

Кардіопротекторний ефект рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на моделі інфаркту міокарда

К.Г.Щокіна, С.Ю.Штриголь, С.М.Дроговоз, О.А.Ходаківський

Національний фармацевтичний університет, Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова
Харків, Вінниця, Україна

У статті наведено результати експериментального дослідження кардіопротекторної дії рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на моделі гострого інфаркту міокарда (діатермокоагуляція маргінальної гілки лівої коронарної артерії у щурів). Через 3 доби летальність контрольних тварин сягнула 100%, спостерігався ектопічний ритм атріовентрикулярного з'єднання з одночасним збудженням передсердь і шлуночків, значне ішемічне пошкодження міокарда. Блокада рецепторів інтерлейкіну-1 рекомбінантним антагоністом двократно зменшила летальність, зменшувала ступінь пошкодження серцевого м'яза, сприяла збереженню синусового ритму. За кардіопротекторною дією антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (3 мг/кг) переважає відомий антиоксидант мексидол (100 мг/кг). Результати експериментально обґрунтовують високу ефективність і доцільність блокади рецепторів інтерлейкіну-1 як одного із шляхів кардіопротекторної дії при ішемії міокарда.

Ключові слова: антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1, інфаркт міокарда, кардіопротекторна дія.

ВСТУП

Серцево-судинні захворювання, у тому числі ішемічна хвороба серця (ІХС), посідають перше місце в структурі смертності та інвалідизації населення в сучасному світі. Не є виключенням і Україна [12]. Найнебезпечнішим проявом ІХС, що часто стає причиною загибелі в розвинутих країнах, є інфаркт міокарда (ІМ). Його розповсюдженість становить приблизно

500 на 100 тис. чоловіків і 100 на 100 тис. жінок [4]. Незважаючи на успіхи кардіології, терапія гострого ІМ залишається однією з найактуальніших проблем медицини [9, 10].

Останнім часом значне місце в патогенезі ІХС та ІМ відводиться імунозапальним реакціям. Провідна роль належить активації системи цитокінів з індукцією молекул міжклітинної адгезії та хемокінів, білків гострої фази запалення [2, 3, 13]. Саме системні та локальні медіатори запалення відіграють значну роль у формуванні ендотеліальної дисфункції при ІХС, у тому числі при ІМ. Особливе значення має активація прозапальних цитокінів [4, 5, 7]. При стенокардії механізми регуляції цитокінової сітки порушуються, розвивається дисбаланс між про- та протизапальними цитокінами, що супроводжується гіперекспресією інтерлейкіну (ІЛ) 1 β , ІЛ-6, ФНП α , які виявляють кардіодепресивну дію та посилюють ішемію міокарда [6, 7, 10, 16]. ІЛ-1 ν є головним медіатором, який відповідає за розвиток запальної реакції та гострофазову відповідь. Є дані про зв'язок порушення коронарного кровообігу та ішемії міокарда зі збільшенням рівня ІЛ-1 β в крові [14, 15]. Тому перспективним напрямом фармакологічної корекції цих станів, імовірно, може стати застосування рецепторних антагоністів ІЛ-1.

Метою дослідження було з'ясування кардіопротекторної дії рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 (АРІЛ-1) на моделі гострого інфаркту міокарда у щурів. Використано АРІЛ-1, отриманий у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліди виконано на 115 білих безпородних щурах-самцях масою близько 200 г, розділених на три групи. Напередодні їм про-

ТАБЛИЦЯ 1

Динаміка летальності щурів із діатермокоагуляційним інфарктом міокарда (ІМ) на тлі курсового внутрішньоочеревиного введення АРІЛ-1 (3 мг/кг) та мексидолу (100 мг/г) ($M \pm m$; $n=10$)

Умови досліджу	Доза	Летальність щурів (%) у динаміці перебігу ІМ						
		1 год.	4 год.	8 год.	12 год.	24 год.	48 год.	72 год.
0,9% хлорид натрію+ІМ (контрольна патологія)	2 мл/кг	30	60	70	70	80	90	100
АРІЛ-1+ІМ	3 мг/кг	10	20*	30*	30*	50	50*	50*
Мексидол+ІМ	100 мг/кг	20	20*	40	40	50	50*	60*

Примітки: ІМ – інфаркт міокарда (діатермокоагуляція коронарної артерії); * – $p < 0,05$ відносно контрольної патології.

