

И. Ф. Беленичев², Л. И. Кучеренко^{1,2}, Ю. А. Волчик²,
А. В. Абрамов², Н. В. Бухтиярова²

Некоторые аспекты кардиопротекторного действия нового β -адреноблокатора с NO-миметическим эффектом «Гипертрил» на модели инфаркта миокарда

¹НПО «Фарматрон», Запорожье

²Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: инфаркт миокарда, β -адреноблокаторы, 4-амино-1,2,4-триазолы, Гипертрил, кардиопротекция

Интенсивная терапия в остром периоде инфаркта миокарда является одной из сложных клинических проблем [1, 2]. Именно в этот период широко назначаются тромболитики, антикоагулянты и β -адреноблокаторы. Назначение β -адреноблокаторов (метопролол, небиволол, атенолол) в первые часы инфаркта миокарда снижает потребность миокарда в кислороде и улучшает его доставку, уменьшает боль, способствует ограничению зоны инфаркта и снижает риск угрожающих жизни желудочковых аритмий [2, 8]. Анализ результатов контролируемых клинических исследований показал, что введение β -адреноблокаторов снижает летальность, риск остановки кровообращения и повторных инфарктов без смертельного исхода на 15 % [2, 8, 10]. С учетом всего вышесказанного, дальнейшее создание высокоэффективных β -адреноблокаторов с кардиопротекторным, вазодилатирующим, антиоксидантным действием является актуальной задачей современной фармакологии. Сотрудниками НПО «Фарматрон» был разработан подход к созданию новых ангиангинальных препаратов и синтезировано соединение – производное 4-амино-1,2,4-триазола под шифром «МТ», в дальнейшем «Гипертрил», которое оказывает NO-миметическое, β_1 -адреноблокирующее, антигипертензивное действие [3, 5–7]. Цель исследования – изучение кардиопротекторного действия Гипертрила.

Материалы и методы. Опыты выполнены на 60 белых беспородных крысах-самцах массой 160–180 г, полученных из ЧП «Биомодельсервис». Все экспериментальные процедуры и оперативные вмешательства осуществляли в соответствии с «Положением об использовании животных в биомедицинских исследованиях». Инфаркт миокарда (ИМ) моделировали введением изадрина (SIGMA-ALDRICH, USA) и питуитрина (AB «Endokrininiai», Литва) по схеме: питуитрин – 0,5 Ед/кг – внутривенно, через 20 мин изадрин – 100 мг/кг – подкожно, через 6 ч инъекцию изадрина повторяли и через 24 ч вводили оба агента в тех же дозах [4]. Исследуемые препараты вводили внутривенно трижды в течение суток через 30 мин после каждой инъекции изадрина: Гипертрил в дозе 2,5 мг/кг, метопролол – 10 мг/кг. В работе использовали: Гипертрил – 0,5 % раствор для инъекций (НПО «Фарматрон») и метопролол – 1% раствор для инъекций в ампулах (Astra Zeneca UK Ltd., Швеция). В каждой группе было по 15 животных. У животных регистрировали ЭКГ под тиопентал-натриевым наркозом (40 мг/кг), анализ которой проводили на компьютерном анализаторе CardioCom-2000plus (ХАИ-медика, Украина). Для морфологических исследований верхушку сердца в течение 24 ч фиксировали в 10 % формалине нейтральном, заливали в парафиновые блоки, из которых готовили серийные 5-микронные срезы. Окрасивание проводили галоцианин-хро-

мовыми квасцами по Эйнарсону [9]. Морфометрический анализ проводили на микроскопе Axioskop (Zeiss, Germany) при помощи видеокамеры COHU-4922 (USA) и вводили в систему цифрового анализа изображения VIDAS-386 (Kontron Electronic, Germany).

Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA for Windows 6.1» (StatSoft Inc., № AXX R712D833214SAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Сравнение групп проводили при помощи критерия Mann-Whitney.

