

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГУ «Федеральный центр сердца,  
крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова»  
чл.-корр. РАМН, профессор



Е. В. Шляхто

«09» февраля 2007 г.

ФГУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А.  
Алмазова» Федерального агентства по здравоохранению и социальному  
развитию РФ

## ОТЧЕТ

о научно-исследовательской работе на тему

«Изучение кардиопротективных эффектов Мексикора® при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте в сочетании с ишемическим прекондиционированием»\*

Научный руководитель проекта: чл.-корр. РАМН, д. м. н., профессор Е. В. Шляхто

Исполнители:

Вед. н. с., д. м. н. А. В. Сыренский

М. н. с., к. м. н. М. М. Галагудза

М. н. с. Е. И. Егорова

---

\* - отчет составлен для предоставления обществу с ограниченной ответственностью «ЭкоФармИнвест» (юридический адрес: 119021, г. Москва, Комсомольский пр., д. 1)

## ВВЕДЕНИЕ

В современной кардиологии все большее внимание уделяется изучению кардиопротективных эффектов такого класса соединений, как миокардиальные цитопротекторы. Указанные вещества оказывают выраженный защитный эффект при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда. Большинство известных в настоящее время миокардиальных цитопротекторов обеспечивают оптимизацию энергетического метаболизма кардиомиоцитов в ходе ишемии путем торможения  $\beta$ -окисления жирных кислот (триметазидин, милдронат) или прямой активации анаэробного гликолиза (дихлорацетат) (Parang P. et al., 2005). При этом доминирующее значение в качестве источника макроэргических фосфатов вместо жирных кислот приобретает глюкоза, что повышает устойчивость кардиомиоцитов к ишемии вследствие меньшего потребления кислорода (Stanley W. C. et al., 1997).

В ряде отечественных экспериментальных и клинических исследований показана противоишемическая эффективность принципиально нового миокардиального цитопротектора – 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината (Мексикор<sup>®</sup>, «ЭкоФармИнвест», Россия). Указанный препарат имеет комплексный механизм действия, оказывая, с одной стороны, метаболический эффект за счет обеспечения кардиомиоцитов сукцинатом (янтарной кислотой), и, с другой стороны, антиоксидантный эффект за счет перехвата активных форм кислорода производным 3-оксипиридина.

Добавление сукцината в перфузионный раствор приводит к улучшению постишемического восстановления сократительной функции миокарда на модели изолированного сердца крысы и к лучшему сохранению внутриклеточного пула высокоэнергетических фосфатов (Sakamoto M. et al., 1998). В качестве возможного механизма указанных эффектов рассматривается усиление ресинтеза АТФ в результате ускоренного окисления сукцината сукцинатдегидрогеназой.

Изучение антиоксидантных и связанных с ними кардиопротективных свойств производных 3-оксипиридина было начато в нашей стране работами Ф. З. Меерсона и соавторов (1980, 1984). В дальнейшем в целом ряде исследований на моделях ишемического-реперфузионного повреждения были продемонстрированы различные благоприятные эффекты таких производных 3-оксипиридина, как эмоксипин и проксипин. Первым отечественным комбинированным препаратом, одновременно содержащим сукцинат и производное 3-оксипиридина, был мексидол. В настоящее время широкое применение нашел Мексикор<sup>®</sup>, для которого описаны следующие важнейшие эффекты: уменьшение частоты возникновения и выраженности ишемических эпизодов при нестабильной стенокардии, снижение частоты желудочковых аритмий в остром периоде инфаркта миокарда (ИМ), повышение толерантности больных стабильной стенокардией к физической нагрузке и уменьшение проявлений окислительного стресса в указанной группе пациентов, восстановление диастолической функции левого желудочка (ЛЖ) и улучшение сегментарной сократимости при ИМ (Голиков А. П. и соавт., 2004, 2005).

В то же время, последнее десятилетие в экспериментальной кардиологии было ознаменовано активным поиском и изучением механизмов эндогенной кардиоцитопroteкции. В числе таких воздействий, существенным образом повышающих толерантность миокарда к ишемическому и реперфузионному повреждению, находятся феномены ишемического пре- и посткондиционирования миокарда. Состояние преко́ндиционирования возникает после создания нескольких кратковременных эпизодов ишемии -реперфузии, предшествующих длительной

ишемии. Зарегистрированы инфаркт–лимитирующий, антиаритмический и эндотелиопротективный эффекты прекондиционирования миокарда (Петрищев Н. Н. и соавт., 2001; Yellon D. M., Downey J. M., 2003). Посткондиционирование служит методом защиты сердца от реперфузионного повреждения, т. к. воспроизводится после состоявшейся длительной ишемии путем прерывания раннего реперфузионного периода несколькими короткими эпизодами ишемии (Шляхто Е. В. и соавт., 2005; Zhao Z. Q. et al., 2003). Пути клинического применения внутрисердечного кардиопротективного потенциала пре– и посткондиционирования миокарда в настоящее время находятся в стадии интенсивной разработки.

Применение методов пре– и посткондиционирования миокарда не исключает, а, скорее, наоборот, требует сочетания с другими известными способами миокардиальной цитопротекции, включая фармакологические подходы. Исходя из этого, безусловный научный и практический интерес представляет исследование кардиопротективных эффектов Мексикора<sup>®</sup> при ишемии–реперфузии миокарда в эксперименте в сочетании с ишемическим пре– и посткондиционированием. Гипотетически, можно ожидать, во–первых, проявления нескольких аспектов кардиопротективного действия Мексикора<sup>®</sup> (инфаркт–лимитирующего, антиаритмического в отношении ишемических и реперфузионных тахиаритмий); во–вторых, уменьшения защитного эффекта ишемического прекондиционирования под действием Мексикора<sup>®</sup>, вследствие возможного ослабления выраженности ишемического стимула, необходимого для запуска эндогенного кардиопротективного ответа.

### **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследовать различные аспекты кардиопротективного действия миокардиального цитопротектора Мексикора<sup>®</sup> (ампулированная форма) при экспериментальном коронароокклюзионном инфаркте миокарда *in vivo*, а также провести анализ сочетанного использования Мексикора<sup>®</sup> и ишемического прекондиционирования миокарда.

### **ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ**

1. Изучить эффекты Мексикора<sup>®</sup> при внутривенной инфузии в дозах 50 и 100 мг/кг на показатели системной гемодинамики (артериальное давление, частоту сердечных сокращений), размер инфаркта миокарда и частоту возникновения ишемических тахиаритмий при экспериментальном инфаркте миокарда.
2. Изучить эффекты Мексикора<sup>®</sup> (в дозе 50 мг/кг) на частоту возникновения и продолжительность реперфузионных аритмий на модели острой ишемии–реперфузии миокарда *in vivo*.
3. Исследовать эффекты сочетанного применения Мексикора<sup>®</sup> (в дозах 50 и 100 мг/кг) и ишемического прекондиционирования миокарда при экспериментальном инфаркте миокарда, используя в качестве оценочных критериев размер инфаркта и частоту возникновения ишемических тахиаритмий.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все эксперименты проведены в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных» (публикация Национального Института Здоровья № 85–23, США) и «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (Фисенко В. П. и соавт., 2000).

### Материал исследования

Эксперименты выполнены на 63 крысах–самцах линии Wistar массой 260–330 г (питомник «Рапполово»), содержащихся в условиях 12/12 часового светового режима и получавших стандартный корм и питьевую воду *ad libitum*.

### Анестезия

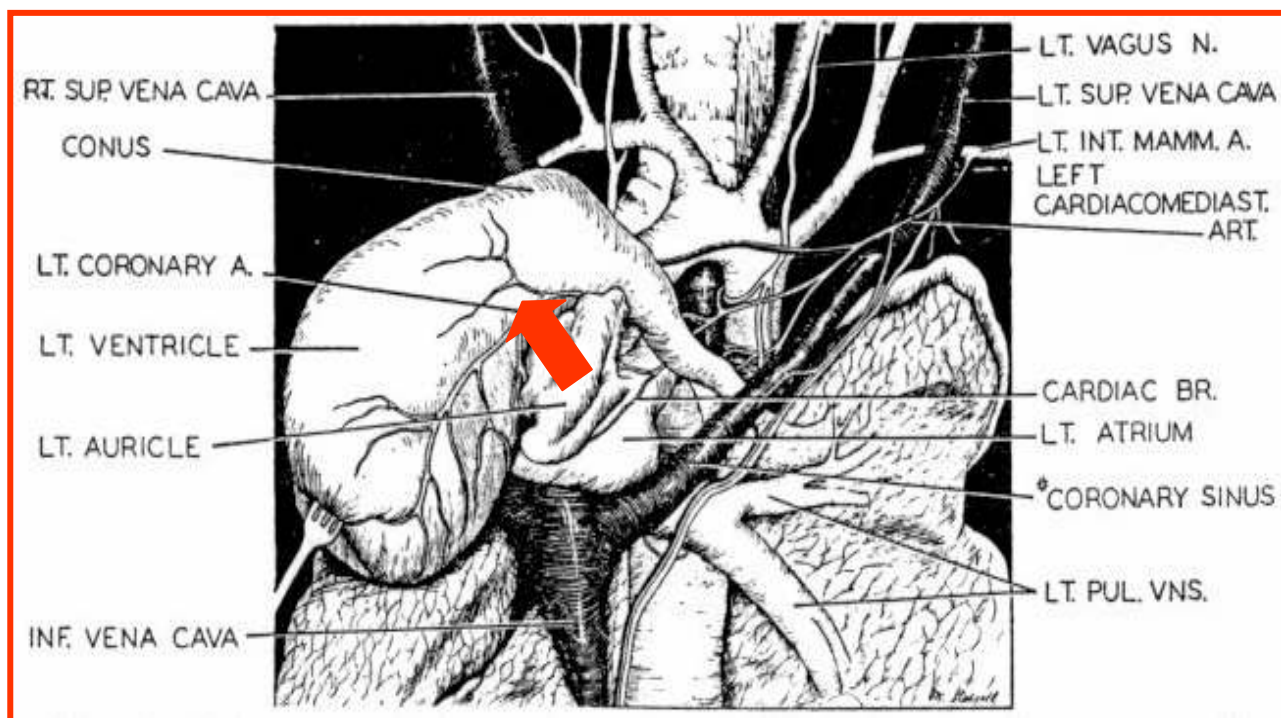
В качестве вводной анестезии использовалось внутривенное введение пентобарбитала натрия в дозе 60 мг/кг (Pentobarbitalnatrium, Apoteket, Umea, Швеция). В качестве поддерживающей анестезии во всех экспериментах использовали внутривенную инфузию раствора пентобарбитала натрия для достижения хирургического наркоза.