тягом 3 діб вводили відповідно 0,9% розчин хлориду натрію (контроль), АРІЛ-1 (3 мг/кг внутрішньом'язово) та референс-препарат мексидол (Фармасофт, Росія, 100 мг/кг внутрішньоочеревино) востаннє за 1 год. до моделювання патології.

ІМ моделювали шляхом діатермокоагуляції маргінальної гілки лівої коронарної артерії за методикою Ю.Й.Гумінського [1, 12]. Наркотизованим (пропофол 60 мг/кг доочеревино), депільованим тваринам спеціальним електродом пунктирували перикард у четвертому міжребер'ї на відстані 2 мм від лівого краю грудни. Електрод занурювали на необхідну глибину, розташовуючи латерально для поперечного положення відносно маргінальної гілки лівої коронарної артерії. Пасивний електрод розміщували на правій половині грудної клітини. За допомогою апарату для високочастотної хірургії ЕН-57М виконували діатермокоагуляцію поверхневого шару міокарда та маргінальної гілки лівої вінцевої артерії. До та після маніпуляції реєстрували електрокардіограму (ЕКГ) в ІІ стандартному відведенні. Ефективність експериментальної фармакотерапії оцінювали за динамікою летальності тварин протягом 72 год. (для аналізу взято показники окремих синхронних серій дослідів) та змін ЕКГ. Оскільки у більшості серій протягом 3 діб гинули всі тварини групи контрольної патології (КП), для аналізу взято ЕКГ 5 щурів із 90, що вижили через 3 доби. Загальна кількість тварин у групі мексидолу становила 15, у групі АРІЛ-1 – 10.

Статистичну обробку кількісних даних при обліку в альтернативній формі здійснювали за кутовим перетворенням Фішера при розрахунку відмінностей середніх показників із використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Інтегральним показником захисної дії є виживаність тварин. Як видно з табл. 1, у групі

КП відразу після моделювання ІМ (особливо протягом перших 4 год.) спостерігалася значна летальність, яка через 3 доби сягнула 100%.

В інших серіях дослідів на цей термін спостереження смертність становила в даній групі 90-100%. АРІЛ-1 значно зменшував ранню та відстрочену летальність, яка вже з 4 год. була достовірно меншою, ніж у групі КП (20% проти 60%; $p < 0,05$) і сягнула максимуму (50%) через 24 год. Цей показник залишився незмінним протягом 3 діб, тобто АРІЛ-1 знижував смертність у 2 рази ($p < 0,05$). За ефективністю АРІЛ-1 не тільки не поступався мексидолу, але й дещо перевищував його.

Результати аналізу ЕКГ наведено в табл. 2.

У групі інтактного контролю мав місце правильний синусовий ритм із частотою серцевих скорочень (ЧСС) 257-375 хв.⁻¹, у середньому – $332 \pm 22,6$ хв.⁻¹. Конфігурація та параметри всіх елементів ЕКГ відповідають нормі. Зміщення сегмента ST відносно ізолінії в групі інтактного контролю становило в середньому $-0,3 \pm 0,28$ мм, коливаючись від -1 мм до $+0,5$ мм.