Результаты и их обсуждение. Моделирование инфаркта миокарда сопровождалось снижением физической активности животных и отеком легких. Развитие сердечной недостаточности подтверждается снижением диуреза в два раза. В терминальных стадиях возникали патологические типы дыхания (Чейн-Стокса, Куссмауля, Биота), судороги, параличи, остановка сердечной деятельности. Летальность в группе нелеченых животных составляла 53,4 % (табл. 1). В группе животных, получавших лечение препаратом Гипертрил, отмечены повышение двигательной активности, улучшение внешнего вида животных, их поведения и сердечно-сосудистой деятельности.

В группе животных с экспериментальной патологией, получавших Гипертрил, летальности не наблюдали, что очень важно в острый период ИМ

[2]. В группе животных с ИМ, получавших метопролол, летальность составляла 40 %. Экспериментальный инфаркт миокарда у животных характеризовался увеличением ЧСС на 57,1 % по сравнению с интактной группой (табл. 2).

При этом отмечали снижение амплитуды зубца R на 32,2 % и увеличение отклонения интервала ST от изолинии в 4,8 раза, что свидетельствовало об ишемическом изменении миокарда. Следует отметить, что развитие инфаркта миокарда приводило к достоверному увеличению (на 3,2 %) длительности деполяризации предсердий (зубец P) относительно длительности сердечного цикла (интервал RR), времени проведения импульса (на 6,8 %) по атриовентрикулярному соединению (интервал PQ) и длительности электрической систолы желудочков (на 7,4 %, комплекс QRS). Это привело к укорочению диастолического периода TP на 15,6 % по сравнению с интактной группой.

Экспериментальная терапия препаратом Гипертрил приводила к снижению ЧСС на 22,1 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными крысами с ИМ (табл. 2).

При этом у экспериментальных животных, получавших Гипертрил, на 47,6 % ($p < 0,05$) увеличивалась амплитуда зубца R, и данный показатель статистически не отличался от показателя контрольных крыс без ИМ. Таким образом, препарат Гипертрил проявляет отрицательный хронотропный эффект при инфаркте миокарда. В

Таблица 1

Выживаемость животных в условиях экспериментального инфаркта миокарда и применения Гипертрила

Группа животных	Количество животных в группе	Количество выживших животных	Процент выживания
Интактные животные	15	15	100,0
Инфаркт миокарда (контроль)	15	7	46,6
Инфаркт миокарда + Гипертрил, 2,5 мг/кг	15	15* ¹	100,0
Инфаркт миокарда + Метопролол, 10 мг/кг	15	9	60,0

Примечание. Здесь и в табл. 2–3: *Изменения достоверны по отношению к животным контрольной группы ($p < 0,05$); ¹изменения достоверны по отношению к группе животных, получавших метопролол ($p < 0,05$).

**Показатели ЭКГ у животных с экспериментальным инфарктом миокарда
и в условиях применения Гипертрила ($M \pm m, n = 15$)**

Исследуемый показатель		Инфаркт миокарда	ИМ + Метопролол, 10 мг/кг	ИМ + Гипертрил, 2,5 мг/кг	Интактные животные
Частота сердечных сокращений, уд/мин		597 ± 2	490 ± 12*	465 ± 13*	380 ± 10
Амплитуда зубцов, мВ	P	0,040 ± 0,010	0,008 ± 0,022	0,026 ± 0,008	0,026 ± 0,008
	R	0,151 ± 0,010	0,174 ± 0,073	0,223 ± 0,030*	0,223 ± 0,030
	T	0,078 ± 0,023	0,072 ± 0,038	0,076 ± 0,017	0,076 ± 0,017
Отклонение интервала ST относительно изолинии, мВ		0,034 ± 0,029	-0,044 ± 0,023	-0,101 ± 0,024* ¹	-0,007 ± 0,021
Длительность интервалов, числитель – мс, знаменатель – % к интервалу RR	P	21,33 ± 0,44 20,52 ± 0,44	19,00 ± 1,89 16,28 ± 1,24	27,46 ± 1,43* ¹ 17,28 ± 1,07*	27,46 ± 1,42 17,28 ± 1,07
	PQ	34,00 ± 0,76 32,71 ± 0,82	30,33 ± 1,64 26,24 ± 0,90*	41,75 ± 1,95* ¹ 25,85 ± 1,08*	41,75 ± 1,95 25,85 ± 1,08
	QRS	27,56 ± 0,87 26,48 ± 0,77	24,33 ± 0,83* 21,14 ± 0,44*	26,80 ± 0,26* ¹ 22,33 ± 0,53*	30,38 ± 0,70 19,02 ± 0,55
	TP диастола, %	40,81 ± 1,02	52,62 ± 1,27*	49,38 ± 1,34*	55,14 ± 2,41

