

УДК 615:611.127

**ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ
В МИОКАРДЕ ПРИ РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ С ПОМОЩЬЮ
3-ОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА И 3-ОКСИПИРИДИНА АДИПИНАТА****¹Замотаева М.Н., ¹Инчина В.И., ¹Дроздов И.А., ¹Кузьмичев Н.Д., ²Кузнецов Ю.В.**¹*Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск, e-mail: zamy03@mail.ru;*²*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, e-mail: drk2001@mail.ru*

На модели окклюзии-реперфузии коронарной артерии у крыс исследовано влияние цитопротекторов антиоксидантного типа действия из класса производных 3-оксипиридина на морфологические изменения в миокарде, связанные с реперфузионным синдромом. Доказано, что 3-оксипиридина адипинат в дозе 80 мг/кг и 3-оксипиридина сукцинат в дозе 50 мг/кг снижают выраженность воспалительной реакции в зоне реперфузии, что выражается в уменьшении лейкоцитарной инфильтрации миокарда, и достоверно уменьшают объем ишемизированного участка сердечной мышцы. Более выраженная кардиопротекторная активность при экспериментальном реперфузионном синдроме отмечается у 3-оксипиридина сукцината, что, вероятно, связано с антигипоксическим действием сукцината. Таким образом, проведенные исследования показали целесообразность применения производных 3-оксипиридина для коррекции реперфузионного повреждения миокарда.

Ключевые слова: окклюзия, реперфузионный синдром, инфаркт миокарда, 3-оксипиридин, антиоксиданты**THE POSSIBILITY OF CORRECTING OF THE STRUCTURAL CHANGES
IN MYOCARDIUM CAUSED BY REPERFUSION DAMAGES WITH THE HELP
OF SUCCINAT 3-OXIPYRIDINE AND ADIPINAT 3-OXIPYRIDINE****¹Zamotaeva M.N., ¹Inchina V.I., ¹Drozhdov I.A., ¹Kuzmichev N.D., ²Kuznetsov Y.V.**¹*Mordovian N.P.Ogariov State University, Saransk, e-mail: zamy03@mail.ru;*²*Biochemical Physics Emmanuel N.M. Institute Russian Academy of Sciences,
Moscow, e-mail: drk2001@mail.ru*

On the model of occlusion-reperfusion of coronary artery in rats it is investigated the influence of cytoprotectors antioxidant action type from class derivatives of 3-oxipiridine on the morphological myocardium changes, caused by reperfusion syndrome. It is found, that adipinat 3-oxipiridine in a doze of 80mg/kg and succinat 3-oxipiridine in a doze of 50mg/kg increase the severity of inflammatory response in the area of reperfusion, that is expressed in increase leukocyte infiltration of myocardium and increase volume of the area of ischemia heart muscle. More pronounced cardioprotective activity in experimental reperfusion syndrome is observed in succinat 3-oxipiridine, this is associated with antihypoxic effect of succinat. Thus, the experimental study shows that it is purposeful to use derivatives of 3-oxipiridine for the correction of reperfusion myocardium damages.

Keywords: occlusion, reperfusion syndrome, myocardial infarction, 3-oxipiridine, antioxidants

В основе современных принципов лечения острого коронарного синдрома (ОКС) с подъемом сегмента ST лежит реканализация остро обтурированной коронарной артерии различными путями (тромболизис, коронароангиопластика). Эффективной реканализации всегда сопутствует реперфузионный синдром, часто проявляющийся тяжелой систолической дисфункцией левого желудочка [7], появлением фатальных аритмий, распространением зоны инфаркта миокарда и неблагоприятным прогнозом [10]. В основе данного синдрома лежит гибель определённой части клеток в процессе восстановления перфузии данной области левого желудочка. Происходит это в результате сложной цепочки патологических процессов, следствием которых является вхождение ионов Ca⁺⁺ и продуктов анаэробного гликолиза в ише-

мизированные клетки в связи с недостатком энергетических субстратов [3]. Этому процессу способствует также продукция свободных кислородных радикалов, активация нейтрофилов, отек эндотелия и миоцитов, потеря антиоксидантных энзимов и апоптоз кардиомиоцитов [11]. В данной связи целесообразным представляется исследование эффективности кардиопротекторов антиоксидантного типа действия при реперфузионном синдроме.