### Моделирование ишемии–реперфузии миокарда

Эксперименты проводились при искусственной вентиляции легких через трахеостому (SAR–830P, Stoelting, США, частота дыхания – 50/мин., дыхательный объем в пределах от 1,5 до 3 мл/100 г массы). 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 (Рис. 1) общего ствола левой коронарной артерии (ЛКА), под который с помощью атравматической иглы (6–0) подводили полипропиленовую лигатуру (Cardiopoint, CV–301).

Рисунок 1

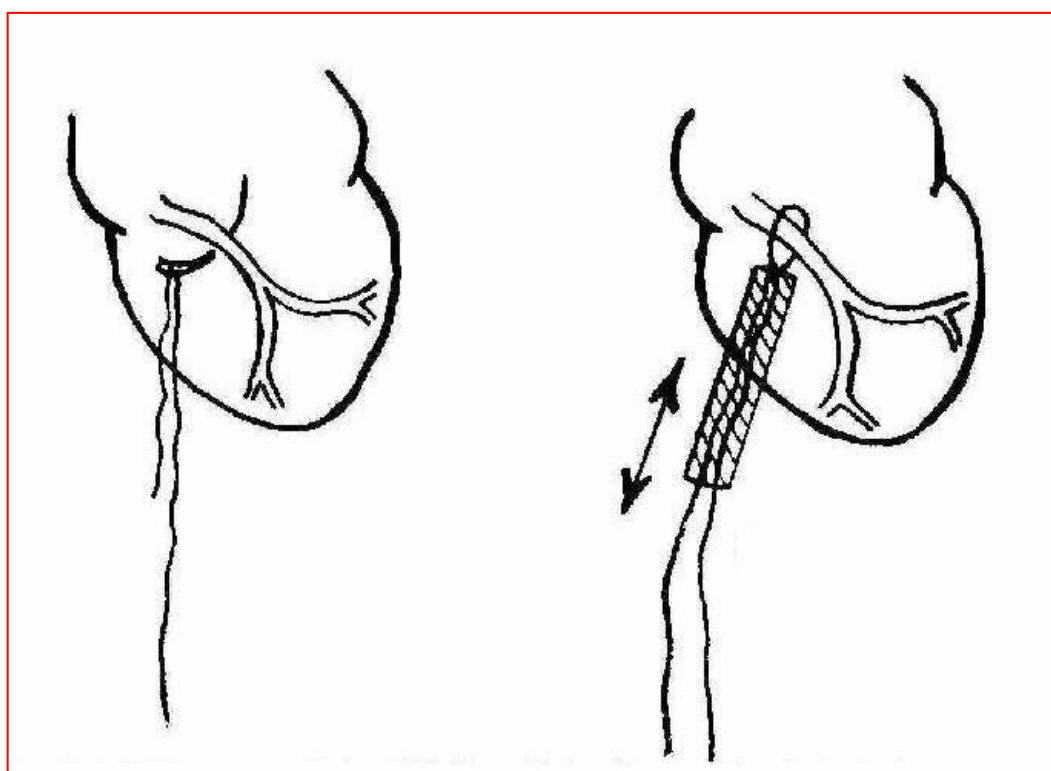
### Анатомия левой коронарной артерии крысы (по Halpern, 1956)



Для создания обратимой ишемии миокарда формировали окклюдер: концы лигатуры, охватывающей коронарную артерию, проводили в просвет полиэтиленовой трубки диаметром 1 мм и длиной 5–6 см (PE 40), после чего путем смещения трубки к сердцу добивались окклюзии ЛКА, а в противоположном направлении – реперфузии (Рис. 2). 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  $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

**Рисунок 2**

### **Формирование окклюдера коронарной артерии**



### **Измерения**

Артериальное давление (АД) в течение эксперимента непрерывно измеряли с помощью датчика давления (Вахтер, США), соединенного с усилителем, через гепаринизированный катетер, введенный в аорту через общую сонную артерию, и регистрировали на персональном компьютере с помощью программного обеспечения PhysExp 2.0 (свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ № 2004612138 от 17.09.04). В ходе эксперимента у животных также регистрировали электрокардиограмму (Кардиотехника–8, ЗАО «Инкарт», СПб) в стандартных отведениях (I, II, III) и частоту сердечных сокращений (ЧСС).

### **Методика определения размера анатомической зоны риска и зоны инфаркта**

Оценку размеров анатомической зоны риска и зоны инфаркта производили с помощью методики «двойного окрашивания» синим Эванса и трифенилтетразолием хлоридом (ТТС) (MP Biomed., США). После завершения реперфузии вокруг коронарной артерии вновь затягивалась лигатура и внутривенно вводилось 0,5 мл 5%-го раствора синего Эванса. После визуализации границы между кровоснабжаемыми и ишемизированными отделами сердце быстро удаляли и

разрезали в поперечном направлении на пять фрагментов одинаковой толщины (2 мм). Изображения базальных поверхностей пяти фрагментов фотографировали цифровой камерой Olympus 2020, соединенной с микрофотографическим устройством микроскопа МБС-10 (ЛОМО, Санкт-Петербург), для последующего определения площади анатомической зоны риска (Эванс-негативные участки) и неишемизированного миокарда (Эванс-позитивные участки). Расчет площадей осуществляли на компьютере с помощью программы Adobe Photoshop 4.0. Общий объем зоны риска для данного сердца вычисляли путем умножения площади Эванс-негативного участка каждого среза на его толщину и суммирования полученных по четырем срезам значений. Затем срезы сердца на 15 минут помещали в 1%-ный раствор ТТС при температуре инкубации 37°C. После инкубации с ТТС изображения базальных поверхностей срезов фотографировали повторно и на компьютере рассчитывали площади зоны инфаркта (ТТС-негативные участки, находящиеся в пределах зоны риска). Затем таким же способом, как и в случае зоны риска, вычисляли общий объем зоны инфаркта для данного сердца. Данные по размерам зон риска и инфаркта представляли в виде отношения объема зоны риска к общему объему сердца, а также в виде отношения объема зоны инфаркта и объему зоны риска (в процентах).

#### **Анализ уровня миокардиальных маркеров**

Для дополнительной оценки степени ишемического повреждения миокарда использовали определение содержания следующих маркеров в плазме крови: аланин-аминотрансферазы (АЛТ), аспартат-аминотрансферазы (АСТ), креатинфосфокиназы (КФК), МВ фракции КФК (КФК-МВ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), ЛДГ изоформы 1 (ЛДГ1), тропонина I (ТнI). Содержание ферментативных маркеров в плазме выражали в международных единицах в литре (МЕ/л), а ТнI – в нг/мл. Для анализа маркеров повреждения миокарда по завершении 90-минутной реперфузии в экспериментах *in vivo* у животных брали кровь из сонной артерии в объеме 5 мл, после чего выдерживали при комнатной температуре в течение 15 минут и центрифугировали при 1500 об./мин. в течение 15 минут. Затем собирали плазму крови в пробирку Эппендорфа и хранили при температуре -20°C. Концентрацию тропонина I определяли на анализаторе ACS 180 иммунохемилюминесцентным методом, разработанным фирмой Bayer. Активность ферментативных маркеров повреждения миокарда оценивали методом ферментативной кинетики (АЛТ, АСТ, КФК, ЛДГ, ЛДГ1) и иммуноингибирования (КФК-МВ) и определяли на биохимическом анализаторе SPECTRUM (Abbott, США) с использованием реактивов фирмы Bio Systems (Испания), DiaSys (Германия).

#### **Анализ аритмий**

Анализ частоты возникновения и тяжести ишемических и реперфузионных желудочковых тахикардий (ЖТА) проводился в соответствии с международным соглашением Lambeth Conventions (Walker M. J. et al., 1998), представляющем собой инструкции по трактовке и учету экспериментально индуцированных нарушений ритма. Для оценки возможного протективного действия Мексикора® и ишемического preconditionирования в отношении возникающих в ходе 30-минутной ишемии ЖТА (фибрилляции желудочков (ФЖ) и желудочковой тахикардии) использовались следующие критерии:

1. Наличие (факт возникновения) хотя бы одного эпизода ЖТА; показатель выражается числом животных, у которых развились соответствующие нарушения ритма;
2. Число эпизодов ЖТА в пересчете на животное (из числа имеющих ЖТА);

3. Время наступления первого эпизода ЖТА;
4. Суммарная продолжительность эпизодов ЖТА у одного животного (в секундах);
5. Число животных, у которых развились персистирующие формы ФЖ, длившиеся > 250 секунд и приводившие к гибели животного.

Для анализа эффектов Мексикора<sup>®</sup> на частоту возникновения и тяжесть реперфузионных тахиаритмий использовался следующий протокол: 5 минут окклюзии ЛКА с последующей 5–минутной реперфузией. Анализу подлежали следующие критерии:

1. Наличие (факт возникновения) хотя бы одного эпизода ЖТА;
2. Суммарная продолжительность эпизодов ЖТА в пересчете на одно животное (в секундах);
3. Число животных, у которых развились персистирующие формы ФЖ, длившиеся до конца 5–минутного периода реперфузии и приводившие к гибели животного.

Механическая и электрическая дефибриляция, а также какие–либо антиаритмические препараты для купирования возникающих ишемических и реперфузионных нарушений ритма в данном исследовании не применялись.

**Протокол экспериментов**, направленных на изучение эффектов Мексикора<sup>®</sup> на показатели системной гемодинамики, размер инфаркта миокарда и частоту возникновения ишемических тахиаритмий в сочетании с ишемическим прекондиционированием миокарда включал 6 групп животных:

1). Контроль (n=9). Животные, у которых моделируется ИМ путем окклюзии ЛКА в течение 30 минут с последующей 90–минутной реперфузией без дополнительных вмешательств. За 5 минут до коронароокклюзии осуществляется внутривенная инфузия плацебо (физиологического раствора) в объеме 0,3 мл.

2). Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг (M50, n=9). Моделированию ИМ предшествует внутривенная инфузия Мексикора<sup>®</sup> в дозе 50 мг/кг (средний объем инфузии 0,25 мл) в течение 5 минут, завершающаяся за 5 минут до коронароокклюзии.

3). Мексикор<sup>®</sup> 100 мг/кг (M100, n=5). Моделированию ИМ предшествует внутривенная инфузия Мексикора<sup>®</sup> в дозе 100 мг/кг (средний объем инфузии 0,5 мл) в течение 10 минут, завершающаяся за 10 минут до коронароокклюзии.