группе животных, получавших Гипертрил, регистрировали снижение степени отклонения интервала ST от изолинии в 3,4 раза ($p < 0,05$), что в сочетании с восстановлением амплитуды зубца R указывало на сохранение более высокой функциональной активности кардиомиоцитов и проявление противоишемического действия исследуемого препарата. Важно отметить, что введение препарата Гипертрил приводило к достоверному уменьшению абсолютной и относительной (к интервалу RR) длительности зубца P, интервалов PQ и QRS, что указывало на снижение степени асинхронности сокращения миокарда предсердий и желудочков. При этом почти на 9 % увеличивалась электрическая диастола сердца, что в условиях тахикардии положительно влияет на течение реполяризационных процессов и энергетическое восстановление миокардиоцитов.

Экспериментальная терапия инфаркта миокарда метопрололом также приводила к достоверному уменьшению ЧСС и степени отклонения от изолинии

интервала ST. Однако по силе проявляемого эффекта метопролол значительно уступал Гипертрилу. При терапии метопрололом наблюдалось уменьшение абсолютной и относительной (к интервалу RR) длительности зубца P, интервалов PQ и QRS, что указывало на снижение степени асинхронности сокращения миокарда предсердий и желудочков. Кроме того, более чем на 10 % увеличивалась электрическая диастола сердца. Сравнивая эффективность экспериментальной терапии инфаркта миокарда препаратом Гипертрил и метопрололом по показателям электрической активности сердца, следует отметить преимущества препарата Гипертрил: уменьшение ЧСС, степени отклонения интервала ST от изолинии и повышение амплитуды зубца R. Этот факт также может свидетельствовать о том, что исследуемый препарат Гипертрил оказывает протективное действие на кардиомиоциты в зоне ишемии, способствует восстановлению их энергообеспечения [3, 5], что дает им возможность включиться в систолу наряду с

неповрежденными кардиомиоцитами. Моделирование ИМ приводило к нарушению гистоструктуры миокарда – формированию очага некроза, занимающего до 27,8 % площади всех срезов, уменьшению плотности на 23,1 % и площади на 30,7 % ядер кардиомиоцитов, снижению в них концентрации РНК на 19,0 % на фоне снижения концентрации РНК в цитоплазме кардиомиоцитов на 27,3 % по сравнению с показателями интактных животных. Параллельно в этих срезах отмечали повышение количества апоптотически измененных кардиомиоцитов на 280 % (табл. 3).

Указанные изменения свидетельствовали об ишемических нарушениях метаболизма кардиомиоцитов, в частности, о нарушении баланса процессов биосинтеза в миокарде, деструкции клеток и усилении некроза/апоптоза [2, 8, 10]. Курсовое назначение Гипертрила в дозе 2,5 мг/кг животным с инфарктом миокарда оказывало значительный кардиопротективный эффект, о чем свидетельствовало уменьшение зоны некроза в миокарде на 20,8 %.

Параллельно в миокарде крыс с ИМ, получавших Гипертрил, отмеча-

лось увеличение на 29 % плотности ядер кардиомиоцитов на фоне увеличения их площади на 23,7 % по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Введение Гипертрила приводило и к уменьшению апоптотически измененных кардиомиоцитов на 74,8 % ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы, что свидетельствовало о кардиопротекторном и антиапоптотическом действии препарата. Экспериментальная терапия Гипертрилом приводила к увеличению концентрации РНК в ядрах на 18,7 % и цитоплазме кардиомиоцитов на 20,1 % по сравнению с нелечеными животными, что свидетельствует о стимуляции процессов транскрипции и репаративных свойствах препарата. Курсовое введение метопролола оказывало менее выраженное кардиопротекторное действие по сравнению с Гипертрилом. Причем по ряду показателей (летальность, отклонение интервала ST на ЭКГ, площадь некроза миокарда, плотность ядер кардиомиоцитов и содержание в них РНК, плотность ядер апоптотически и деструктивно измененных клеток) Гипертрил достоверно ($p < 0,05$) превосходит метопролол.