В наших исследованиях ранее была доказана кардиопротекторная активность 3-оксипиридина сукцината и 3-оксипиридина адипината при экспериментальной острой и хронической сердечной недостаточности у крыс [5, 6]. Поэтому перспективным представляется изучение эффективности этих соединений при реперфузионном повреждении миокарда.

Целью нашей работы явилось изучение влияния 3-оксипиридина адипината и 3-оксипиридина сукцината на морфологические изменения, возникающие при реперфузионном повреждении миокарда в эксперименте.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводились на 24 нелинейных белых крысах, содержащихся в стандартных условиях вивария. Предварительно наркотизированным уретаном (800 мг/кг внутривенно) животным проводилась трахеостомия и протезирование самостоятельного дыхания аппаратом искусственной вентиляции легких «Вита-1». После левосторонней торакотомии в четвертом межреберье слева рассекали перикард и обнажали сердце. Ориентируясь на медиальный край ушка левого предсердия слева и конус легочной артерии справа, определяли локализацию общего ствола левой коронарной артерии и отходящую от нее в сторону верхушки сердца – нисходящую ветвь левой коронарной артерии, под которую при помощи асептической иглы подводили лигатуру. После этого свободные концы лигатуры проводили через окклюдер, который представлял собой полую полипропиленовую трубку длиной 3 см и внутренним диаметром 2 мм. Путем смещения трубки к сосуду добивались окклюзии нисходящей ветви левой коронарной артерии, а в противоположном направлении – реперфузии. С целью поддержания окклюзии в течение 10 мин на противоположный от сердца конец трубки накладывали эластичный фиксатор, в котором в натянутом состоянии фиксировались свободные концы лигатуры. По истечении 10-минутной окклюзии сосуда эластичный фиксатор снимался, окклюдер удалялся, тем самым добиваясь реперфузии миокарда. В эксперимент включали контрольную серию (группа № 1) с вышеописанной моделью окклюзии-реперфузии миокарда и 2 серии с коррекцией изменений. В группе № 2 за 30 мин до наложения окклюдера животным внутривенно вводился 3-оксипиридина сукцинат в дозе 50 мг/кг, что составляет 10% от LD₅₀ [4]. В группе № 3 за 30 мин до обратимой окклюзии сосуда внутривенно вводился 3-оксипиридина адипинат в дозе 80 мг/кг, что составляет 10% от LD₅₀ [2].

По окончании эксперимента проводили оценку размеров анатомической зоны риска и повреждения с помощью методики «двойного окрашивания» синим Эванса и трифенилтетразолием хлоридом (ТТС). Подсчет площадей зоны риска и зоны инфаркта проводили на оцифрованных снимках поперечных срезов сердец, на персональном компьютере, с помощью программы ImageJ 1.45s. Для гистологического исследования кусочки миокарда фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. На светооптическом уровне оценивали качественное состояние миокарда. Статистическая обработка материала осуществлялась с помощью пакета статистических программ «Excel» на персональном компьютере, расчеты достоверности различия средних арифметических величин с помощью t-критерия Стьюдента при 5% уровне значимости.