4). Преко́ндиционирование (ПреК, n=6). Ишемическое преко́ндиционирование воспроизводится с помощью одного эпизода 2–минутной ишемии и 3–минутной реперфузии и двух эпизодов 5–минутной ишемии и 5–минутной реперфузии, предшествующих 30–минутной ишемии. В экспериментальных исследованиях наиболее часто используется протокол преко́ндиционирования, состоящий из трех эпизодов 5–минутной ишемии–реперфузии. Однако, согласно нашим данным, реперфузия после первого 5–минутного эпизода ишемии сопровождается высокой частотой возникновения персистирующих ЖТА (до 50% случаев), приводящих к гибели животного. Сокращение первого эпизода преко́ндиционирования до 2 минут позволяет избежать высокой летальности животных от реперфузионных аритмий; при этом выраженность инфаркт–лимитирующего эффекта при выполнении такого протокола сопоставима с эффектом трех 5–минутных эпизодов.

5). ПреК + Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг (n=6). Воспроизведению ишемического преко́ндиционирования предшествует внутривенная инфузия Мексикора<sup>®</sup> в дозе 50 мг/кг (средний объем инфузии 0,25 мл) в течение 5 минут, завершающаяся за 5 минут до начала воспроизведения преко́ндиционирования.

6). ПреК + Мексикор<sup>®</sup> 100 мг/кг (n=5). Половина дозы Мексикора<sup>®</sup> (50 мг/кг) вводится внутривенно в течение 5 минут непосредственно перед началом

воспроизведения первого эпизода ишемического прекондиционирования, а вторая половина (50 мг/кг) – в ходе эпизодов реперфузии, разделяющих прекондиционирующие эпизоды ишемии (в общей сложности в течение 13 минут).

Регистрация гемодинамических показателей (АД и ЧСС) осуществлялась в исходном состоянии, после торакотомии, перед инфузией препарата, в конце инфузии (на 5 или на 10 минуте), перед окклюзией ЛКА, на 15 и 30 минуте окклюзии ЛКА, на 30 и 60 минуте реперфузии, а также в конце эксперимента, т. е. через 90 минут после реперфузии ЛКА.

В единичных экспериментах изучался инфаркт–лимитирующий эффект прекондиционирования, вызванного однократным эпизодом 5–минутной ишемии с последующей 5–минутной реперфузией (n=2), а также сочетания данного протокола прекондиционирования с Мексикором<sup>®</sup> в дозе 50 мг/кг (n=1).

**Протокол экспериментов**, направленных на изучение антиаритмических эффектов Мексикора<sup>®</sup> в дозе 50 мг/кг в отношении реперфузионных тахиаритмий включал 2 группы животных:

1). Контроль (n=10). В данной группе воспроизводилась 5–минутная коронароокклюзия с последующей 5–минутной реперфузией. За 5 минут до коронароокклюзии осуществлялась внутривенная инфузия плацебо (физиологического раствора) в объеме 0,25 мл в течение 5 минут.

2). Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг (M50, n=10). За 5 минут до 5–минутной коронароокклюзии выполнялась внутривенная инфузия Мексикора<sup>®</sup> в дозе 50 мг/кг (средний объем инфузии 0,25 мл) в течение 5 минут.

Регистрация гемодинамических показателей (АД и ЧСС) осуществлялась в исходном состоянии, после торакотомии, перед инфузией препарата, в конце инфузии (на 5 минуте), перед окклюзией ЛКА, на 5 минуте окклюзии ЛКА и в конце эксперимента, т. е. через 5 минут после реперфузии. В 5 экспериментах контрольной группы (эксперименты без персистирующей ФЖ) и в 6 экспериментах группы «Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг» (выбранных случайным образом) осуществлялось измерение размера анатомической зоны риска.

#### **Статистическая обработка**

Статистическая достоверность различий функциональных данных в каждой временной точке, а также размеры анатомической зоны риска и зоны инфаркта оценивались с помощью программного пакета SPSS (ANOVA, тест Шеффе). Категориальные данные, в частности, частота возникновения нарушений ритма, сравнивались с помощью теста Фишера. Все функциональные данные выражались в виде «среднее ± стандартное отклонение». Значения *P* менее чем 0,05 рассматривались как достоверные.



## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Гемодинамические данные

В контроле исходная величина артериального давления (АД) составляла  $117 \pm 16$  мм рт. ст., а частота сердечных сокращений (ЧСС) –  $409 \pm 24$  уд./мин (табл. 1, рис. 3). В ходе эксперимента в контроле наблюдалось постепенное понижение АД и ЧСС; на 90 минуте реперфузии АД составляло  $78 \pm 14$  мм рт. ст., а ЧСС –  $365 \pm 20$  уд./мин. Процедуры вскрытия плевральной полости и подведения лигатуры под коронарную артерию во всех экспериментах вызывали временное незначительное понижение АД. Также, транзиторная гипотензия отмечалась во всех группах животных в первые несколько минут после коронароокклюзии.

В исходном состоянии показатели АД и ЧСС достоверно не отличались в шести экспериментальных группах (табл. 1). Внутривенная инфузия Мексикора<sup>®</sup> в дозах 50 и 100 мг/кг приводила к понижению АД на 15–20% и 20–25% от исходной величины, соответственно, причем максимальный гипотензивный эффект Мексикора<sup>®</sup> формировался уже на 2–3 минуте инфузии и длился в течение 3–4 минут после окончания инфузии. К началу ишемии АД в группах «Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг» и «Мексикор<sup>®</sup> 100 мг/кг» стабилизировалось и не отличалось от такового в контрольной группе (табл. 1). Аналогичная картина наблюдалась при введении Мексикора<sup>®</sup> перед воспроизведением прекондиционирования. К началу выполнения протокола прекондиционирования АД в группе «ПреК + Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг» не отличалось от соответствующего значения в группе «ПреК»; в то же время, величина АД перед выполнением первого эпизода прекондиционирования в группе «ПреК + Мексикор<sup>®</sup> 100 мг/кг» была ниже соответствующего значения в группе «ПреК» на 20–25%, поскольку инфузия Мексикора<sup>®</sup> в данной группе производилась непосредственно перед началом прекондиционирования.

К началу тестовой ишемии значения АД в группах «ПреК + Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг» и «ПреК + Мексикор<sup>®</sup> 100 мг/кг» не отличались от соответствующих значений в группе «ПреК». Внутривенная инфузия Мексикора<sup>®</sup> в дозах 50 и 100 мг/кг приводила к понижению ЧСС в среднем на 10% и 15% от исходной величины, зарегистрированному в конце инфузии, т. е. на 5 и 10 ее минутах, соответственно (табл. 1). Перед ишемией в группе «Мексикор<sup>®</sup> 100 мг/кг» ЧСС также оставалась достоверно ниже, чем в контроле, тогда как в группе «Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг» величина ЧСС перед ишемией не отличалась от соответствующего значения в контроле.

Таблица 1

**Артериальное давление и частота сердечных сокращений в ходе экспериментов, направленных на изучение инфаркт-лимитирующей эффективности Мексикора® в сочетании с ишемическим прекондиционированием**

\* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$  в сравнении с контролем;  
<sup>###</sup> –  $P < 0,01$  в сравнении с ПреК.

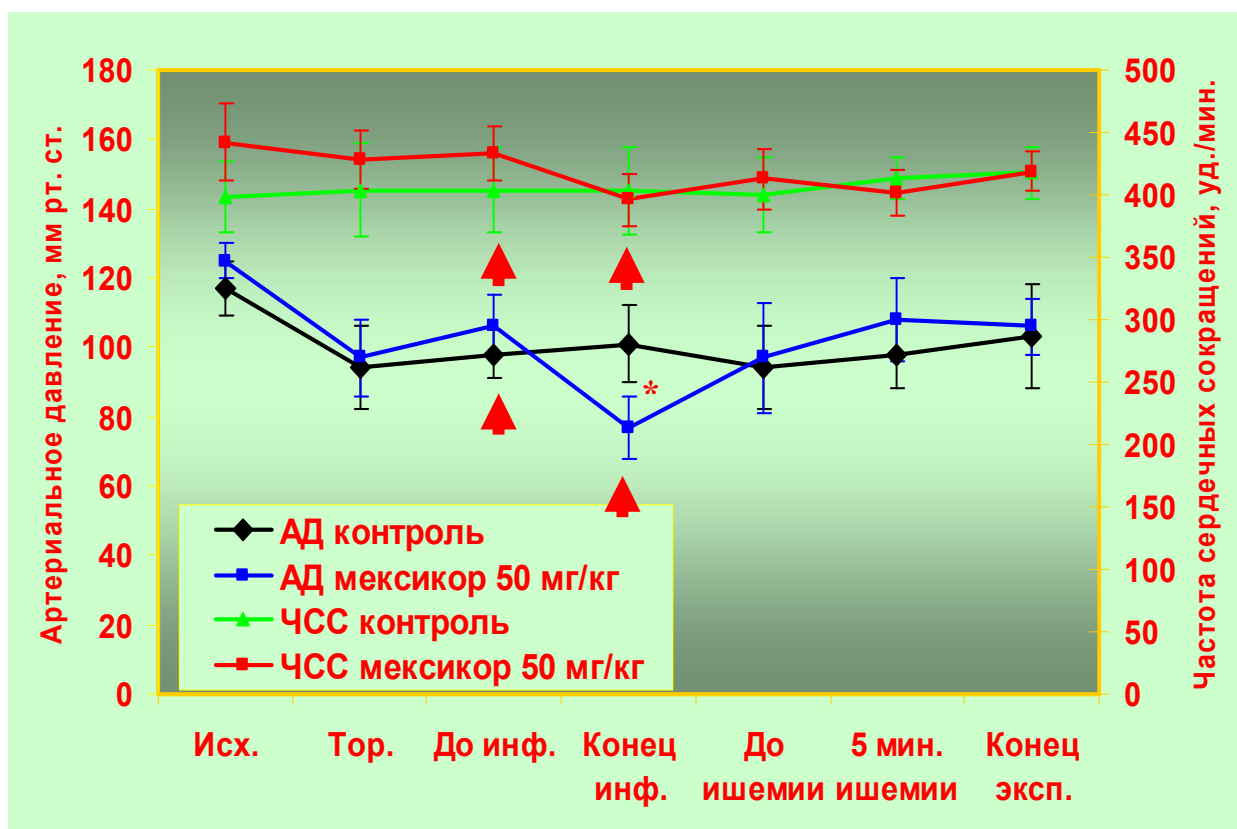
	Контроль (n=9)	M50 (n=9)	M100 (n=5)	ПреК (n=6)	ПреК+ M50 (n=6)	ПреК+ M100 (n=5)
Артериальное давление, мм рт. ст.						
Исходно	117±16	128±9	125±3	126±4	121±11	121±8
После торакотомии	107±9	110±10	107±15	108±9	101±15	106±5
Перед в/в инфузией	113±10	116±9	109±3	108±14	101±16	109±7
В конце в/в инфузии	114±12	76±6**	68±7**	110±22	69±13 <sup>###</sup>	68±9 <sup>###</sup>
Перед ишемией	105±17	100±13	90±9	102±17	94±18	90±12
15 мин. ишемии	85±18	93±7	69±13	90±22	89±22	88±19
30 мин. ишемии	83±16	97±18	84±12	86±22	97±9	99±9
30 мин. реперфузии	77±15	85±14	89±19	80±20	95±16	96±10
60 мин. реперфузии	83±15	85±8	92±15	79±27	94±14	92±16
90 мин. реперфузии	78±14	81±7	83±14	83±18	83±15	87±17
Частота сердечных сокращений, уд./мин.						
Исходно	409±24	408±26	411±37	424±27	429±28	415±35
После торакотомии	408±26	399±22	405±41	430±25	440±33	411±33
Перед в/в инфузией	404±21	401±25	393±38	420±12	441±48	397±34
В конце в/в инфузии	397±15	361±21**	344±41**	417±11	378±46	352±23 <sup>###</sup>
Перед ишемией	394±20	383±26	350±44*	410±15	402±53	391±43
15 мин. ишемии	383±19	374±37	362±53	398±14	401±54	392±41
30 мин. ишемии	391±20	382±30	364±37	376±29	394±35	377±34
30 мин. реперфузии	377±25	365±43	355±21	373±21	392±38	371±23
60 мин. реперфузии	374±19	356±36	346±27	362±37	385±39	358±23
90 мин. реперфузии	365±20	355±31	340±31	353±38	365±43	363±25