Таблица 3

Морфофункциональные характеристики кардиомиоцитов в условиях экспериментального инфаркта миокарда и применения Гипертрила

Исследуемый показатель	Интактные животные	Инфаркт (контроль)	ИМ + Гипертрил, 2,5 мг/кг	ИМ+ Метопролол, 10 мг/кг
Площадь ядер кардиомиоцитов, мкм ²	14,0 ± 0,8	9,70 ± 0,38	12,0 ± 0,5*	10,4 ± 0,2
Плотность ядер кардиомиоцитов на 1 мм ² площади миокарда	9773 ± 217	7512 ± 263	9681 ± 178* ¹	8507 ± 255*
Плотность ядер апоптотических и деструктивно-измененных кардиомиоцитов на 1 мм ² площади миокарда	207 ± 14	787 ± 15	235 ± 11* ¹	473 ± 19*
Концентрация РНК в ядрах кардиомиоцитов, E _{оп}	0,264 ± 0,001	0,214 ± 0,001	0,254 ± 0,002* ¹	0,215 ± 0,001
Концентрация РНК в цитоплазме кардиомиоцитов, E _{оп}	0,095 ± 0,001	0,069 ± 0,001	0,083 ± 0,002* ¹	0,073 ± 0,001*
Площадь некроза, % к общей площади срезов	0	27,8 ± 3,5	7,0 ± 0,6* ¹	12,3 ± 1,1*

Выводы

1. Введение Гипертрила в дозе 2,5 мг/кг внутрибрюшинно крысам параллельно формированию острого инфаркта миокарда приводит к снижению летальности на 53,4 % и улучшению показателей ЭКГ – снижению ЧСС на 22,1 % ($p < 0,05$), увеличению на 47,6 % ($p < 0,05$) амплитуды зубца R на фоне снижения суммарного отклонения интервала ST от изолинии в 3,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой, что указывает на сохранение функциональной активности кардиомиоцитов.
2. Назначение Гипертрила животным с инфарктом миокарда приводит к уменьшению площади некроза миокарда на 20,8 %, снижению

плотности ядер апоптических и деструктивно измененных кардиомиоцитов на 70 %, повышению плотности ядер кардиомиоцитов на 29 %, увеличению содержания РНК (в ядрах на 18,7 % и в цитозоле на 20 %) по сравнению с группой нелеченых животных.

3. По основным показателям кардиопротекторной активности (летальность экспериментальных животных, морфофункциональные показатели кардиомиоцитов, отклонение интервала ST от изолинии на ЭКГ) Гипертрил достоверно ($p < 0,05$) превосходит метопролол (10 мг/кг).
4. Полученные данные являются экспериментальным обоснованием для дальнейшего углубленного изучения Гипертрила как потенциально антиангинального препарата.