Результаты исследования и их обсуждение

При микроскопическом исследовании миокарда в контрольной группе животных

в области экспериментального повреждения отмечались изменения дисциркуляторного характера в виде неравномерного кровенаполнения сосудистых ветвей: полнокровие венозных сосудов и капилляров с их дистонией и периваскулярным отеком, на фоне малокровия артериол. Межмышечные и периваскулярные пространства выражено расширены за счет явлений отека. Наблюдалась обширная зона кровоизлияний и эритроцитарных экстравазатов. Поперечная исчерченность мышечных волокон нечеткая, с участками ее отсутствия. Наблюдалась явления контрактурного повреждения кардиомиоцитов. В просвете кровеносных сосудов и в тканях миокарда, прилегающих к сосудистой сети, наблюдалась начинающаяся лейкоцитарная инфильтрация преимущественно нейтрофильного характера. Гистологические изменения в сердце у контрольных животных, выявленные нами, соответствуют данным литературных источников [1]. Все описанные изменения в морфологической картине миокарда при ишемии-реперфузии характеризуются восстановлением кровообращения в зоне ишемии, что ведет к ограничению зоны повреждения, а с другой стороны, к массивным кровоизлияниям в поврежденную ткань и воспалительной реакции.

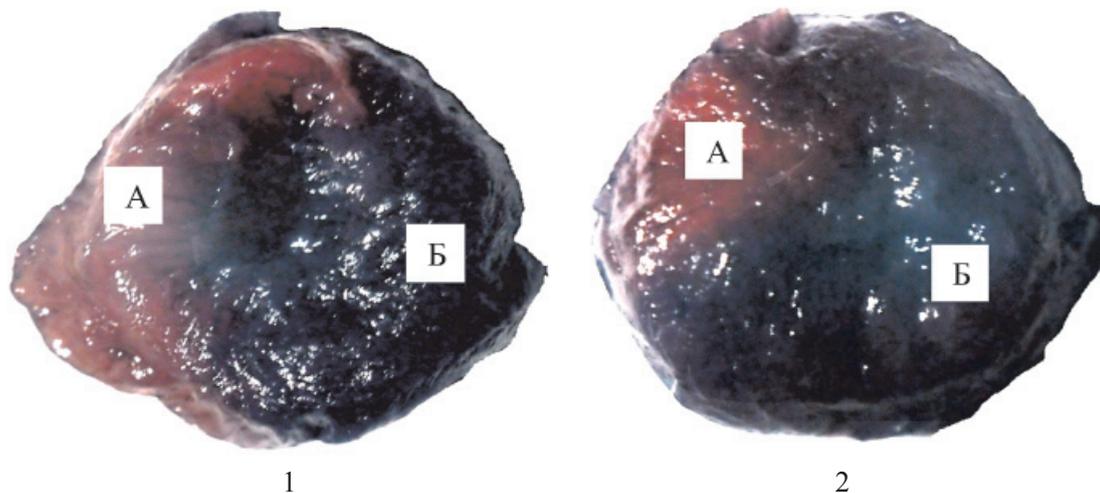
При верифицировании зоны риска суправитальной окраской синим Эванса у животных на фоне экспериментальной ишемии-реперфузии объем зоны ишемии составил $49,02 \pm 3,25\%$ от общего объема сердца (рисунк, 1). При последующем окрашивании ТТС-негативные участки в пределах зоны риска не были обнаружены.

При ишемии-реперфузии на фоне введения 3-оксипиридина сукцината микроскопическая картина миокарда в области экспериментального повреждения была схожа с предыдущей группой животных. Сохранялись изменения дисциркуляторного характера, проявляющиеся полнокровием венозных сосудов и капилляров с их дистонией и периваскулярным отеком на фоне малокровия артериол. Поперечная исчерченность мышечных волокон нечеткая. Прослеживались участки контрактурного повреждения кардиомиоцитов. Интерстициальный отек зоны повреждения оставался выраженным. Сохранялись обширные участки кровоизлияний и эритроцитарных экстравазатов. Процессов лейкоцитарных инфильтраций отмечено не было.

При визуализации зоны риска суправитальной окраской синим Эванса у животных при экспериментальной ишемии-реперфузии на фоне введения 3-оксипиридина сукцината объем зоны ишемии составил $33,96 \pm 3,58\%$

от общего объема сердца, что достоверно меньше на 30,72% ($p_k < 0,005$) аналогичных показателей контрольной группы животных

(рисунок, 2). ТТС-негативные участки также не выявлялись, что говорит об отсутствии некроза в очаге ишемии.



