

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРДИО- И ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ, ОБЛАДАЮЩЕГО АНТИАРИТМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ, SS-68 (РОССИЯ)

С.К. БОГУС¹
П.А. ГАЛЕНКО-ЯРОШЕВСКИЙ¹
М.В. ПОКРОВСКИЙ²
М.В. КОРОКИН²
К.Ф. СУЗДАЛЕВ³

¹⁾ Кубанская государственная
медицинская академия

²⁾ Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

³⁾ НИИ Физической и органической
химии Южного федерального
университета (Ростов-на-Дону)

e-mail: konsuz@gmail.com

В работе представлены материалы о влиянии нового соединения, обладающего антиаритмической активностью, SS-68. Показано, что соединение SS-68 (1 мг/кг, однократно в течение 7 суток) снижало выраженность артериальной гипертензии при моделировании L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции, однако значения артериального давления не достигали целевых значений. SS-68 (2 мг/кг) за 30 минут до острой коронароокклюзии у наркотизированных кроликов проявляло кардиопротективную активность, достоверно уменьшая зону некроза и уровень тропонина I. По выраженности протективного действия SS-68 сопоставим с милдронатом (80 мг/кг) и уступает эффекту прямого ишемического preconditionирования.

Ключевые слова: соединение SS-68, эндотелиальная дисфункция, кардиопротекция, ишемическое preconditionирование.

Введение. В лаборатории кафедры фармакологии Кубанского государственного медицинского университета в процессе направленного скрининга новых производных индола выявлено (С.К.Богус) соединение с лабораторным шифром SS-68 (синтезировано в НИИ Физической и органической химии Южного федерального университета (Ростов-на-Дону)), которое по антиаритмической активности и широте терапевтического действия в 2-3,5 раза превосходит (в зависимости от модели аритмии) – лидокаин, аймалин, этацизин и амиодарон, обладает антиангинальными свойствами. Кроме того SS-68 оказывало блокирующее влияние на I_f каналы (сопоставимо с ивабрадином); практически не изменяло коррегированный QT.

Для исследования эндотелиопротективного действия выбрана доза SS-68 у крыс – 1 мг/кг в/б ежедневно в течение 7 суток на фоне моделирования L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота. В качестве «препаратов сравнения» выбраны сопоставимые дозы производных оксипиридина: мексикор и этоксидол. Доза для изучения кардиопротективной активности на модели коронароокклюзионного инфаркта у кроликов – 2 мг/кг внутривенно за 30 мин до коронароокклюзии. Референтным препаратом выбран милдронат и 5 минутное ишемическое preconditionирование.

Материалы и методы. Исследование эндотелиопротективной активности. Опыты проводились на белых крысах самцах линии Wistar массой 180-200 г. Для моделирования эндотелиальной дисфункции N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) вводился внутривенно в дозе 25 мг/кг/сут. Исследуемый препарат SS-68 вводили внутривенно, за 30 минут до введения L-NAME, в дозе 1 мг/кг один раз в день в течение 7 суток. «Мексикор» (ООО «ЭкоФармИнвест») в дозе 30 мг/кг и новое производное этилметилгидроксипиридина сукцината – препарат «Этоксидол» вводили внутривенно за 30 минут до введения L-NAME один раз в день в течение 7 суток. Интактным животным в течение 7 суток внутривенно вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме.

На 8-й день от начала эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД), болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в бедренную вену. Показатели гемодинамики – систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) – измеряли непрерывно посредством программно-аппаратного комплекса

«Віорас». Помимо измерения АД проводили ряд функциональных тестов с последующей оценкой изменения параметров гемодинамики (САД, ДАД, ЧСС) в ответ на внутривенное введение раствора ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного (ЭЗВД) [3], а также изменения параметров гемодинамики в ответ на внутривенное введение раствора нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного (ЭНВД) [1].

Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемыми препаратами оценивали по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД), представляющему собой отношение площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение НП (ЭНВД) к площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение АХ (ЭЗВД) [3].

