
ФАРМАКОЛОГИЯ. ТОКСИКОЛОГИЯ

**А. С. Тимофеева, В. А. Анисимова, А. А. Желтова, В. Ю. Федорчук,
В. В. Гурова, Е. В. Резников, С. М. Сорокин**

Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармакологии

КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА СОЕДИНЕНИЯ РУ-1190 НА МОДЕЛИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА У КРЫС

УДК 616.12+616-005.4:599.323.4

В экспериментах на крысах на модели ишемии/реперфузии миокарда изучено кардиопротекторное действие соединения РУ-1190 в дозе 1 мг/кг внутривенно. Препарат статистически достоверно уменьшает размеры зоны некроза миокарда, снижает уровень тропонина I плазмы крови и тяжесть постреперфузионных нарушений ритма.

Ключевые слова: Na⁺/H⁺-обменник, ишемия/реперфузия, тропонин I, зонипорид, РУ-1190, кардиопротекция.

**A. S. Timofeeva, V. A. Anisimova, A. A. Zheltova, V. U. Fedorchuk,
V. V. Gurova, E. V. Reznikov, S. M. Sorokin**

CARDIOPROTECTIVE PROPERTIES OF THE COMPOUND RU-1190 IN EXPERIMENTAL ISCHEMIA AND REPERFUSION IN RAT MYOCARDIUM

An experimental model of rat's heart ischemia/reperfusion was used to study the cardioprotective effect of the compound RU-1190 (1 mg/kg i.v.) The drug significantly reduced the area of myocardial necrosis, decreased the serum troponin I level and the severity of postreperfusion arrhythmia as well.

Key words: Na⁺/H⁺-exchange inhibitor, ischemia/reperfusion, troponin I, zoniporide, cardioprotection.

Одним из современных подходов кардиопротекции является использование избирательных ингибиторов Na⁺/H⁺ обмена (NHE-1), поскольку они ограничивают перегрузку клетки кальцием и уменьшают тяжесть развивающихся повреждений, в том числе в течение миокардиальной ишемии и реперфузии [1, 3, 5, 7]. В настоящее время наиболее активным для селективного фармакологического ингибирования NHE-1 считается производное бензоилгуанидина — зонипорид [11]. Однако в последнее время появились публикации о нейротоксическом действии, что существенно ограничивает его применение [9]. Способность ингибировать NHE-1 обменник показана у производных бензимидазолов [12]. Выполненные нами предварительные исследования *in vitro* на тромбоцитах кролика, по методике

D. Roskopf, et al. (1991) [10] и K. Kusumoto, et al. (2002) [8], также позволили выявить ряд соединений с подобным механизмом действия среди производных бензимидазола со встроенной гуанидиновой группировкой. Одним из таких соединений является производное N⁹-имидазобензимидазола РУ-1190.

В литературе имеются подтверждения того, что ингибиторы Na⁺/H⁺-обмена (NHE-1) способны улучшать восстановление сократительной функции как после относительно коротких (до 15—20 мин), так и длительных периодов ишемии, сопровождающихся при реперфузии развитием некроза [2]. Высокая эффективность защиты миокарда карипоридом (НОЕ 642) и его структурным аналогом НОЕ-694 у пациентов с острым инфарктом и в кардиохирургии

свидетельствует о том, что ингибиторы NHE-1 являются принципиально новым классом кардиопротекторов. Поэтому запланировано изучить кардиопротекторные свойства соединения РУ-1190.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Сравнительное изучение кардиопротекторных эффектов у соединения РУ-1190 и зонипорида на модели ишемии/реперфузии миокарда у крыс.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были выполнены на 24 крысах-самках, весом 260—300 г, которые содержались в условиях вивария ВолгГМУ с естественным световым режимом на стандартной диете лабораторных животных в соответствии с ГОСТ Р 50258-92 (1993). На момент проведения экспериментов животные были здоровыми, изменений поведения, аппетита, режима сна и бодрствования не было обнаружено.

Исследование проводилось в соответствии с применимыми требованиями ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009, ГОСТ Р ИСО 5725-2002 и «Правил лабораторной практики», утвержденных приказом Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 № 708н, с соблюдением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» [6]. Все эксперименты были проведены в соответствии с рекомендациями Этического комитета Волгоградского государственного медицинского университета протокол № 126-2011 от 02 февраля 2011 года.

Животные были разделены на 4 группы: 1 — «ложнооперированные» — животным проводился весь комплекс операций, кроме перевязки левой коронарной артерии; 2 — «контроль-ишемия/реперфузия» — животным с перевязкой левой коронарной артерии вводили физиологический раствор за 10 минут до реперфузии; 3 — «ишемия/реперфузия + зонипорид» — животным с перевязкой левой коронарной артерии внутривенно вводили зонипорид (1 мг/кг) за 10 минут до реперфузии; 4 — «ишемия/реперфузия + РУ-1190» животным с перевязкой левой коронарной артерии вводились изучаемые соединения за 10 минут до реперфузии.

Исследования проводили при искусственной вентиляции легких. Животных наркотизировали хлоралгидратом (400 мг/кг, внутривенно). В условиях торакотомии, перикардотомии воспроизводили ишемию миокарда путем перевязки общего ствола левой коронарной артерии (ЛКА). Продолжительность ишемии и реперфузии составляла по 60 минут. В зависимости от группы, животным вводили или селективный ингибитор зонипорид (SIGMA, США), или физиологический раствор, или соединение РУ-1190, синтезированное в научно-исследовательском институте физической и органической химии (НИИФОХ) Южного Федерального университета. Визуализацию зон риска и ишемии определяли с по-

мощью окрашивания синим эвансом (СЭ) (SIGMA, США) и 2,3,5-трифенилтетразолием хлоридом (ТТС) (SIGMA, США) [4]. Для определения площади анатомической зоны риска и зоны некроза базальные поверхности фотографировали цифровым фотоаппаратом Sony Cyber-shot 7.2 mega pixels (Япония). Расчет площадей осуществляли на компьютере с помощью программы Image J. Данные по размерам зон риска и инфаркта представляли в виде отношения общего объема зоны риска к общему объему левого желудочка, а также в виде отношения объема зоны некроза к объему зоны риска (в процентах).