У всіх тварин групи КП ритм ектопічний (табл. 2): зубець Р відсутній як перед шлуночковим комплексом, так і позаду нього, що свідчить про порушення функції автоматизму. Відсутність зубця Р означає, що водієм ритму слугує атріовентрикулярне (АВ) з'єднання, а ретроградне збудження передсердь збігається за часом з антеградним збудженням шлуночків [8]. Порушення автоматизму посилюється в динаміці модельної патології: відразу після відтворення ІМ в окремих тварин спостерігався синусовий ритм або міграція суправентрикулярного водія ритму. ЧСС через 72 год. модельного ІМ становила у 4 тварин 54-167 хв.⁻¹, що добре відповідає значно меншій частоті імпульсів, які здатен генерувати АВ-вузол порівняно із синусовим вузлом. В одного щура ЧСС постійно коливалася близько 340 хв.⁻¹, що можна розцінити як непароксизмальну тахікардію з АВ-з'єднання. Остання інколи спостерігається в

ТАБЛИЦЯ 2

Порівняльний вплив АРІЛ-1 і мексидолу на ЕКГ (її стандартне відведення) щурів із моделлю ІМ (діатермокоагуляція маргінальної гілки лівої коронарної артерії) через 72 год. (n=5)

Показники	Інтактний контроль	Модель інфаркту міокарда		
		Контрольна патологія	АРІЛ-1, 3 мг/кг	Мексидол, 100 мг/кг
Частка тварин із синусовим ритмом, абс. і %	5 (100%)	0	3 (60%)* #	1 (20%)
Частка тварин із ритмом атріовентрикулярного з'єднання, абс. і %	0	5 (100%)*	2 (40%)* #	4 (80%)
ЧСС, хв. ⁻¹	332±22,6	170±54,8*	233±53,6	203±37,4*
Тривалість інтервалу		зубець Р відсутній інтервал	0,047±0,003 [#] (n=3)	0,050 (n=1)
			за синусового ритму	
Амплітуда зубця R, мВ	0,87±0,11	0,71±0,12	0,85±0,08	0,91±0,19
Амплітуда зубця T, мВ	0,07±0,04	0,65±0,05*	0,13±0,07 [#]	0,49±0,17*
Тривалість інтервалу Q-T, с	0,06±0,008	0,14±0,009*	0,10±0,013 [#]	0,11±0,010*
Систолічний показник, %	35,0±6,30	37,4±10,1	39,4±6,14	35,4±6,03

Примітки: статистично значущі відмінності (p<0,05): * – з інтактним контролем; # – з контрольною патологією.

перші дні ІМ і в людини [8]. У середньому ЧСС у групі КП дорівнювала 170±54,8 хв.⁻¹ проти 233±53,6 хв.⁻¹ у інтактних тварин (p<0,05). Одночасне збудження передсердь і шлуночків у щурів групи КП, очевидно, додатково погіршує внутрішньосерцеву та, відповідно, системну гемодинаміку, оскільки синхронне скорочення цих відділів серця перешкоджає наповненню шлуночків кров'ю. Висота зубця R мала тенденцію до зниження. Щодо сегмента ST, спостерігалася або більш типова для перших годин модельного ІМ монофазна крива, або частіше безпосередній перехід зубця S у високий загострений зубець T, який майже дорівнює зубцеві R, що віддзеркалює тяжкі порушення реполяризації шлуночків. Підйом монофазної кривої або амплітуда зубця T у середньому в 9 разів (p<0,001) перевищувала його висоту в інтактних тварин, сягаючи 0,65±0,05 мВ, що означає масивне пошкодження міокарда. Значно (у 2,3 рази проти показника інтактних щурів; p<0,05) зростала тривалість інтервалу Q-T – електричної систоли шлуночків, що свідчить про порушення скоротливої функції серця [10]. Проте систолічний показник (СП), що є відношенням інтервалу Q-T до інтервалу R-R, вираженим у %, і вказує, яку частину серцевого циклу займає електрична систола шлуночків, практично не змінився. Але СП є прямо пропорційним ЧСС. З урахуванням брадикардії у групі КП при перерахунку на 100 скорочень за 1 хв. СП становить 22,6±1,74 проти 10,3±1,27 у інтактних тварин (p<0,01), що також віддзеркалює погіршення скоротливості міокарда.