1. Агеев Ф. Т. Диастолическая дисфункция как проявление ремоделирования сердца / Агеев Ф. Т., Овчинников А. Г. // Сердечная недостаточность. – 2011. – Т. 3, № 4 (14). – С. 190–195.
2. Коняхин А. Ю. Современные патогенетические подходы к коррекции ишемии миокарда: Автореф. дисс. на соискание учен. степени доктора медицинских наук. – Москва, 2007. – 47 с.
3. Патент № 2404974 РФ, МПК C07D249/08 (2006.01) A61P9/04 (2006.01), A61P9/10 (2006.01), A61P9/12 (2006.01). Бромид 1-(β -фенилэтил)-4-амино-1,2,4-триазолия (MT), обладающий кардиопротективным, противоишемическим, антигипертензивным, антиоксидантным, протеинсинтетическим и энерготропным действием / Мазур И. А., Беленичев И. Ф., Колесник Ю. М., Кучеренко Л. И., Волошин Н. А., Абрамов А. В., Чекман И. С., Горчакова Н. А., Загородний М. И., Мамчур В. И., Довгань Р. С., Георгиевский Г. В.; заявитель и патентообладатель ООО «НПО "Фарматрон"». – № 2008148765/04; заявл. 10.12.2008; опубл. 27.11.2010.
4. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств / А. В. Стефанов. – К.: Авиценна, 2002. – 568 с.
5. Некоторые аспекты кардиопротективного действия потенциального антиангинального препарата «MT» при моделировании острой ишемии миокарда / Чекман И. С., Беленичев И. Ф., Мазур И. А. [и др.] // Запорож. мед. журн. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 198–202.
6. Влияние нового препарата «Гипертрил» на показатели кардио- и системной гемодинамики у кролей с острой ишемией миокарда / Чекман И. С., Беленичев И. Ф., Мазур И. А. [и др.] // Эксперим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2012. – № 2. – С. 7–16.
7. NO-зависимые механизмы кардиопротекторного действия препарата «MT» при курсовом назначении SHN-крысам / Чекман И. С., Беленичев И. Ф., Мазур И. А. [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 8. – С. 24–26.
8. Effectiveness of beta-blocker therapy after acute myocardial infarction in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma / Chen J., Radford M. J., Wang Y. [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2010. – V. 37. – P. 1950–1956.
9. Handbook of Histology Methods for Bone and Cartilage / An, Yuehuei H., Martin, Kylie L. (Eds.). – New Jersey: Humana Press, 2003. – XVIII. – 588 p.
10. White W. Blood pressure monitoring in cardiovascular medicine and therapeutics / White W. – New Jersey: Humana Press, 2011. – 308 p.

И. Ф. Беленичев, Л. И. Кучеренко, Ю. А. Волчик, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтиярова Некоторые аспекты кардиопротекторного действия нового β_1 -адреноблокатора с NO-миметическим эффектом «Гипертрил» на модели инфаркта миокарда

Цель исследования – изучение кардиопротекторного действия нового производного 4-амино-1,2,4-триазола – «Гипертрил», которое оказывает NO-миметическое, β_1 -адреноблокирующее и антигипертензивное действие. Внутрибрюшинное введение Гипертрила в дозе 2,5 мг/кг крысам с изадрин-питуитриновым острым инфарктом миокарда приводит к снижению летальности животных на 53,4 % и улучшению показателей ЭКГ, характерному для кардиоселективных β -адреноблокаторов – снижению ЧСС на 22,1 % ($p < 0,05$), увеличению амплитуды зубца R на 47,6 % ($p < 0,05$) на фоне снижения степени отклонения интервала ST от изолинии в 3,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контроль-

ной группой, что указывало на сохранение более высокой функциональной активности кардиомиоцитов и проявление противоишемического действия исследуемого препарата. Назначение Гипертрила животным с инфарктом миокарда приводит к уменьшению зоны некроза миокарда на 20,8 %, снижению плотности ядер апоптических кардиомиоцитов на 70 %, повышению плотности ядер неповрежденных кардиомиоцитов на 29 %, повышению в них РНК на 18,7 % по сравнению с группой нелеченных животных, что свидетельствовало о наличии выраженного кардиопротекторного действия у потенциального препарата. По основным показателям кардиопротекторной активности (летальность экспериментальных животных, морфофункциональные показатели кардиомиоцитов, отклонение интервала ST от изолинии на ЭКГ) Гипертрил достоверно ($p < 0,05$) превосходит метопролол (10 мг/кг).