Эффекты Мексикора® в дозе 50 мг/кг на показатели системной гемодинамики в ходе экспериментов, направленных на оценку антиаритмического действия Мексикора® в отношении реперфузионных ЖТА, представлены графически на рис. 3. При этом внутривенная инфузия Мексикора® также приводила к достоверному гипотензивному эффекту, сопровождавшемуся понижением АД в среднем на 20% от исходного. Данный эффект был транзиторным и проходил к началу 5-минутной ишемии. Кроме того, введение Мексикора® сопровождалось тенденцией к понижению ЧСС, которая в данном случае не достигала уровня достоверности.

**Рисунок 3**

**Динамика артериального давления и частоты сердечных сокращений в экспериментах, направленных на изучение антиаритмических эффектов Мексикора® в отношении реперфузионных тахиаритмий**

Стрелками указано начало и окончание инфузии препарата.  
\* -  $P < 0,01$  в сравнении с контролем.



### Размер анатомической зоны риска и зоны инфаркта

Размер анатомической зоны риска характеризует объем ткани миокарда, подвергающейся ишемии при окклюзии коронарной артерии в данном эксперименте. Достоверных различий в величине анатомической зоны риска в шести экспериментальных группах выявлено не было (табл. 2, рис. 4). Так, в контроле размер зоны риска составил  $46 \pm 3,7\%$  от общего объема сердца, в группе «Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг» –  $44 \pm 5,2\%$ , в группе «Мексикор<sup>®</sup> 100 мг/кг» –  $45 \pm 8,2\%$ , в группе «ПреК» –  $42 \pm 3,9\%$ , в группе «ПреК + Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг» –  $43 \pm 2,8\%$ , в группе «ПреК + Мексикор<sup>®</sup> 100 мг/кг» –  $41 \pm 8,4\%$  ( $P > 0,1$ ). Отсутствие различий в величине зоны риска указывает на стандартный уровень перевязки ЛКА и равные начальные условия ишемии во всех группах животных.

Таблица 2

### Размер анатомической зоны и риска и зоны инфаркта в экспериментальных группах

\* –  $P=0,004$  в сравнении с контролем;  
#, & –  $P < 0,000001$  в сравнении с контролем;  
† –  $P=0,0035$  в сравнении с группой «ПреК».

	Контроль (n=9)	M50 (n=9)	M100 (n=5)	ПреК (n=6)	ПреК+ M50 (n=6)	ПреК+ M100 (n=5)
Размер зоны риска, %	$46 \pm 3,7$	$44 \pm 5,2$	$45 \pm 8,2$	$42 \pm 3,9$	$43 \pm 2,8$	$41 \pm 8,4$
Размер зоны инфаркта, %	$61 \pm 4,3$	$46 \pm 11,0^*$	$65 \pm 9,2$	$10 \pm 6,2^\#$	$12 \pm 9,2^\&$	$46 \pm 22,8^\dagger$

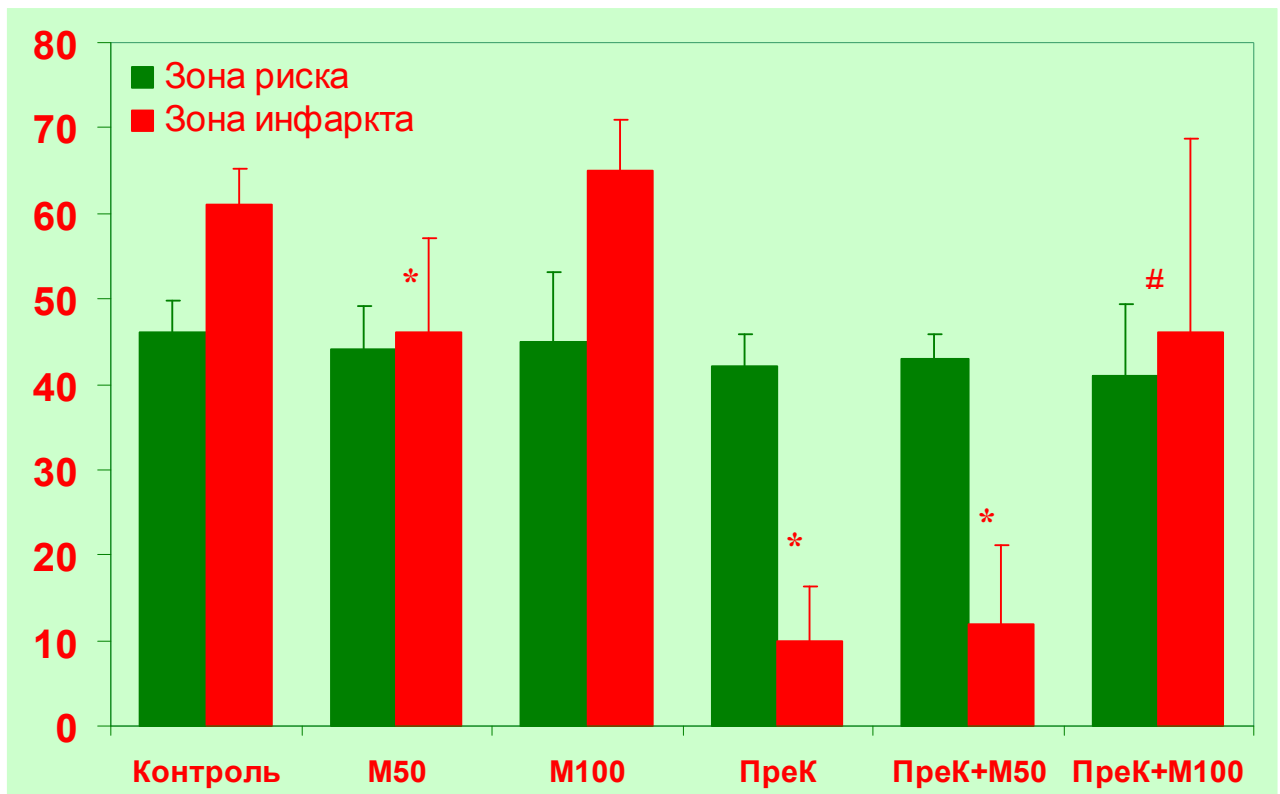
Размер зоны инфаркта в контрольной группе составил  $61 \pm 4,3\%$ , что согласуется с результатами ранее проведенных исследований (Шляхто Е. В. и соавт., 2005; Liu Y., Downey J. M., 1992). Внутривенное введение Мексикора<sup>®</sup> в дозе 50 мг/кг приводило к достоверному ограничению размера инфаркта ( $46 \pm 11,0\%$ ,  $P=0,004$  в сравнении с контролем). Однако, при увеличении дозы Мексикора<sup>®</sup> до 100 мг/кг инфаркт-лимитирующего эффекта не отмечалось (рис. 4), а, напротив, наблюдалась статистически недостоверная тенденция к увеличению размера инфаркта ( $65 \pm 9,2\%$ ,  $P=0,26$  в сравнении с контролем). Ишемическое прекондиционирование обладало выраженным инфаркт-лимитирующим действием и приводило к уменьшению размера инфаркта до  $10 \pm 6,2\%$  ( $P < 0,000001$  в сравнении с контролем). Введение Мексикора<sup>®</sup> в дозе 50 мг/кг не приводило к устранению эффекта прекондиционирования ( $12 \pm 9,2\%$ ), но при изменении режима введения Мексикора<sup>®</sup> и увеличении его дозы до 100 мг/кг наблюдалось достоверное ослабление эффекта прекондиционирования ( $46 \pm 22,8\%$ ,  $P=0,0035$  в сравнении с группой «ПреК»).

Размер зоны риска в контрольной группе животных с 5–минутной ишемией миокарда и 5–минутной реперфузией составил  $43 \pm 6,7\%$ , а в группе с введением Мексикора® в дозе 50 мг/кг –  $44 \pm 4,9\%$ , что свидетельствует об одинаковом объеме ишемизированного миокарда в экспериментах, направленных на оценку антиаритмического действия Мексикора®.

Рисунок 4

#### Размер анатомической зоны риска и зоны инфаркта в экспериментальных группах

\* -  $P < 0,01$  в сравнении с контролем;  
# -  $P < 0,01$  в сравнении с группой «ПреК»



Типичный пример ограничения размера инфаркта миокарда под влиянием внутривенного введения Мексикора® в дозе 50 мг/кг, по сравнению с контролем, представлен на рисунке 5.