*Зона ишемии миокарда при моделировании ишемии-реперфузии:
А – зона ишемии; Б – неповрежденный миокард. Окраска синим Эванса;
1 – контроль; 2 – коррекция*

На фоне введения 3-оксипиридина адипината морфологически, в области экспериментального повреждения миокарда, отмечался выраженный интерстициальный отек ткани сердца, проявляющийся расширением межмышечных и периваскулярных пространств. Отмечалось полнокровие венных сосудов и капилляров с их дистонией и периваскулярным отеком и малокровие артериол. Поперечная исчерченность мышечных волокон нечеткая. Наблюдались участки контрактурного повреждения кардиомиоцитов. Сохранялись обширные участки кровоизлияний и эритроцитарных экстравазатов, выраженность которых приближается к аналогичной других групп исследуемых животных. Процессов лейкоцитарных инфильтраций отмечено не было.

При окрашивании зоны риска суправитальной окраской синим Эванса у животных при экспериментальной ишемии-реперфузии на фоне введения 3-оксипиридина адипината объем зоны ишемии составил $38,32 \pm 0,38\%$ от общего объема сердца, что достоверно меньше на 21,82% ($p_k < 0,005$) аналогичных показателей контрольной группы животных.

Заключение

Таким образом, как 3-оксипиридина адипинат в дозе 80 мг/кг, так и 3-оксипиридина сукцинат в дозе 50 мг/кг умень-

шают зону ишемии при моделировании окклюзии-реперфузии ветви левой коронарной артерии у крыс и уменьшают выраженность лейкоцитарной инфильтрации в очаге повреждения миокарда. В наших исследованиях выявлена большая эффективность 3-оксипиридина сукцината в дозе 50 мг/кг при коррекции реперфузионного синдрома в эксперименте. Такой результат связан с особенностями структуры данного соединения. Так, при остром повреждении миокарда на первый план выходит антигипоксикантное и нейромедиаторное действие сукцината [8]. В отличие от большинства окисляющихся в митохондриях субстратов сукцинат поставляет свои восстановительные эквиваленты по более быстрому пути. Окисление сукцината идет с большей скоростью, благодаря чему мощность процесса ресинтеза АТФ выше, чем у других субстратов. Появление сукцината в кровотоке является для всех систем организма естественным сигналом дефицита кислорода. И этот сигнал запускает каскад адаптивных реакций как в районе собственно ишемического очага, так и на уровне нейроэндокринной системы целостного организма [9]. Тем самым сукцинат участвует в формировании срочных защитных механизмов от кислородной недостаточности [8]. В связи с этим перспективным представляется использование производных 3-оксипиридина, в пер-

вую очередь сукцинатсодержащих, для коррекции реперфузионного повреждения при реваскуляризации миокарда.