Исследование кардиопротективного действия. Изучение выживаемости ишемизированного миокарда проводили на лабораторных кроликах массой 2-2,5 кг. Инфаркт миокарда воспроизводили 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, с последующей регистрацией ЭКГ во II стандартном отведении в течение 20 минут. Доступ к сердцу производили путем торакотомии в четвертом межреберье слева, вскрывали перикард и, ориентируясь на медиальный край ушка левого предсердия слева и конус легочной артерии справа, определяли локализацию общего ствола левой коронарной артерии, под который с помощью атравматической иглы подводили лигатуру. Для создания обратимой ишемии миокарда формировали окклюдер: концы лигатуры, охватывающей коронарную артерию, проводили в просвет полиэтиленовой трубки диаметром 1 мм и длиной 2-3 см, после чего путем смещения трубки к сердцу добивались окклюзии левой коронарной артерии, а в противоположном направлении – реперфузии. С целью поддержания окклюзии в течение 30 минут на трубку накладывали зажим. В течение эксперимента животные находились на термостатируемом операционном столике; при этом температура тела животного поддерживалась в пределах $37,0^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

За 30 мин до перевязки коронарной артерии осуществляли введение в маргинальную вену уха кролика испытуемого соединения SS-68 в дозе 2 мг/кг. «Милдронат» (Гриндекс), также вводили внутривенно за 30 мин в дозе 80 мг/кг. Аналогично за 30 мин до ишемии проводили 5-минутный эпизод ишемического preconditionирования. Через 30 минут после коронарной окклюзии осуществляли снятие лигатуры и проводили реперфузию миокарда в течение 90 мин. После чего осуществляли забор крови из правого желудочка в одноразовую вакуумную пробирку с антикоагулянтом для определения специфического маркера сердечной мышцы TroponinI (TnI). Уровень тропонина определяли на иммунофлуоресцентном приборе Triage MeterPro (Biosite, США), с использованием тест-системы CardiacPanel. Оценку площади некротизированного миокарда осуществляли после окончания полуторачасовой реперфузии. Поперечные срезы миокарда производили через каждые 0,8 см, начиная с уровня 0,8 см ниже места наложения лигатуры. Срезы миокарда помещали в емкость, содержащую фосфатный буфер (рН 7,4) и 1 мг/мл трифенилтетразолия хлорид для образования красного формазана. Подсчет площадей интактного и некротизированного миокарда левого желудочка производили на каждом из четырех срезов с помощью попиксельного анализа в программе AdobePhotoshop 9.0.

Результаты исследования. Влияние исследуемых веществ на исходные показатели артериального давления у наркотизированных крыс с моделированием L-NAME индуцированной патологии представлены в табл. 1.

Ежедневное, в течение 7 дней, внутрибрюшинное введение L-NAME привело к выраженному повышению артериального давления до $190,3 \pm 6,7$ и $145,0 \pm 3,9$ мм рт. ст. и пятикратному увеличению КЭД за счет резкого уменьшения реакции вазодилатации на ацетилхолин (табл. 1).

Обнаружено, что соединение SS-68 (1 мг/кг, ежедневно, в течение 7 суток) статистически значимо снижало исходные показатели гемодинамики, и значения САД и ДАД достоверно отличались от таковых значений в группе животных с моделированием L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота (табл. 1).

В табл. 1 представлены результаты функциональных проб на эндотелийзависимое (ацетилхолин 40 мкг/кг в/в) и эндотелийнезависимое (нитропруссид 30 мг/кг в/в) расслабление сосудов у животных с L-NAME индуцированной патологией на фоне введения изучаемого препарата.

Обработка полученных экспериментальных данных позволила установить, что SS-68 обладает эндотелиопротективным действием, выразившимся в статистически значимом снижении КЭД до $3,3 \pm 0,4$ в сравнении с группой получавших L-NAME – $5,4 \pm 0,6$ (табл. 1).