Як видно з табл. 2, у щурів із моделлю ІМ на тлі АРІЛ-1 синусовий ритм зареєстрова-

но в 60% випадків (p<0,05 відносно інтактного контролю та КП). Ритм АВ-з'єднання з одночасним збудженням передсердь і шлуночків – без зубця Р – спостерігався в 40% випадків (також p<0,05 відносно інтактного контролю та КП). Отже, АРІЛ-1 достовірно покращував автоматизм, виявляючи протиаритмічні властивості. ЧСС коливалася від 149-188 хв.⁻¹ при ритмі АВ-з'єднання до 204-429 хв.⁻¹ при синусовому ритмі, у середньому – 233±53,6 хв.⁻¹. Значущих відмінностей ЧСС з інтактним контролем не було, хоча мала місце тенденція до брадикардії. При синусовому ритмі тривалість інтервалу PQ не відрізнялася від такої в інтактних тварин, тобто АВ-провідність не порушувалася. За амплітудою зубець R не відрізнявся від інтактного контролю. Щодо сегмента ST, монофазної кривої не спостерігалася, у 4 щурів зубець S безпосередньо переходив у зубець T, в 1 випадку сегмент був на 2 мм нижче ізолінії, що свідчить про ішемію всієї товщі міокарда. За амплітудою зубець T у цілому мав тенденцію до зростання, але був у 5 разів менше (p<0,05), ніж у групі КП (табл. 2), що означає значно менше ішемічне пошкодження та порушення фази реполяризації. Тривалість інтервалу Q-T зростала порівняно з інтактним контролем у середньому на 0,04 с (p<0,05) і на стільки ж зменшувалася проти показника КП (p<0,05). СП не мав достовірних відмінностей із таким в обох контрольних групах, але при перерахунку на 100 скорочень за 1 хв. він зростав до 16,3±2,12 при 10,3±1,27 в інтактних тварин (p<0,05), що додатково свідчить про помірне погіршення скоротливої функції. Порівняно з «нормалізованим» за ЧСС показником групи

КП ($22,6 \pm 1,74$) це значення вірогідно знижувалось, що, як і менша абсолютна тривалість інтервалу Q-T, свідчить про значно менше порушення скоротливості серцевого м'яза.

На тлі мексидолу синусовий ритм спостерігався лише в 1 щура (20%), ритм АВ-з'єднання без зубця Р — у 4 (80%) щурів, що наближається до показників групи контрольної патології (табл. 2). Отже, мексидол на відміну від АРІЛ-1 майже не вплинув на порушений автоматизм. ЧСС у щура із синусовим ритмом становила 333 хв.^{-1} при ритмі АВ-з'єднання від 139 хв.^{-1} до 167 хв.^{-1} , середнє значення по групі — $203 \pm 37,4 \text{ хв.}^{-1}$, тобто як і в групі КП, вірогідно менше, ніж в інтактному контролі. Зберігалася нормальна амплітуда зубця R. Стосовно сегмента ST або зберігалася монофазна крива (1 випадок), або частіше зубець S безпосередньо переходив у високий загострений зубець T. Як і на тлі АРІЛ-1, в 1 тварини сегмент ST опустився нижче ізолінії (на 4 мм), що свідчить про розповсюдження ішемії на всю товщу серцевого м'яза. Зубець T збільшувався за амплітудою в середньому в 7 разів порівняно з інтактним контролем ($p < 0,05$) і майже не поступався такому в групі КП. Тривалість інтервалу Q-T вірогідно зростала відносно інтактного контролю майже вдвічі та не мала достовірних відмінностей із показником групи КП, тобто скоротливість міокарда зменшувалась. СП не зазнавав змін, але при перерахунку на 100 скорочень за 1 хв. дорівнював $18,0 \pm 2,34$ ($p < 0,05$ проти $10,3 \pm 1,27$ в інтактному контролі) і був лише незначно краще, ніж у групі КП ($22,6 \pm 1,74$).