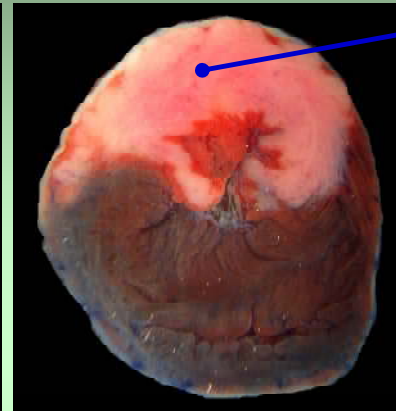
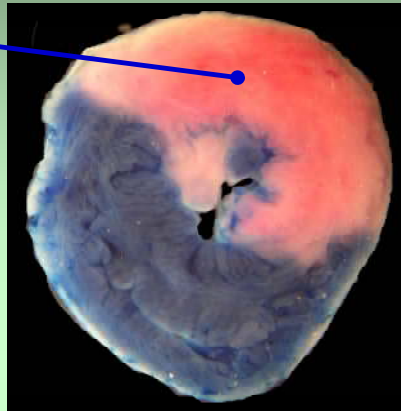
#### Уровни миокардиальных маркеров (ММ)

Уровни ММ, полученные в контрольной группе, значительно превышают средние патологические значения, получаемые в клинической диагностике ИМ (табл. 3). Это может объясняться следующими причинами. Во–первых, в эксперименте моделируется более тяжелая ишемия миокарда. Зона риска в наших экспериментах захватывает около 45% от общего объема сердца, причем в контроле в среднем 65% от этого объема подвергается некрозу. Во–вторых, отношение объема сердца к объему циркулирующей крови у животного значительно выше, чем у человека.

## Репрезентативный пример влияния Мексикора® в дозе 50 мг/кг на размер инфаркта

Зона ишемии  
составляет  
**43,5%** от  
общего объема  
среза

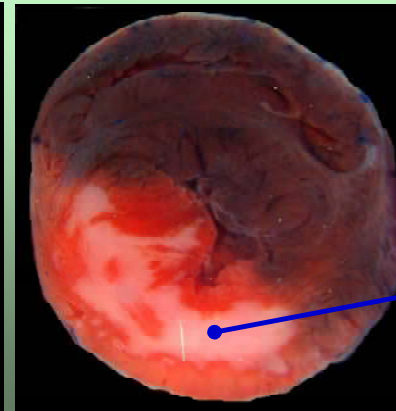
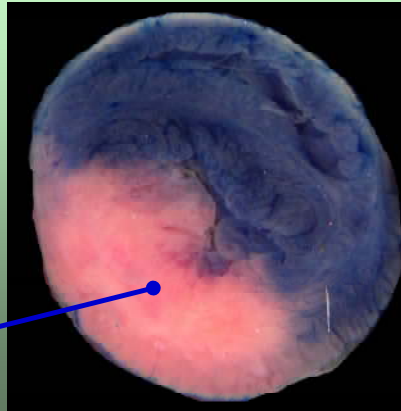
Эксперимент №32 (Контроль)



Зона некроза  
составляет  
**62,4%** от  
общего объема  
среза

Эксперимент №45 (Мексикор® 50 мг/кг)

Зона ишемии  
составляет  
**41,0%** от  
общего объема  
среза



Зона некроза  
составляет  
**38,2%** от  
общего объема  
среза

Наконец, в-третьих, в наших экспериментах моделировалась обратимая ишемия, сменявшаяся реперфузией, что приводит к гораздо более интенсивному поступлению ММ в системный кровоток.

**Таблица 3**

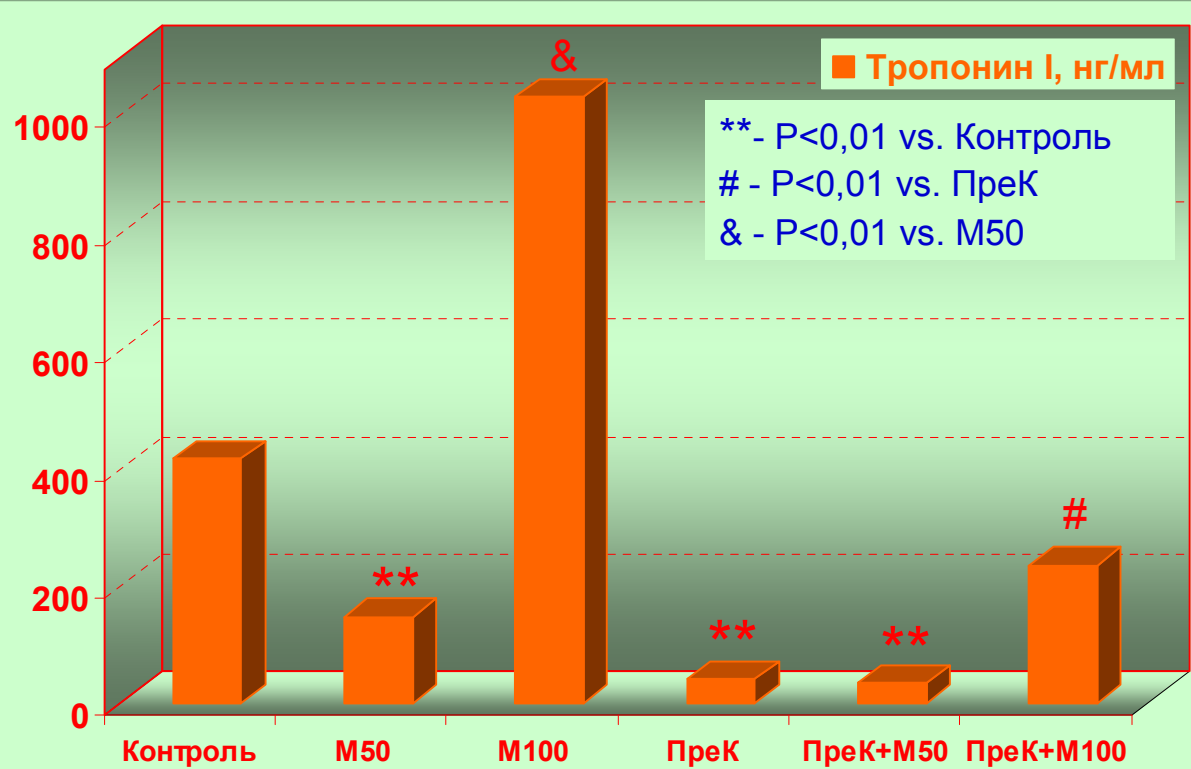
**Уровни миокардиальных маркеров в экспериментальных группах**

\* –  $P < 0,05$  в сравнении с контролем;  
 \*\* –  $P < 0,01$  в сравнении с контролем;  
 # –  $P < 0,01$  в сравнении с группой «Мексикор® 50 мг/кг»;  
 † –  $P < 0,05$  в сравнении с группой «ПреК».

	Контроль, n=5	M50, n=5	M100, n=5	ПреК, n=6	ПреК+ M50, n=5	ПреК+ M100, n=5
АЛТ, МЕ/л	168±86	66±11*	100±26	103±102	78±13	96±76
АСТ, МЕ/л	1436±585	974±387	1695±732 <sup>#</sup>	384±88**	490±91*	678±547
КФК, МЕ/л	3644±4538	3222±2086	3935±2610	2112±2529	910±429	966±734
КФК–МВ, МЕ/л	2298±2540	2114±1294	2495±1431	1518±1956	645±269	754±551
ЛДГ1, МЕ/л	3208±1160	1992±1018	3705±1644	543±193**	750±159**	1371±1375
ЛДГ, МЕ/л	8094±3083	5626±1825	8249±5780	2948±2336*	2433±457**	3456±2986
ТнI, нг/мл	415±104	146±85**	1030±662 <sup>#</sup>	41±11**	35±10**	234±184 <sup>†</sup>
Размер инфаркта, %	61±4,3	46±11,0**	65±9,2	10±6,2**	12±9,2**	46±22,8 <sup>†</sup>

Инфаркт–лимитирующий эффект, возникающий в результате внутривенного введения Мексикора® в дозе 50 мг/кг, был подтвержден достоверно меньшим уровнем ТнI в плазме крови (146±85 нг/мл против 415±104 нг/мл в контроле,  $P=0,002$ ). Кроме того, в группе «Мексикор® 50 мг/кг» наблюдался достоверно меньший уровень АЛТ. В группе «Мексикор® 100 мг/кг» показатели ММ не отличались от контрольных значений. В то же время, уровни АСТ и ТнI в данной группе были достоверно выше, чем в группе «Мексикор® 50 мг/кг», что свидетельствует о более выраженной степени повреждения миокарда при использовании препарата в дозе 100 мг/кг (рис.6). В группе «ПреК» регистрировались значительно более низкие, чем в контроле, уровни АСТ ( $P=0,002$ ), ЛДГ1 ( $P=0,00034$ ), ЛДГ ( $P=0,012$ ) и ТнI ( $P=0,00001$ ) (табл. 3). В группе «ПреК + Мексикор® 50 мг/кг» также отмечались достоверно меньшие уровни АСТ ( $P=0,015$ ), ЛДГ1 ( $P=0,0043$ ), ЛДГ ( $P=0,0088$ ) и ТнI ( $P=0,0002$ ). Однако, уровни ММ в группах «ПреК» и «ПреК + Мексикор® 50 мг/кг» не отличались. Наконец, в группе «ПреК + Мексикор® 100 мг/кг» уровень ТнI был достоверно выше, чем в группе «ПреК» ( $P=0,029$ ). Уровни прочих ММ, наиболее тесно коррелирующих с размером инфаркта (ЛДГ1, АСТ), в данной группе также характеризовались более высокими в сравнении с группой «ПреК» значениями, но в силу большого разброса данных эти различия не достигали статистической достоверности.

**Уровни тропонина I в плазме крови при инфаркте миокарда, preconditionировании и введении Мексикора® в дозах 50 и 100 мг/кг**





### Частота возникновения и выраженность ишемических тахиаритмий

В контрольной группе животных ишемические желудочковые тахиаритмии (ЖТА) возникали в 8 из 9 случаев, при этом в одном случае фибрилляция желудочков носила персистирующий характер (табл. 4). Первый эпизод ЖТА наступал на 6 минуте ишемии (5 минут 39 секунд  $\pm$  1 минута 12 секунд), число эпизодов колебалось от 2 до 10 (среднее число эпизодов  $4 \pm 3,0$ ), суммарная продолжительность эпизодов ЖТА в пересчете на одно животное составляла  $84 \pm 65$  секунд. Введение Мексикора® в дозах 50 и 100 мг/кг не приводило к изменению частоты возникновения и других характеристик ишемических ЖТА (табл. 4). При анализе полученных экспериментальных данных обращает на себя внимание полное отсутствие ЖТА в группе «ПреК» (табл. 4). Под действием Мексикора® в дозе 50 мг/кг происходило частичное, а в дозе 100 мг/кг полное устранение антиаритмического эффекта прекондиционирования.