Мексикор (30 мг/кг) достоверно не влиял на значения артериального давления, но выражено снижал КЭД до $1,9 \pm 0,2$ (табл. 1). Этоксидол (25 мг/кг) оказывал умеренное гипотензивное и выраженное эндотелиопротективное действие (табл. 1).

Таблица 1

Изменение показателей гемодинамики и значения коэффициента эндотелиальной дисфункции при моделировании L-NAME индуцированной эндотелиальной дисфункции и ее коррекции соединением SS-68, препаратами мексикор и этоксидол ($M \pm m$; n=10)

Группы животных	Функциональная проба	САД, мм рт. ст.	ДАД, мм рт. ст.	ЧСС, уд./мин.	S сосудистой реакции, усл. ед.	КЭД
Интактные	Исходные	137,7±3,7	101,9±4,3	389,1±21,9		1,1±0,1
	АХ	84,3±4,5	38,7±2,8	371,4±18,2	1268,0±74,8	
	НП	83,0±3,7	42,1±4,4	384,5±14,1	1375,3±93,7	
L-NAME 25 мг/кг	Исходные	190,3±6,7*	145,0±3,9*	379,9±14,8		5,4±0,6*
	АХ	110,6±5,2*	82,8±6,6*	374,8±21,3	695,3±87,6*	
	НП	88,7±4,7	50,8±4,2	389,7±19,1	3322,7±116,7*	
L-NAME + SS-68 1 мг/кг	Исходные	157±18,2**	120,2±12,2**	389,1±20,4		3,3±0,4**
	АХ	82,2±9,7**	60,2±9,2**	368±11,5	1021,9±181**	
	НП	82,5±10,6	54,5±11,7	381,4±15,3	3300±709	
L-NAME + мексикор 30 мг/кг	Исходные	172,3±9,9	136,1±5,6	372,4±9,7		1,9±0,2**
	АХ	80,4±2,6**	51,3±4,3**	353,0±6,9	1344,9±169,3**	
	НП	80,7±5,1	45,7±2,0	379,2±7,3	2545,6±323,7**	
L-NAME + этоксидол 25 мг/кг	Исходные	156,5±8,6**	114,7±12,2**	350,0±16,2		2,1±0,2**
	АХ	94,0±6,4**	55,0±4,9**	322,0±12,8	1560,8±330,1**	
	НП	103,8±6,7**	51,8±4,8	355,9±14,9	3363,9±454,1**	

Примечание: * – $P < 0,05$ в сравнении с интактными, ** – $P < 0,05$ в сравнении с группой получавших L-NAME, АХ – проба на ацетилхолин, НП – проба на нитропруссид, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений, КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции.

Таким образом, соединение SS-68 в экспериментах с моделированием L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункцией у крыс проявляло гипотензивную и эндотелиопротективную активность, сопоставимую с антиоксидантами оксипиридинового ряда мексикором и этоксидолом.

Результаты исследования кардиопротективной активности соединения SS-68 представлены в табл. 2.

Обнаружено, что SS-68 (2 мг/кг) за 30 минут до ишемии вызывает ограничение зоны некроза до $20,2 \pm 1,9\%$, в сравнении с контролем $27,3 \pm 1,2\%$. Параллельно через 90 минут после ишемии снижался уровень тропонина I до $11,2 \pm 1,3$ нг/мл в сравнении с контролем $16,2 \pm 1,9$ нг/мл.

Таблица 2.

Влияние SS-68 на величину зоны некроза и концентрацию тропонина I при моделировании коронаро-окклюзионного инфаркта миокарда у кроликов ($M \pm m$, n=6)

Группа	% некроза	% интактного миокарда	уровень тропонина I (нг/мл)
Контроль (инфаркта миокарда)	27,3±1,2	72,7±1,2	16,2±1,9
ИМ+ SS-68 (2 мг/ кг)	20,2±1,9*	79,8 ± 2,0*	11,2 ± 1,3*
ИМ + Милдронат (80 мг/кг)	20,2±0,5*	79,8±0,3*	12,7±0,5*
ИМ + прекодиционирование	9,1±0,6*	90,9± 0,5*	4,6±0,8*

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



Референтный препарат милдронат (80 мг/кг) оказывал сопоставимое кардиопротективное действие, ограничивая зону некроза и снижая уровень тропонина I в плазме крови (табл. 2).

