

© Коллектив авторов, 2015
УДК 615-03:616.127-005.8

**3-(2,2,2-ТРИМЕТИЛГИДРАЗИНЯ) ПРОПИОНАТ:
РОЛЬ АТФ-ЗАВИСИМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ
В РЕАЛИЗАЦИИ КАРДИОПРОТЕКТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ**

М.В. Покровский¹, Л.М. Даниленко¹, И.А. Татаренкова²

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный
исследовательский университет», г. Белгород (1)
ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск (2)

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

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

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 [4, 7]. Однако, до сих пор не изучался вопрос о его возможности preconditionировать миокард.

Материалы и методы

Изучение выживаемости ишемизированного миокарда было проведено на 66-и кроликах массой 2-2,5 кг. Влияние 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата на размер зоны некроза проводили на модели коронароокклюзионного инфаркта миокарда. Инфаркт миокарда воспроизводился на наркотизированных животных (хлорал-

гидрат 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 хлорида для образования красного формазана [2, 3, 5, 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 Тропонин 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 минут, 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 K_{ATP} -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 K_{ATP} -каналов) в дозе 0,4 мг/кг, амингуанидин (Sigma) (блокатор iNOS) в дозе 100 мг/кг [8, 11].

Результаты 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 (табл. 1).

Ишемическое прекондиционирование (5 мин) за 30 минут до коронаро-окклюзии уменьшало площадь некротизированного миокарда в 3 раза до $11,8 \pm 0,8\%$ (табл. 1).

Таблица 1

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

N п/п	Экспериментальная группа	% некроза	Уровень ТпI 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 + амингуанидин (100 мг/кг) + ДИП	$22,8 \pm 2,0^{\#}$	$14,6 \pm 1,8^{\#}$
9.	КО/реперфузия + амингуанидин (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

Дистантное прекондиционирование, внутривенное введение 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата в дозе 90 мг/кг и

их сочетание 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 (табл. 1).

Неселективная блокада NO-синтазы с помощью внутривенного введения L-NAME и селективная блокада индуцибельной NO-синтазы (iNOS) с помощью внутривенного введения аминуганидина на фоне моделирования ишемии/реперфузии, частично устраняли протективное действие 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата и дистантного ишемического preconditionирования (табл. 1).

Блокада K_{ATP} -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 (табл. 1).

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.

K_{ATP} -каналы являются эффекторным механизмом в реализации противоишемического эффекта действия как ДИП [1, 10], так и 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата. 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат, конкурируя за рецепторы гамма бутеро бетоина (ГББ), снижает концентрацию карнитина. В результате из-за сродства геометрии ГББ ацетилхолин происходит активация эндотелиальных ацетилхолиновых рецепторов, что приводит к индукции синтеза NO. NO выступает как триггер ИП, и 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 про-

исходит 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.

Выводы

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

2. В реализации кардиопротективных эффектов 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата принимают участие K_{ATP} -каналы и индуцибельная NO-синтаза о чем свидетельствует устранение протективного действия при введении глибенкламида и аминуганидина.

Литература

1. Дистантное и фармакологическое preconditionирование – новые возможности стимуляции неоваскулогенеза / И.М. Колесник [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2010. – № 6. – С. 56-58.
2. Изучение кардиопротекторной активности производного 3-оксипиридина / В.А. Рагулина [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2011. – № 3. – С. 118.
3. Исследование эндотелиопротективных эффектов препарата кардионат на ADMA-подобной модели дефицита азота при специфической блокаде NO-синтазы / Е.Б. Артюшкова [и др.] // International Journal on Immunorehabilitation = Международный журнал по иммунореабилитации. – 2009. – Т. 11, №1. – С. 66-67.
4. Миокардиальная цитопротекция ингибитором β -окисления жирных кислот Милдронатом в виде монотерапии и в сочетании с β -адреноблокатором ате-

- нололом у больных с постинфарктной дисфункцией левого желудочка / А.Т. Тепляков [и др.] // Кардиология. – 2003. – № 2. – С. 15-18.
5. Экспериментальное изучение кардиопротекторного и эндотелиопротекторного действия макролидов и азалидов / Е.С. Черноморцева [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – №2. – С. 29-31.
 6. Эффективность отечественного миокардиального цитопротектора и его фармакодинамика при острой ишемии миокарда: клинические результаты и экспериментальные модели / В.П. Михин [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2011. – № 2. – С. 37-42.
 7. Dambrova M. Mildronate: cardioprotective action through carnitine-lowering effect / M. Dambrova, E. Liepinsh, I. Kalvinsh // Trends Cardiovasc Med. – 2003. – Vol. 12. – P. 275-279.
 8. Downey J.M. Signaling pathways in ischemic preconditioning / J.M. Downey, A.M. Davis, M.V. Cohen // Heart Fail Rev. – 2007. – Vol. 12. – P. 181-188.
 9. Mildronate, an inhibitor of carnitine biosynthesis, induces an increase in gamma-butyrobetaine contents and cardioprotection in isolated rat heart infarction / E. Liepinsh [et al.] // J Cardiovasc Pharmacol. – 2008. – Vol. 48. – P. 314-319.
 10. Progression of myocardial necrosis during reperfusion of ischemic myocardium / K. Matsumura [et al.] // Circulation. – 2008. – Vol. 97, №8. – P. 795-804.
 11. Skyschally A. Pathophysiology of myocardial infarction: protection by ischemic pre- and postconditioning / A. Skyschally, R. Schulz, G. Heusch // Heart Fail Rev. – 2008. – Vol. 33. – P. 88-100.
 12. The collateral circulation of the heart / W. Schaper [et al.] // Prog Cardiovasc. – 2005. – Vol. 33, №1. – P. 57-77.

**3-(2,2,2-TRIMETHYLHYDRAZINIUM) PROPIONATE:
THE ROLE OF ATP-DEPENDENT POTASSIUM CHANNELS
IN CARDIOPROTECTION EFFECT**

M.V. Pokrovsky, L.M. Danilenko, I.A. Tatarenkova

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 necrosis zone 3 and 1,5 times, respectively. Found participation ATP dependent potassium channels (K-ATP 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 cardioprotection action.

Keywords: *preconditioning, ischemia / reperfusion, 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate.*

Даниленко Л.М. – к.ф.н., доц. кафедры фармакологии Белгородского государственного национально исследовательского университета.

E-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru

Покровский М.В. – д.м.н., проф., зав. кафедрой фармакологии Белгородского государственного национально исследовательского университета.

E-mail: mpokrovsky@yandex.ru

Татаренкова И.А. – к.ф.н., ст. преп. кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета.

E-mail: irtalex@yandex.ru