов фосфолипидов для исследования влияния этих процессов на структурно-динамические параметры мембраны NO синтазы / В.З.Ланкин, А.К. Тихадзе, Ю.Г. Осис //Биохимия. – 2002. – №5. – С.679-689.

5. Лукьянова, Л. Д. Новые подходы к созданию антигипоксантов метаболического действия / Л. Д. Лукьянова // Вестник Российской академии медицинских наук. – 1999. – N 3. – С. 18-25.

6. Манухина, Е.Б. Роль свободного и депонированного оксида азота в адаптации к гипоксии сердечно-сосудистой системы/ Е.Б. Манухина, С.Ю. Машина, М.А. Власова // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2004. – № 3(11). – С. 4-11.

7. Sesti, C. Mildronate, a novel fatty acid oxidation inhibitor and antianginal agent, reduces myocardial infarct size without affecting hemodynamics / C. Sesti, B.Z. Simkhovich, I. Kalvinsh et al / J Cardiovasc Pharmacol. -2006.- Vol. 47(3). – P.493-499.

8. Sjakste, N. Endothelium- and nitric oxide-dependent vasorelaxing activities of gamma-butyrobetaine esters: possible link to the antiischemic activities of mildronate / N. Sjakste, A.L.Kleschyov, I.Kalvinsh et al // Eur J Pharmacol.- 2004- Vol. 495(1)- P.67-73.

STUDY ACTIVITY IN ROW ANTIISCHEMIC OF 3-(2, 2, 2-TRIMETILGIDRAZINY) PROPIONATE AT MODELING CORONARY OCCLUSION MYOCARDIAL INFARCTION

**L.M. DANILENKO¹, M.V. POKROVSKII¹
O.V. KHARITONOVA¹, G.N. KLOCHKOVA²
S.Y. SKACHILOVA³, O.G. KESAREV³
K.A. BELYAEV¹, A.V. HAVANSKIY¹**

¹ *Belgorod National Research University*

² *Region Clinical Hospital of St. Joasaph, Belgorod*

³ *Allrussian Scientific center of safety of biological active compounds, Settl. Staraya Kupavna*

e-mail: Danilenkolyudmila@mail.ru

An experimental study of the influence of using 3-(2, 2, 2-trimethylhydrazine) propionate potassium and its derivatives STK-733, STK-734, STK-735, STK-61K, to the area of necrotic myocardium of the left ventricle in the simulation coronary occlusion myocardial infarction. Shown, that the distant and pharmacological preconditioning of 3-(2, 2, 2-trimethylhydrazine) propionate and its derivatives can be considered as prevention syndrome, ischemia / reperfusion injury.

Key words: 3 - (2,2,2-trimethylhydrazine) propionate, preconditioning, infarction