Список литературы

1. Влияние семакса на апоптотическую гибель кардиомиоцитов крыс при необратимой ишемии и ишемии-реперфузии / А.Г. Бердалин, С.А. Гаврилова, А.В. Голубева и др. // Российский медико-биологический вестник. – 2011. – № 2. – С. 1–6.
2. Возможности коррекции гибридными антиоксидантами морфофункциональных изменений при токсическом поражении печени / Н.В. Чаиркина, В.И. Инчина, Е.В. Семенова и др. // Морфологические ведомости. – 2007. – Т. 1. – № 1–2. – С. 232–236.
3. Диагностика и профилактика реперфузионного повреждения миокарда в условиях экспериментального инфаркта миокарда / Д.В. Руднев, В.В. Пичугин, Е.А. Конорев и др. // Кардиология. – 1988. – № 2. – С. 94–97.
4. Зорькина А.В. Фармакологическая коррекция пролонгированного иммобилизационного стресс-синдрома: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Кулава, 1997. – 42 с.
5. Исследование кардиопротекторных свойств 3-оксипиридина адипината при хронической сердечной недостаточности в эксперименте / М.Н. Замотаева, В.И. Инчина, И.Н. Чаиркин и др. // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 3. – С. 62–66.
6. Кардиопротекторная эффективность 3-оксипиридина сукцината и 3-оксипиридина адипината при острой сердечной недостаточности в эксперименте / М.Н. Замотаева, В.И. Инчина, И.Н. Чаиркин и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 2. [Электронный ресурс]. URL: www.science-education.ru/116-12838.
7. Литвицкий П.Ф., Сандриков В.А., Демуров Е.А. Адаптивные и патогенные эффекты реперфузии и реоксигенации миокарда. – М.: Медицина, 1994.
8. Лукьянова Л.Д. Перспективы энерготропной терапии митохондриальных дисфункций при патологиях, включающих гипоксическую компоненту // Медико-социальные аспекты здравоохранения и современной фармакологии. Часть 1. – М., 2008. – С. 84–105.
9. Маевский Е.И. Сукцинат аммония – «альтернатива» антиоксидантам? / Е.И. Маевский, М.Л. Учитель, Е.В. Гришина // Биофизика. – 2010. – № 11. – С. 78–92.
10. Роль препаратов магния в профилактике синдрома «реперфузии» у больных ОИМ. / И.С. Святков, А.М. Шилов, Л.А. Максимова, и др. // ТОП-медицина. – 1999. № 3. – С. 29–30.

11. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes / R.A. Gottlieb, K.O. Bureson, R.A. Kloner et al. // J. Clin. Invest. – 1994. – Vol. 94. – P. 1621–1628.

References

1. Berdalin A.G., Gavrilova S.A., Golubeva A.V. et al. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik*, 2011. no 2, pp. 1–6.
2. Chairkina N.V., Inchina V.I., Semenova E.V. et al. *Morphological newsletter*, 2007. Vol. 1, no 1–2, pp. 232–236.
3. Rudnev D.V., Pichugin V.V., Konorev E.A. et al. *Kardiologiya*, 1988. no 2, pp. 94–97.
4. Zor'kina A.V. Farmakologicheskaja korrekciya prolongirovannogo immobilizatsionnogo stress-sindroma. (Pharmacological correction of prolonged immobilization stress syndrome). Kupavna, 1997. 42 p.
5. Zamotaeva M.N., Inchina V.I., Chairkin I.N. et al. *Fundamental research*, 2013. no 3, pp. 62–66.
6. Zamotaeva M.N., Inchina V.I., Chairkin I.N. et al. *Modern problems of science and education*, 2014. no 2. available at: www.science-education.ru/116-12838.
7. Litvickij P.F., Sandrikov V.A., Demurov E.A. *Adaptivnye i patogennye jeffekty reperfuzii i reoksigenacii miokarda*. (Adaptive and pathogenic effects of reperfusion and reoxygenation of the myocardium.) Moscow, Medicina, 1994.
8. Luk'janova L.D. *Mediko-social'nye aspekty zdavoohraneniya i sovremennoj farmakologii*. (Medical and social aspects of health and modern pharmacology). Moscow, 2008, pp. 84–105.
9. Maevskij E.I., Uchitel' M.L., Grishina E.V. *Biofizika*, 2010. no 11, pp. 78–92.
10. Svjatov I.S., Shilov A.M., Maksimova L.A. et al. *TOP-medicina*, 1999. no 3, pp. 29–30.
11. Gottlieb R.A., Bureson K.O., Kloner R.A. et al. *J. Clin. Invest*, 1994. Vol. 94, pp. 1621–1628.

Рецензенты:

Блинов Д.С., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой организации здравоохранения, ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», г. Саранск;

Сипров А.В., д.м.н., профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии с курсом фармацевтической технологии, ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», г. Саранск.

Работа поступила в редакцию 02.12.2014.