Учитывая возможность реализации кардиопротективного действия соединения SS-68 за счет взаимодействия с калиевыми каналами, в качестве дополнительного контроля выполнена серия с прямым 5-минутным ишемическим прекондиционированием. Результаты экспериментов показали, что ишемическое прекондиционирование оказывает более мощное кардиопротективное действие, уменьшая зону некроза до $9,1 \pm 0,6\%$, а тропонина I до $4,6 \pm 0,8$ нг/мл, что соответственно в 4 и 6 раз меньше, чем в контроле (табл. 2).

Таким образом, соединение SS-68 (2 мг/кг) за 30 мин до острой коронароокклюзии у наркотизированных кроликов проявляло кардиопротективную активность, достоверно уменьшая зону некроза и уровень тропонина I. По выраженности протективного действия SS-68 сопоставим с милдронатом (80 мг/кг) и уступает эффекту прямого ишемического прекондиционирования.

Выводы:

1. Соединение SS-68 (1 мг/кг, однократно в течение 7 суток) снижало выраженность артериальной гипертензии при моделировании L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции, однако значения артериального давления не достигали целевых значений.

2. Соединение SS-68 в экспериментах с моделированием L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункцией у крыс проявляло эндотелиопротективную активность, сопоставимую с антиоксидантами оксипиридинового ряда мексикором и этоксидолом.

3. Соединение SS-68 (2 мг/кг) за 30 мин до острой коронароокклюзии у наркотизированных кроликов проявляло кардиопротективную активность, достоверно уменьшая зону некроза и уровень тропонина I. По выраженности протективного действия SS-68 сопоставим с милдронатом (80 мг/кг) и уступает эффекту прямого ишемического прекондиционирования.

Литература

1. Галаган, М.Е. Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо- и эндогенных источников / М.Е. Галаган, А.В. Широколова, А.Ф. Ванин // Вопр. мед. химии. – 1991. – Т. 37, № 1. – С. 67-70.
2. Покровский, М.В. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при L-NAME-индуцированной модели дефицита оксида азота в эксперименте/ М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г. Покровская // Рос. журн. иммунологии. – 2006. – Т. 96. – С. 60-61.
3. Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension / J.B. Laursen, S. Rajagopalan, Z. Galis et al. // Circulation. – 1997. – Vol. 95. – P. 588-593.

STUDY OF CARDIO-AND ENDOTHELIOPROTECTIVE ACTION OF THE NEW COMPOUND HAVING ANTIARRHYTHMIC ACTIVITY SS-68 (RUSSIA)

S.K. BOGUS¹

P.A. GALENKO-YAROSHEVSKIY¹

M.V. POKROVSKIY²

M.V. KOROKIN²

K.F. SUZDALEV³

¹⁾ *Kuban State Medical Academy*

²⁾ *Belgorod National Research University*

³⁾ *Research Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University, Rostov-on-Don*

e-mail: mpokrovsky@yandex.ru

This paper presents materials on the impact of the new compound with antiarrhythmic activity, SS-68. It is shown that SS-68 (1 mg/kg, once daily for 7 days) reduced the severity of hypertension in the simulation of L-NAME-induced endothelial dysfunction, but the values did not achieve blood pressure targets. SS-68 (2 mg/kg) 30 minutes prior to the acute coronarocclusion in anesthetized rabbits showed cardioprotective activity, significantly reducing the area of necrosis and the level of troponin I. In the expression of the protective action SS-68 is comparable to mildronate (80 mg/kg) and inferior to the effect of direct ischemic preconditioning.

Key words: SS-68 compound, endothelial dysfunction, cardioprotection, ischemic preconditioning.