Таблица 4

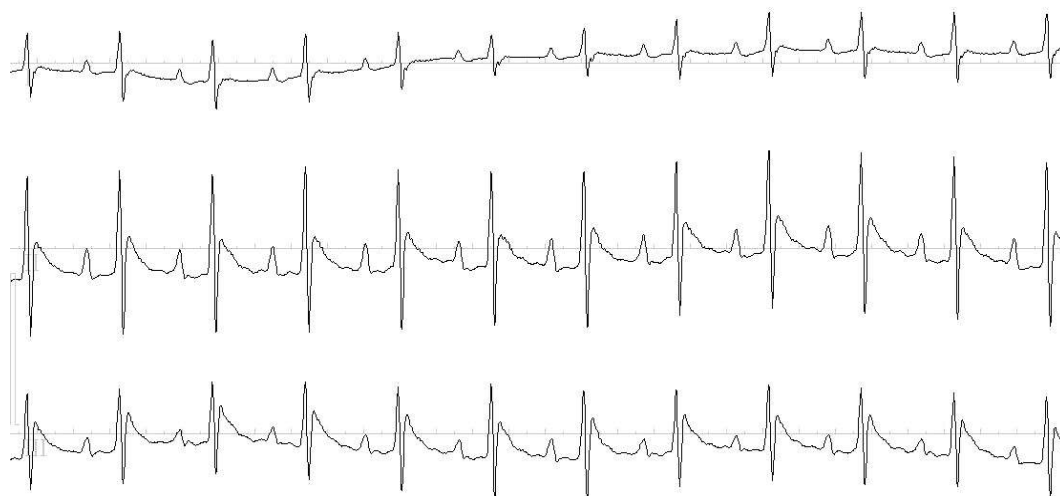
#### Характеристики ишемических желудочковых тахиаритмий (ЖТА) в различных экспериментальных группах

\*\* –  $P < 0,01$  в сравнении с контролем;  
### –  $P < 0,01$  в сравнении с группой «ПреК».

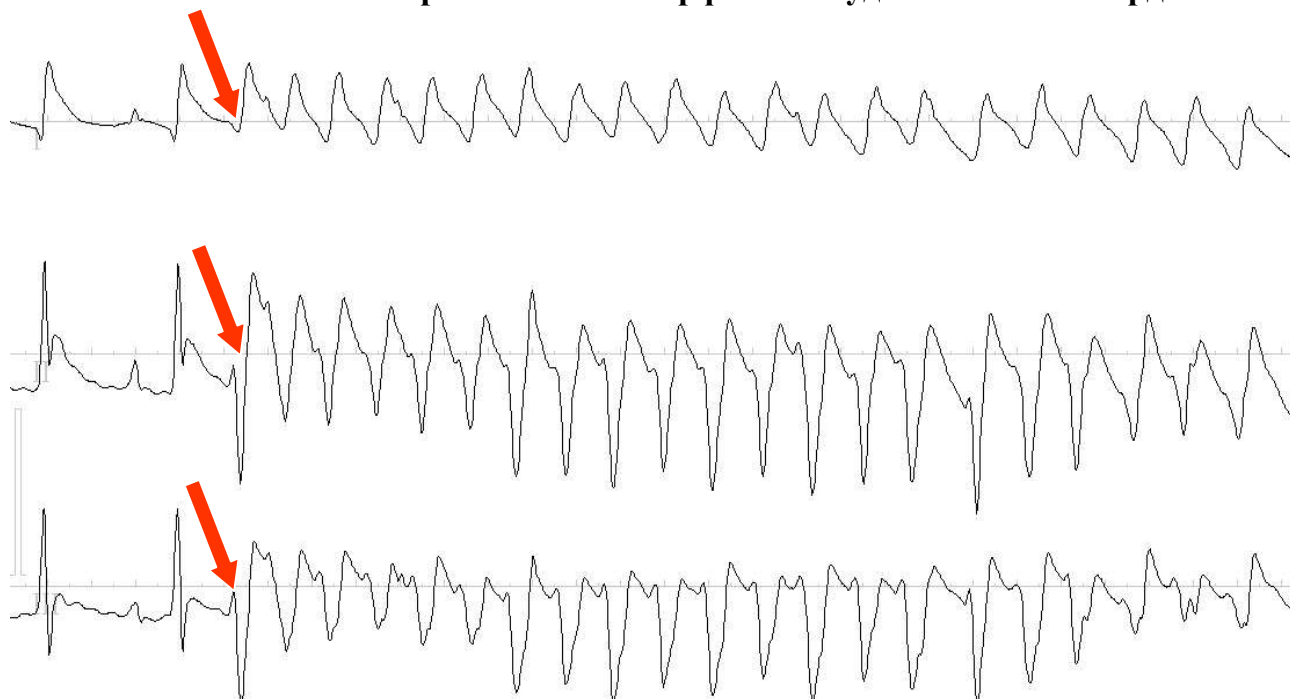
	Контроль, n=9	M50, n=9	M100, n=5	ПреК, n=6	ПреК+ M50, n=6	ПреК+ M100, n=6
Число животных с зарегистрированными ЖТА	8	9	4	0**	1**	4##
Число эпизодов ЖТА в пересчете на одно животное	$4 \pm 3,0$	$4 \pm 2,7$	$6 \pm 4,6$	–	2	$3 \pm 2,2$ ##
Время наступления первого эпизода ЖТА, секунд	$339 \pm 72$	$382 \pm 96$	$318 \pm 44$	–	392	$328 \pm 47$ ##
Суммарная продолжительность эпизодов ЖТА, секунд	$84 \pm 65$	$95 \pm 119$	$31 \pm 17$	–	6	$83 \pm 57$ ##
Число животных с персистирующей фибрилляцией	1	1	0	0	0	0

Типичные виды ишемических тахиаритмий, возникающие в процессе проведения эксперимента, представлены на рисунке 7.

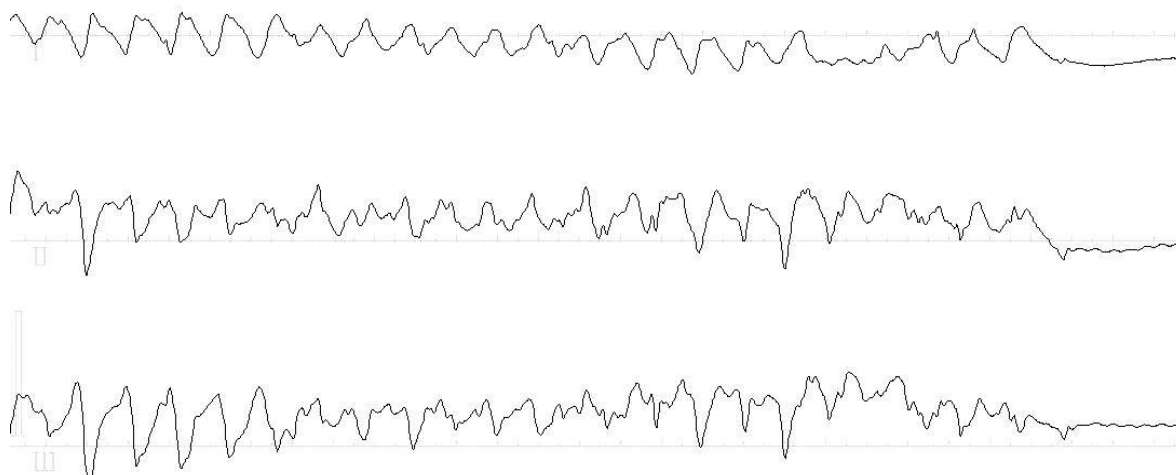
**Нормальная электрокардиограмма крысы**



**Ишемические тахикардии: полиморфная желудочковая тахикардия**



**Ишемические тахикардии: фибрилляция желудочков с исходом в асистолию**



### Частота возникновения и выраженность реперфузионных нарушений ритма

Начальный период реперфузии после 5–минутной ишемии миокарда у крыс сопровождается высокой частотой возникновения реперфузионных ЖТА. Реперфузионные ЖТА возникали в 100% случаев как в контроле, так и в группе «Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг» (табл. 5). Число эпизодов ЖТА в контроле колебалось от 4 до 10, а в группе «Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг» – от 3 до 14. Суммарная продолжительность реперфузионных ЖТА в контроле и на фоне введения Мексикора<sup>®</sup> в дозе 50 мг/кг достоверно не различалась. Персистирующие формы ЖТА в контроле возникали в 5 из 10 экспериментов, а в группе «Мексикор<sup>®</sup> 50 мг/кг» – в 2 из 10 экспериментов ( $P<0,05$ ), что указывает на достоверно меньшую частоту возникновения персистирующих ЖТА под действием Мексикора<sup>®</sup>.

Таблица 5

#### Характеристики реперфузионных желудочковых тахикардий (ЖТА) в различных экспериментальных группах.

\* –  $P<0,05$  в сравнении с контролем.

	Контроль, n=10	Мексикор <sup>®</sup> , n=10
Число животных с зарегистрированными ЖТА	10 (100%)	10 (100%)
Число эпизодов ЖТА в пересчете на одно животное	5,8±2,40	7,0±4,58
Время наступления первого эпизода ЖТА, секунд	6,6±3,8	5,3±2,1
Суммарная продолжительность эпизодов ЖТА, секунд	68±26	67±78
Число животных с персистирующей фибрилляцией	5 (50%)	2 (20%)*