Результати експериментально обґрунтовують високу ефективність і доцільність блокади рецепторів ІЛ-1 як одного із шляхів кардіопротекторної дії при ішемії міокарда.

ВИСНОВКИ

1. Моделювання інфаркту міокарда у щурів шляхом діатермокоагуляції поверхневого шару серцевого м'яза та маргінальної гілки лівої вінцевої артерії супроводжується високою (близько 100%) летальністю протягом 3 діб. Даній моделі притаманний розвиток ектопічного ритму атріовентрикулярного з'єднання з одночасним збудженням передсердь і шлуночків.

2. Блокада рецепторів ІЛ-1 рекомбінантним антагоністом сприяє двократному збільшенню виживаності щурів із моделлю діатермокоагуляційного інфаркту міокарда та зменшує ступінь ішемічного пошкодження серцевого м'яза за даними ЕКГ, сприяє збереженню синусового ритму.

3. Антагоніст рецепторів ІЛ-1 (3 мг/кг) за кардіопротекторною дією має переваги перед антиоксидантом мексидолом (100 мг/кг).

ЛІТЕРАТУРА

1. А.с. 1651315 СССР. Способ моделирования инфаркта миокарда / Ю.И.Гуминский, О.Ю.Роменский, Л.В.Фомина, И.С.Семенов (СССР). — 1991. — Бюл. №19.
2. Аверин Е.Е. Прогностическая значимость повышения уровней цитокинов и эмоциональных нарушений у больных ишемической болезнью сердца / Е.Е.Аверин, С.И.Чернова // Фарматека. — 2010. — №13. — С. 109-111.
3. Архипова С.В. Цитокины при инфаркте миокарда / С.В.Архипова, Н.А.Зорин, М.Ю.Янкин [и др.] // Иммунология. — 2009. — №2. — С. 104-107.
4. Богова О.Т. Инфаркт миокарда: воспаление и прогноз / О.Т.Богова, И.И.Чукаева // Российский кардиологич. журн. — 2003. — №4. — С. 21-28.
5. Волков В.И. Провоспалительные цитокины и растворимая молекула межклеточной адгезии при ишемической болезни сердца / В.И.Волков, С.А.Серик // Кардиология. — 2002. — №42 (9). — С. 12-16.
6. Зорин Н.А. Реактанты острой фазы воспаления и интерлейкин-8 при инфаркте миокарда / Н.А.Зорин, В.М.Подхомутников, М.Ю.Янкин [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. — 2009. — №4. — С. 36-37.
7. Закирова Н.Э. Иммуновоспалительные реакции при ишемической болезни сердца / Н.Э.Закирова, Н.ХХафизов, И.М.Карамова [и др.] // Rational Pharmacother. Card. — 2007. — №2. — Р. 16-19.
8. Закирова А.Н. Состояние систолической функции левого желудочка и активность провоспалительных цитокинов при остром инфаркте миокарда / А.Н.Закирова, А.Р.Мухаметрахимова, Н.Э.Закирова // Сердечная недостаточность. — 2005. — №6 (4). — С. 162-165.
9. Кушаковский М.С. Аритмии и блокады сердца: атлас электрокардиограмм / М.С.Кушаковский, Н.Б.Журавлева. — Изд. 2-е. — Л.: Медицина, 1983. — 340 с.
10. Милославский Я.М. Основные инструментальные методы исследования сердца / Я.М.Милославский, Д.К.Ходжаева, А.И.Нефедова, В.Н.Ослопов. — Казань: Изд-во Казанского университета, 1983. — 150 с.
11. Динамика про- и противовоспалительных цитокинов при остром инфаркте миокарда / И.М.Фуштей, С.Л.Подсевакина, О.В.Ткаченко, З.В.Лашкул // Оригинальные исследования. — 2007. — №6 (13). — 187-194.
12. Ходаківський О.А. Оцінка захисної дії на міокард нових похідних адамантану в умовах експериментального кардіогенного шоку / О.А.Ходаківський // Вісник морфології. — 2010. — №3 (16). — С. 564-568.
13. Biasucci L.M. Role of inflammation in the pathogenesis of unstable coronary artery diseases / L.M.Biasucci, C.Colizzi, D.Rizzello [et al.] // Scand. J. Clin. Lab. Invest. — 1999. — Vol. 230. — P. 12-22.