Регистрацию ЭКГ проводили на компьютерном электрокардиографе «Поли-Спектр 8/В» («Нейрософт», Россия) во II стандартном отведении.

В качестве маркера повреждения миокарда иммунохимически определяли содержание тропонина I в плазме крови крыс набором реактивов для иммуноферментного анализа Rat cardiac troponin I (сTn-I) фирмы CUSABIO BIOTECH CO., LTD (Китай) на универсальном микропланшетном ридере ELX 800 производства фирмы Bio-Tek Instruments, Inc (США). Содержание тропонина I выражали в пкг/мл плазмы.

Статистические расчеты проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows 6.0, фирмы StatSoft, Inc. (США). Сравнение выборок проводили попарно с использованием U-критерия Манна-Уитни. Гипотезу о существовании различий между выборками принимали при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У животных в группе «контроль-ишемия/реперфузия» при проведении перевязки левой коронарной артерии развивалось ишемическое повреждение миокарда левого желудочка, что подтверждено характерными изменениями на ЭКГ (подъем сегмента ST) и появлением различных нарушений ритма. После окрашивания СЭ зона риска составила $(53,20 \pm 4,99)$ % площади левого желудочка (табл.). При последующем окрашивании ТТС зона некроза составила $44,36$ % от зоны риска. При введении зонипорида и соединения РУ-1190 наблюдается достоверное уменьшение зоны некроза по сравнению с группой «контроль-ишемия/реперфузия» в 1,4 и 1,5 раза соответственно (табл.).

При иммуноферментном анализе наличия повреждения миокарда у животных группы «контроль-ишемия/реперфузия» был показан достоверно высокий уровень тропонина I в плазме крови по сравнению с ложнооперированными (табл.). Уровень тропонина повысился до $528,32$ Пкг/мл. В группе «ишемия/реперфузия+зонипорид» наблюдался в 2,1 раза, а в группе «ишемия/реперфузия + РУ-1190» в 1,5 раз более низкий подъем маркера повреждения по отношению к группе «контроль-ишемия/реперфузия».

Основные показатели кардиопротекторного действия соединения РУ-1190 на модели ишемии/реперфузии при внутривенном введении в дозе 1 мг/кг

№	Группа	n	Размеры зоны риска (% по отношению к левому желудочку)	Размеры зоны некроза (% по отношению к зоне риска)	Уровень тропонина I, Пкг/мл
1	Ложно-оперированные	6	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	136,65 ± 38,03
2	Контроль-ишемия/реперфузия	6	53,20 ± 4,99 [#]	44,36 ± 3,79 [#]	528,32 ± 81,32 [#]
3	Ишемия/реперфузия + зонипорид	6	47,25 ± 3,82 [#]	31,18 ± 2,98 ^{#*}	252,76 ± 72,05 ^{#*}
4	Ишемия/реперфузия + РУ-1190	6	54,62 ± 2,27 [#]	30,29 ± 3,21 ^{#*}	359,09 ± 50,76 [#]

[#]Значение статистически значимо по отношению к группе 1, $p < 0,05$;

^{*}значение статистически значимо по отношению к группе 2, $p < 0,05$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований было показано наличие кардиопротекторного действия у производного N⁹-имидазобензимидазола соединения РУ-1190. Оно подобно зонипориду статистически достоверно уменьшало размер зоны некроза миокарда в 1,5 раза. По влиянию на уровень тропонина I в плазме крови соединение РУ-1190 уступало препарату сравнения в 1,5 раза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зверев Я. Ф., Зверев В. М. // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2003. — Т. 2, № 3. — С. 16—34.
2. Писаренко О. П., Студнева И. М., Серебрякова Л. И. и др. // Кардиология. — 2005. — Т. 45, № 2. — С. 37—44.
3. Спасов А. А., Гурова Н. А., Харитонов М. В. // Экспер. и клин. фармакол. — 2013. — Т. 1, № 76. — С. 43—48.
4. Сыренский А. В., Гапагудза М. М., Егорова Е. И. и др. // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2008. — № 10. — С. 1171—1180.
5. Andreadou I., Iliodromitis E. K., Koufaki M., et al. // Curr. Med. Chem. — 2008. — № 15. — P. 3204—3213.
6. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes Official Journal L 276, 20.10.2010. — P. 33—79 (revising Directive 86/609/EEC).
7. Huber J. D., Bentzien J., Boyer S. J., et al. // J. Med. Chem. — 2012. — Vol. 55, № 16. — P. 7114—7140.
8. Kusumoto K., Igata H., Abe A., et al. // Br. J. Pharmacol. — 2002. — Vol. 135, № 8. — P. 1995—2003.
9. Pettersen J. C., Chouinard L., Kerlin R. L., et al. // Toxicol. Pathol. — 2008 — Vol. 4, № 36. — P. 608—619.
10. Roszkopf D., Morgenstern E., Scholz W., et al. // J. Hypertens. — 1991. — Vol. 9, № 3. — P. 231—238.
11. Tracey W. R., Allen M. C., Frazier D. E., et al. // Cardiovasc. Drug. Rev. — 2003. — № 21. — P. 17—32.
12. Zhang R., Lei L., Xu Y. G., et al. // Bioorg. Med. Chem. Lett. — 2007. — Vol. 17, № 9. — P. 2430—2433.