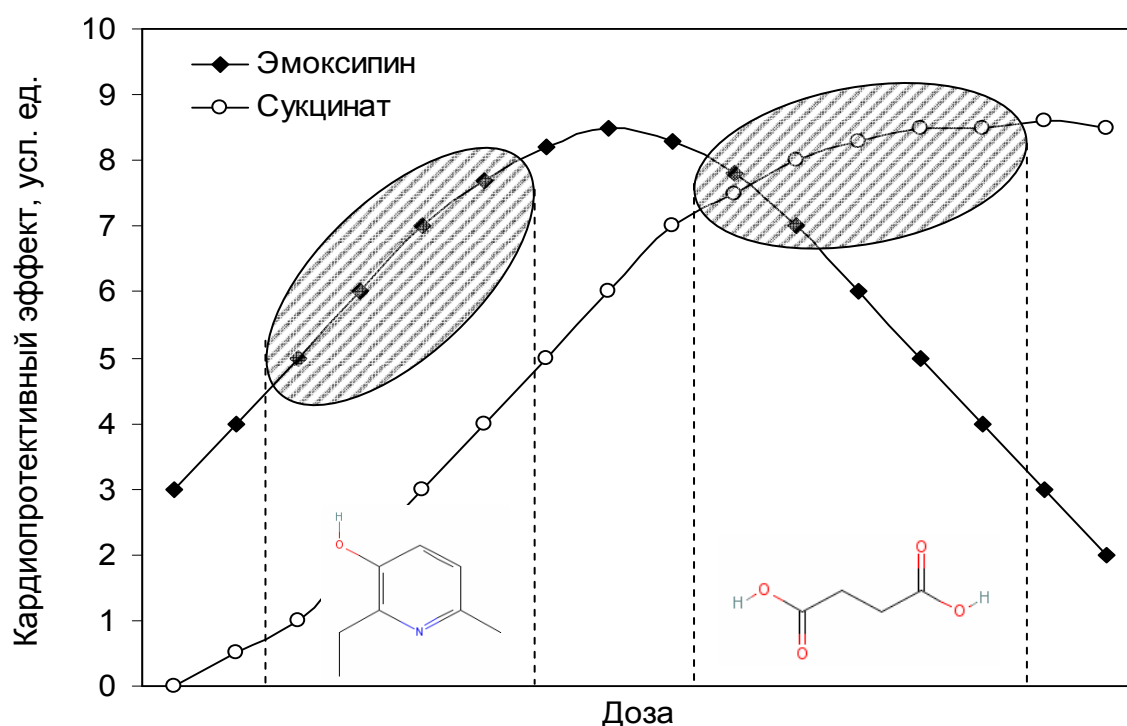
## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ВЫВОДЫ

В настоящем исследовании показан кардиопротективный эффект Мексикора<sup>®</sup> при его внутривенном введении в дозе 50 мг/кг за 5 минут до экспериментального инфаркта миокарда у крыс *in vivo*, проявляющийся снижением размера инфаркта и уменьшением уровня тропонина I в плазме крови.

Кардиопротективные эффекты компонентов Мексикора<sup>®</sup> – эмоксипина (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина) и сукцината – были показаны ранее в ряде экспериментальных исследований (Василец Л. А., Мох В. П., 1987; Конорев Е. А. и соавт., 1990; Афанасьев С. А. и соавт., 1994; Sakamoto M. et al., 1998). В частности, на модели глобальной ишемии–реперфузии работающего изолированного сердца крысы было установлено, что добавление в перфузат и в кардиоплегический раствор сукцината приводит к улучшению постишемической функции миокарда и повышению содержания высокоэнергетических фосфатов в период реперфузии, причем выраженность эффекта была пропорциональна концентрации сукцината (Sakamoto M. et al., 1998). В качестве главного механизма противоишемического действия сукцината авторы рассматривают ингибирование НАДФН–зависимого перекисного окисления липидов мембраны митохондрий. В серии работ, выполненных на моделях ишемии–реперфузии миокарда *in vivo* у крыс и собак, были продемонстрированы инфаркт–лимитирующий и антиоксидантный эффекты дисукцината атаксантина - Кардакса<sup>®</sup>, при его пероральном и внутривенном введении (Gross G. J., Lockwood S. F., 2004, 2005; Gross G. J. et al., 2006).

На изолированных фрагментах сердца крысы изучались дозозависимые эффекты эмоксипина на сократимость и трансмембранные потенциалы кардиомиоцитов при гипоксии и реоксигенации. Эмоксипин в дозе  $5 \times 10^{-7}$  г/мл значительно уменьшал выраженность гипоксической контрактуры, однако его защитное действие при повышении дозы снижалось. Так, в дозе  $5 \times 10^{-4}$  г/мл препарат не только увеличивал степень контрактуры, но и повышал тонус мышцы до начала гипоксии (Василец Л. А. и соавт., 1987). Позднее инверсия защитного действия эмоксипина при увеличении его дозировки была отмечена и другими авторами (Конорев Е. А. и соавт., 1990). В экспериментах на собаках *in vivo* было показано, что эмоксипин при внутривенном введении в ходе ишемии и после нее в дозе 10 мг/кг обеспечивает достоверный инфаркт–лимитирующий эффект, оцениваемый по уровню креатинфосфокиназы в плазме крови и размеру инфаркта. Увеличение дозы эмоксипина до 40 мг/кг уже не сопровождалось достоверным ограничением размера инфаркта и приводило к усилению высвобождения креатинфосфокиназы в сравнении с контролем. Такая инверсия защитного эффекта эмоксипина, характерная и для некоторых других антиоксидантов (например,  $\alpha$ -токоферолов), может объясняться следующими причинами. Во–первых, многие антиоксиданты в повышенных концентрациях могут оказывать парадоксальный прооксидантный эффект и являться источником дополнительного количества активных форм кислорода (АФК). Во–вторых, нивелировка защитного эффекта эмоксипина при повышении его концентрации может быть связана с  $\text{Ca}^{2+}$  перегрузкой кардиомиоцитов. Установлено, что производные 3–гидроксипиридина обладают способностью ингибировать фосфодиэстеразу, что приводит к повышению внутриклеточной концентрации цАМФ и последующей активации сарколеммальных  $\text{Ca}^{2+}$  каналов (Полянский Н. Б. и соавт., 1983). Повышение саркоплазматической концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  рассматривается в качестве одного из универсальных звеньев патогенеза необратимого ишемического повреждения миокарда, реализующегося за счет некроза и апоптоза кардиомиоцитов (Vuja M. L., 2005). В связи с этим, избыточное поступление  $\text{Ca}^{2+}$  в саркоплазму под

действием высоких доз эмоксипина может быть ответственным за инверсию кардиопротективного эффекта последнего. Наши эксперименты также свидетельствуют об исчезновении кардиопротективного эффекта Мексикора® при увеличении дозы препарата с 50 до 100 мг/кг. Следует отметить, что введение Мексикора® в дозе 100 мг/кг сопровождалось тенденцией к увеличению размера инфаркта и повышению уровней миокардиальных маркеров. Очевидно, что наблюдавшаяся в наших экспериментах инверсия инфаркт–лимитирующего действия Мексикора® связана с присутствием в его составе эмоксипина. Гипотетически, зависимость степени инфаркт–лимитирующего эффекта эмоксипина от использованной дозы может быть описана параболической функцией (рис. 3).



**Рисунок 3**

**Зависимость кардиопротективного эффекта эмоксипина и сукцината от дозы (объяснения в тексте)**

Штриховкой выделены оптимальные по эффективности и безопасности диапазоны доз, которые могут существенно различаться для эмоксипина и сукцината.

В то же время, согласно данным литературы, кардиопротективный эффект вспомогательного вещества, входящего в состав Мексикора®, – сукцината – в зависимости от использованной дозировки описывается логарифмической функцией (рис. 3) в достаточно широком диапазоне доз (Sakamoto M. et al., 1998; Gross G. J., Lockwood S. F., 2004).

В химическом отношении Мексикор® представляет собой соль, образованную янтарной кислотой и 2-этил-6-метил-3-гидрокси-4-пиридинол в равных стехиометрических долях. Приведенная выше трактовка полученных нами данных об инверсии эффекта Мексикора® при увеличении его дозировки с 50 до 100 мг/кг создает теоретическую предпосылку для изменения количественного соотношения сукцината и эмоксипина в лекарственных формах (раствор, таблетки) в целях расширения терапевтического диапазона доз и оптимизации кардиопротективных

эффектов препарата. Так, в итоговой лекарственной форме представляется целесообразным уменьшение количественной доли эмоксипина и увеличение относительной доли сукцината (например, за счет добавления его натриевой соли), что может быть достигнуто незначительным изменением технологического процесса. В этом случае итоговая действующая доза эмоксипина будет лежать в диапазоне, безопасном в плане возникновения инверсии эффекта; в то же время, доза сукцината может достигать той, что обеспечивает максимальную кардиопротекцию.

Ранее на модели регионарной ишемии изолированного сердца было показано, что 6-хлоргидрат-2-этил-6-метил-3-оксипиридин оказывает антиаритмическое действие в отношении как ишемических, так и реперфузионных аритмий (Василец Л. А., Мох В. П., 1987). Авторами было зарегистрировано более полное восстановление длительности потенциала действия и величины потенциала покоя в период реперфузии на изолированной папиллярной мышце под действием производного 3-оксипиридина, что позволило им сделать вывод о том, что данное соединение обладает свойствами антиаритмика III класса. В экспериментах на кошках *in vivo* было установлено, что оксиметилэтилпиридина сукцинат (мексидол) в дозе 7 мг/кг, введенный за 10 минут до окклюзии коронарной артерии, нормализует электрофизиологические параметры сердца и уменьшает аритмогенную готовность миокарда при острой ишемии, что проявляется в виде уменьшения частоты возникновения спонтанных и индуцированных нарушений ритма (Котляров А. А., Смирнов Л. Д., 2004). В наших экспериментах Мексикор<sup>®</sup> в дозах 50 и 100 мг/кг не обладал противоаритмической активностью в отношении ишемических желудочковых тахиаритмий. Противоречие с результатами предыдущих работ может объясняться различными моделями ишемии-реперфузии, видовыми особенностями животных, выбором дозы и пути введения препарата. В то же время, в наших экспериментах Мексикор<sup>®</sup> в дозе 50 мг/кг уменьшал встречаемость персистирующей фибрилляции желудочков, вызванной реперфузией миокарда, что может быть связано с антиоксидантными свойствами данного препарата.