14. Bis J.C. Variation in inflammation-related genes and risk of incident nonfatal myocardial infarction or ischemic stroke / J.C.Bis, S.R.Heckbert, N.L.Smith [et al.] // *Atherosclerosis*. — 2008. — Vol. 198. — P. 166-173.
15. Hasdai D. Increased serum concentrations of interleukin-1 beta in patients with coronary artery disease / D.Hasdai, M.Scheinowitz, E.Leibovitz [et al.] // *Heart*. — 1996. — Vol. 76. — P. 24-28.
16. Licastro F. Acute myocardial infarction and proinflammatory gene variants / F.Licastro, M.Chiapelli, C.M.Caldarera [et al.] // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 2007. — Vol. 1119. — P. 227-242.
17. Ohtsuka M. Cytokine therapy prevents left ventricular remodeling and dysfunction after myocardial infarction through neovascularization / M.Ohtsuka, H.Takano, Y.Zou [et al.] // *FASEB J.* — 2004. — №18. — P. 851-853.

Е.Г.Щекина, С.Ю.Штрыголь, С.М.Дроговоз, А.А.Ходаковский. Кардиопротекторный эффект рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 на модели инфаркта миокарда. Харьков, Винница, Украина.

Ключевые слова: антагонист рецептора интерлейкина-1, инфаркт миокарда, кардиопротекторное действие.

В статье приведены результаты экспериментального исследования кардиопротекторного действия рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 на модели острого инфаркта миокарда (диатермокоагуляция маргинальной ветви левой коронарной артерии у крыс). Через 3 сут. летальность контрольных животных достигла 100%, наблюдался эктопический ритм атриовентрикулярного соединения с одновременным возбуждением предсердий и желудочков, значительное ишемическое повреждение миокарда. Блокада рецепторов интерлейкина-1 рекомбинантным антагонистом двукратно сни-

жала летальность, уменьшала степень повреждения сердечной мышцы, способствовала сохранению синусового ритма. По кардиопротекторному действию антагонист рецептора интерлейкина-1 (3 мг/кг) превосходит известный антиоксидант мексидол (100 мг/кг). Результаты экспериментально обосновывают высокую эффективность и целесообразность блокады рецепторов интерлейкина-1 как одного из путей кардиопротекторного действия при ишемии миокарда.

E.G.Schokina, S.Yu.Shtrygol, S.M.Drogovoz, A.A.Hodakovskiy. *Cardioprotective effect of interleukin-1 receptors recombinant antagonist on the model of myocardial infarction. Kharkiv, Vinnytsa, Ukraine.*

Key words: receptors of antagonist IL-1, myocardial infarction, cardioprotective effect

The article shows the results of the experimental study of recombinant receptors of antagonist interleukin-1 the cardioprotective effect on the model of acute myocardial infarction (diathermo-coagulation of the left coronary artery marginal branch in rats). After 3 days the lethality of the control animals reached 100%, there was observed ectopic rhythm of the atrioventricular connection with the simultaneous excitation of the atrias and ventricles, significant ischemic myocardial injury. Receptors blockade with interleukin-1 recombinant antagonist doubly reduced mortality, reduced the extent of damage to the heart muscle, contributed to the preservation of sinus rhythm. By the cardioprotective effect of receptors of antagonist interleukin-1 (3 mg/kg) exceeds the antioxidant mexidol (100 mg/kg). Results experimentally justify the high efficiency and expediency of the blockade of receptors of interleukin-1 as one of the way of cardioprotective effect at myocardial ischemia.

Надійшла до редакції 15.01.2011 р.