Полученные данные являются экспериментальным обоснованием для дальнейшего углубленного изучения Гипертрила как потенциального антиангинального препарата.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, β -адреноблокаторы, 4-амино-1,2,4-триазолы, Гипертрил, кардиопротекторное действие

І. Ф. Беленічев, Л. І. Кучеренко, Ю. А. Волчик, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтіярова **Деякі аспекти кардіопротекторної дії нового β -адреноблокатора з** **НО-міметичним ефектом «Гіпертрил» на моделі інфаркту міокарда**

Мета дослідження – вивчення кардіопротекторної дії нової сполуки похідного 4-аміно-1,2,4-триазолу – «Гіпертрил» з НО-міметичним, β -адреноблокуючим та антигіпертензивним ефектами. Внутрішньоочеревинне введення Гіпертрилу в дозі 2,5 мг/кг щурам з ізадрин-пітутриновим гострим інфарктом міокарда призводить до зниження летальності тварин на 53,4 % і покращання показників ЕКГ, характерного для кардіоселективних β -адреноблокаторів – зниження ЧСС на 22,1 % ($p < 0,05$), збільшення на 47,6 % ($p < 0,05$) амплітуди зубця R на тлі зниження ступеня відхилення інтервалу ST у 3,4 разу ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою, що свідчить про збереження більш високої функціональної активності кардіоміоцитів і протиішемічну дію досліджуваного препарату. Призначення Гіпертрилу тваринам з інфарктом міокарда призводить до зменшення зони некрозу міокарда на 20,8 %, зниження щільності ядер апоптичних кардіоміоцитів на 70 %, підвищення щільності ядер неушкоджених кардіоміоцитів на 29 %, збільшення вмісту в них РНК на 18,7 % порівняно з групою нелікованих тварин, що свідчить про наявність вираженої кардіопротекторної дії Гіпертрилу.

За основними показниками кардіопротекторної активності (летальність експериментальних тварин, морфофункціональні показники кардіоміоцитів, відхилення інтервалу ST від ізолінії на ЕКГ) Гіпертрил достовірно ($p < 0,05$) перевищує метопролол (10 мг/кг). Отримані дані є експериментальним обґрунтуванням подальшого поглибленого вивчення Гіпертрилу як потенційного антиангінального препарату.

Ключові слова: інфаркт міокарда, β -адреноблокатори, 4-аміно-1,2,4-триазолі, Гіпертрил, кардіопротекторна дія

I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, Yu. A. Volchik, A. V. Abramov, N. V. Bukhtiyarova **Some aspects of cardioprotective activity of new β -adrenoblocker with** **NO-mimetic effect «Hypertril» on myocardial infarction model**

A new compound – derivative of 4-amino-1,2,4 triazole – «Hypertril» which possesses NO-mimetic, β -adrenoblocking and antihypertensive activity was synthesized and studied its cardioprotective effect. Intraperitoneal administration of Hypertril in dose 2,5 mg/kg to rats with isadrine-pituitrin acute myocardial infarction resulted in 53,4 % decrease of lethality and improvement of ECG parameters that characterized for cardioselective β -adrenoblockers – decrease of heart rate by 22,1% ($p < 0,05$), increase of R wave amplitude by 47,6 % ($p < 0,05$) against the background of 3,4 times decrease of ST interval amplitude as compared to control group. It resulted in the maintenance of higher efficiency of myocardiocytes functional activity and proved antiischemic effect of investigated drug. Hypertril administration to animals with myocardial infarction resulted in decrease of myocardium necrosis zone by 20,8 %, decrease of apoptic cardiomyocytes density by 70 %, increase of intact cardiomyocytes nuclei density by 29 %, increase their RNA contents by 18,7 % as compared with untreated group, indicating the presence of pronounced cardioprotective effect of potential drug. As for the main indices of cardioprotective activity – (lethality of experimental animals, morphofunctional cardiomyocyte parameters, deviation ST interval from isolines on the ECG) Hypertril was significantly ($p < 0,05$) more effective then metoprolol (10 mg/kg).

The data obtained can be experimental ground of further advanced study of Hypertril as potential antianginal drug.

Key words: myocardial infarction, β -adrenoblockers, 4-amino-1,2,4 triazoles, Hypertril, cardioprotective effect

Поступила: 24.09.2014 г.

Контактное лицо: Беленічев Ігорь Федорович, доктор біологічних наук, професор, кафедра фармакології і медичинської рецептури, Запорозький державний медичинський університет, д. 26, просп. Маяковського, г. Запорозьке, 69035. Тел.: +38 0 61 34 27 41.
Електронна пошта: ifb1914@mail.ru