Полученные результаты показывают, что введение Мексикора<sup>®</sup> в суммарной дозе 100 мг/кг непосредственно перед воспроизведением прекондиционирования, а также в периоды реперфузии после кратковременных эпизодов ишемии приводит к устранению инфаркт-лимитирующего и антиаритмического эффектов прекондиционирования. Исходя из теоретических предпосылок, данный эффект Мексикора<sup>®</sup> может объясняться следующими механизмами. С одной стороны, противоишемическая активность Мексикора<sup>®</sup> может проявляться уменьшением как длительной (тестовой) ишемии, так и ишемии в ходе прекондиционирования. Последнее приводит к ослаблению ишемического стимула, необходимого для запуска кардиопротективного ответа, формирующегося в результате прекондиционирования. Примечательно, что и другие фармакологические агенты с известными антиишемическими свойствами (например, блокаторы  $\beta$ -адренорецепторов, триметазидин и др.) обладают способностью к устранению эффекта ишемического прекондиционирования, а препараты, провоцирующие развитие ишемии (норадреналин, ангиотензин II, эндотелин 1), при предварительном введении, напротив, индуцируют повышение устойчивости миокарда к ишемии (Orie L. H., 2003). С другой стороны, известно, что важная роль в запуске и реализации прекондиционирования принадлежит небольшим количествам АФК, образующимся в ходе реперфузии после прекондиционирующих ишемических эпизодов. Считается, что образующиеся в ходе коротких эпизодов ишемии-реперфузии АФК приводят к фосфорилированию внутриклеточных киназ, в частности, протеинкиназы С,

тирозинкиназ и митоген–активируемых протеинкиназ (МАПК) (Das D. K. et al., 1999). Активированные киназы, в свою очередь, приводят к открытию митохондриальных АТФ–чувствительных калиевых ( $K_{ATP}$ ) каналов, которые долгое время рассматривались в качестве конечных эффекторов преколондиционирования (Murata M. et al., 2001). В настоящее время, однако, предполагается, что открытие  $K_{ATP}$  каналов, индуцированное короткими эпизодами ишемии, приводит к образованию дополнительного количества АФК за счет их «утечки» из электроннотранспортной цепи, которые и опосредуют кардиопротективный ответ (Yue Y. et al., 2002). Ранее было показано, что эффект ишемического преколондиционирования устраняется при использовании синтетических антиоксидантов, например, N–2–меркаптопропионилглицина (Галагудза М. М., 2005). При этом важное значение имеет доза и протокол введения антиоксиданта (Richard V. et al., 1993; Toufektsian M. S. et al., 2003). В наших экспериментах введение Мексикора<sup>®</sup>, обладающего выраженными антиоксидантными свойствами, в дозе 50 мг/кг за 5 минут до начала воспроизведения преколондиционирования не приводило к ослаблению защитных эффектов последнего, в то время как применение дозы 100 мг/кг с введением в периоды реперфузии сопровождалось устранением эффектов преколондиционирования. Не исключено, что отсутствие эффекта Мексикора<sup>®</sup> в первом случае объясняется неполным блокированием образования АФК в ходе коротких эпизодов ишемии–реперфузии, особенно второго и третьего. Таким образом, предварительное введение Мексикора<sup>®</sup> в дозе 50 мг/кг не устраняет благоприятные эффекты преколондиционирования и, в то же время, именно эта дозировка препарата обеспечивает значимый инфаркт–лимитирующий эффект.

#### **Основные выводы:**

1. Внутривенное введение крысам Мексикора<sup>®</sup> в дозах 50 и 100 мг/кг вызывает понижение АД в среднем на 20–25% и ЧСС в среднем на 10–15% от исходной величины. Гемодинамические эффекты Мексикора<sup>®</sup> присутствуют в ходе инфузии препарата и в течение нескольких минут после ее завершения.
2. Внутривенное введение Мексикора<sup>®</sup> в дозе 50 мг/кг за 5 минут до коронароокклюзии приводит к реализации достоверного инфаркт–лимитирующего эффекта, проявляющегося уменьшением размера инфаркта ( $46 \pm 11,0\%$  против  $61 \pm 4,3\%$  в контроле,  $P < 0,01$ ) и сывороточного уровня тропонина I ( $146 \pm 85$  нг/мл против  $415 \pm 104$  нг/мл в контроле,  $P < 0,01$ ).
3. Увеличение дозы Мексикора<sup>®</sup> до 100 мг/кг (в/внутривенное введение за 10 минут до коронароокклюзии) приводит к инверсии кардиопротективного эффекта, которая проявляется тенденцией к увеличению размера инфаркта и повышению уровня миокардиальных маркеров.
4. Внутривенное введение Мексикора<sup>®</sup> в дозах 50 и 100 мг/кг не сопровождается уменьшением частоты возникновения и выраженности ишемических желудочковых тахикардий.
5. Мексикор<sup>®</sup> в дозе, вызывающей кардиопротективный эффект (50 мг/кг), при внутривенной инфузии, завершающейся за 5 минут до ишемического преколондиционирования, не приводит к ослаблению выраженности кардиопротективных эффектов преколондиционирования.
6. Применение Мексикора<sup>®</sup> в дозе 100 мг/кг при введении непосредственно перед преколондиционированием, а также в периоды реперфузии после кратковременной ишемии, приводит к частичному устранению инфаркт–лимитирующего эффекта ишемического преколондиционирования.

7. Внутривенное введение Мексикора® в дозе 50 мг/кг за 5 минут до коронароокклюзии приводит к уменьшению частоты возникновения персистирующих форм реперфузионных желудочковых тахиаритмий.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев С. А., Алексеева Е. Д., Бардамова И. Б., Богомаз С. А. Сравнительная эффективность эмоксипина и оксибутирата натрия при экспериментальной ишемии миокарда. Эксперим. и клин. фармакол. 1994; 57(4): 26–29.
2. Василец Л. А., Мох В. П. Антиаритмическое действие антиоксиданта СД-6 при развитии ишемических и реперфузионных нарушений ритма изолированного сердца крысы. Бюл. эксп. биол. и мед. 1987; 5: 593–595.
3. Василец Л. А., Мох В. П., Богданов Г. Н., Гусева Т. И. Защитное действие антиоксиданта из класса 3-оксипиридинов на сократимость и электрогенез сердечной мышцы при гипоксии и реоксигенации. Кардиология. 1987; 5: 83–87.
4. Галагудза М. М. Роль активных форм кислорода в механизмах локального и дистантного ишемического preconditionирования миокарда. Регионар. кровообр. и микроцирк. 2005; 4(4): 72–78.
5. Голиков А. П., Давыдов Б. В., Руднев Д. В. и соавт. Влияние мексикора на окислительный стресс при остром инфаркте миокарда. Кардиология. 2005; 7: 21–26.
6. Голиков А. П., Михин В. П., Полумисков В. Ю. и соавт. Эффективность цитопротектора мексикора в неотложной кардиологии. Тер. архив. 2004; 4: 60–65.
7. Конорев Е. А., Полумисков В. Ю., Авилова О. А., Голиков А. П. Эмоксипин при реперфузии ишемического миокарда у собак: влияние на размер инфаркта и креатинкиназную активность плазмы крови. Бюл. эксп. биол. и мед. 1990; 110(9): 252–254.
8. Котляров А. А., Смирнов Л. Д. Влияние оксиметилэтилпиридина сукцината на электрофизиологические и гемодинамические параметры сердца при торакотомии и при острой ишемии миокарда в эксперименте. Эксперим. и клин. фармакол. 2004; 67(3): 14–17.
9. Меерсон Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М.: Медицина, 1984, с. 272.
10. Меерсон Ф. З., Белкина Л. М., Уголев А. А. и соавт. Применение антиоксидантов для предупреждения экспериментального инфаркта и реоксигенационных нарушений сердца. Кардиология. 1980; 10: 81–86.
11. Петрищев Н. Н., Шляхто Е. В., Власов Т. Д., Галагудза М. М. Ишемическая адаптация миокарда: патофизиологические механизмы и возможные перспективы практического применения (обзор литературы). Росс. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. 2001; 87(5): 688–705.
12. Полянский Н. Б., Смирнов Л. Д., Шведова А. А. и соавт. Ингибирование фосфодиэстеразы циклических нуклеотидов из сердца кролика оксипиридинами. Вопр. мед. хим. 1983; 1: 123–127.
13. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (под ред. Фисенко В. П.). Москва, Минздрав РФ, ЗАО «ИИА «Ремедиум», 2000.
14. Шляхто Е. В., Сыренский А. В., Нифонтов Е. М., Галагудза М. М. Кардиопротективные эффекты феномена ишемического preconditionирования миокарда. Кардиология. 2005; 45(7): 44–48.
15. Buja M. L. Myocardial ischemia and reperfusion injury. Cardiovasc. Pathol. 2005; 14(4): 170–175.
16. Das D. K., Engelman R. M., Maulik N. Oxygen free radical signaling in ischemic preconditioning. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1999; 874: 49–65.



17. Gross G. J., Hazen S. L., Lockwood S. F. Seven day oral supplementation with Cardax™ (disodium disuccinate astaxanthin) provides significant cardioprotection and reduces oxidative stress in rats. *Mol. Cell. Biochem.* 2006; 283: 23–30.
18. Gross G. J., Lockwood S. F. Cardioprotection and myocardial salvage by a disodium disuccinate astaxanthin derivative (Cardax™). *Life Sci.* 2004; 75: 215–224.
19. Gross G. J., Lockwood S. F. Acute and chronic administration of disodium disuccinate astaxanthin (Cardax™) produces marked cardioprotection in dog hearts. *Mol. Cell. Biochem.* 2005; 272: 221–227.
20. Liu Y., Downey J. M. Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. *Am J Physiol.* 1992; 263: H1107–H1112.
21. Murata M., Akao M., O'Rourke B., Marban E. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channels attenuate matrix Ca<sup>2+</sup> overload during simulated ischemia and reperfusion: possible mechanism of cardioprotection. *Circ. Res.* 2001; 89: 891–898.
22. Opie L. H. Preconditioning and metabolic anti-ischemic agents. *Eur. Heart J.* 2003; 24: 1854–1856.
23. Parang P., Singh B., Arora R. Metabolic modulators for chronic cardiac ischemia. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Therapeut.* 2005; 10(4): 217–223.
24. Richard V., Tron C., Thuillez C. Ischaemic preconditioning is not mediated by oxygen derived free radicals in rats. *Cardiovasc. Res.* 1993; 27(11): 2016–2021.
25. Sakamoto M., Takeshige K., Yasui H., Tokunaga K. Cardioprotective effect of succinate against ischemia/reperfusion injury. *Surg. Today.* 1998; 28: 522–528.
26. Stanley W. C., Lopaschuk G. D., Hall J. L., McCormack J. G. Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischaemic conditions. Potential for pharmacological interventions. *Cardiovasc. Res.* 1997; 33: 243–257.
27. Toufektsian M. C., Morel S., Tanguy S. et al. Involvement of reactive oxygen species in cardiac preconditioning in rats. *Antioxid. Redox Signal.* 2003; 5(1): 115–122.
28. Walker M. J., Curtis M. J., Hearse D. J. et al. The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischemia, infarction, and reperfusion. *Cardiovasc. Res.* 1988; 22: 447–455.
29. Yellon D. M., Downey J. M. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol. Rev.* 2003; 83(4): 1113–1151.
30. Yue Y., Qin Q., Cohen M. V. et al. The relative order of mK(ATP) channels, free radicals and p38 MAPK in preconditioning's protective pathway in rat heart. *Cardiovasc. Res.* 2002; 55(3): 681–689.
31. Zhao Z. Q., Corvera J. S., Halkos M. E. et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003; 285(2): H579–H588.

