

## Фармакологические подходы к повышению устойчивости миокарда на модели острого инфаркта у крыс CD

Э.Р. Шайхутдинова<sup>1,2</sup>, И.А. Боброва<sup>3</sup>, О.Н. Хохлова<sup>2</sup>, Г.А. Слащева<sup>2</sup>,  
А.Н. Мурашев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – Пушчинский Государственный Университет, Пушкино

<sup>2</sup> – Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (ФИБХ РАН), Пушкино

<sup>3</sup> – Eribis Pharmaceuticals AB, Uppsala, Sweden

Контактная информация: д.б.н. Аркадий Николаевич Мурашев [murashev@fibkh.serpukhov.su](mailto:murashev@fibkh.serpukhov.su)

Изучены кардиопротективные свойства новых аналогов энкефалинов и показана их способность повышать устойчивость миокарда перед ишемическим и реперфузионным повреждением.

**Ключевые слова:** ишемическое прекондиционирование, морфин, энкефалины, крысы CD.

Кратковременные периоды ишемии и реперфузии способны защищать миокард от необратимых повреждений, вызванных последующим длительным ишемическим и реперфузионным стрессом. Это явление, обнаруженное в 1986 г. С.Е. Mungu с соавт. и названное ишемическим прекондиционированием (ИПК), ограничивает размеры инфаркта, улучшает восстановление функции сердца после ишемии [4]. В последующие годы было выяснено, что инициирование адаптационных механизмов ИПК возможно с помощью правильно подобранных фармакологических подходов, имитирующих защитные эффекты прекондиционирования миокарда без использования ишемических стимулов. Данное направление находится в стадии интенсивной разработки и может включать использование некоторых фармакологических препаратов, имитирующих эффекты прекондиционирования. Так, морфин может мимикрировать защитный эффект ИПК [6]. В 1996 г. было показано,

что фармакологическое прекондиционирование (ФПК) морфином повышает устойчивость сердца к повреждающему действию длительного нарушения коронарного кровотока [2, 3]. Также было показано, что экзогенное введение энкефалинов или их синтетических опиоидных аналогов уменьшали зону инфаркта при окклюзии коронарных сосудов у крыс. В поддержку этих данных было выдвинуто предположение, что увеличение концентрации энкефалинов в ткани желудочков крыс во время ишемии может быть компенсаторным механизмом, помогающим предотвратить развитие обширного инфаркта [5]. Весьма логично предположить, что заместительная терапия аналогами энкефалинов может оказаться эффективной при ишемии сердца.

В настоящей работе изучались кардиопротективные свойства новых синтетических аналогов энкефалина с кодовыми названиями EP91 и EP94, структура которых основана на общей тетрапептидной последовательности энкефалинов Туг–А–

Gly–Phe (защищена патентом) [1] на модели острого инфаркта миокарда у крыс CD в сравнении с ишемическим прекондиционированием и фармакологическим прекондиционированием морфином.

### Материалы и методы

В экспериментах были использованы животные SPF-статуса, полученные из Питомника лабораторных животных ФИБХ РАН, г. Пушкино. Животные содержались в стандартных условиях (температура 21±3°C, влажность 30-70%, 12-часовой период освещения, корм и вода – *ad libitum*). Все манипуляции с животными осуществлялись в соответствии с требованиями Институтской Комиссии ФИБХ РАН по контролю над содержанием и использованием лабораторных животных.

На аутбредных самцах крыс *Sprague-Dawley* (300-350 г) под уретановым наркозом (1,5 г/кг, внутривенно) моделировали острый инфаркт миокарда окклюзией левой коронарной артерии с последующей реперфузией. Операцию проводили при искусственной вентиляции легких и поддержании температуры тела животного на уровне 37°C. В бедренную вену имплантировали катетер для введения веществ. Спустя 25 мин ишемии и 2 ч реперфузии определяли размер инфаркта стандартной методикой после окраски сердца метиленовым синим и 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом. На срезах сердца подсчитывали площадь зоны инфаркта (ЗИ) и зоны риска (ЗР) методом компьютерной планиметрии с помощью программы ImageTool.

Контролем служили животные, у которых моделировали окклюзию-реперфузию без дополнительных вмешательств. В группе «ИПК» за 30 мин до окклюзии крысы получали три 5-минут-

ные коронароокклюзии, разделенные между собой 5-минутными эпизодами реперфузии. В группе «ФПК» морфин гидрохлорид вводили 5-минутными инфузиями в дозе 20 мкг/кг/мин трехкратно с 5-минутными периодами покоя также до начала окклюзии [6]. Для оценки кардиопротективных свойств изучаемых синтетических аналогов энкефалинов животные получали три 5-минутные инфузии пептидов (в дозе 3,33 мкг/кг/мин в группе «EP91» и 0,66 мкг/кг/мин в группе «EP94») по схеме, аналогичной фармакологическому прекондиционированию. Дозы пептидов были выбраны согласно предварительным экспериментам.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 7 for Windows. Данные представляли в виде «среднее ± стандартное отклонение», изменения исследуемых показателей считали статистически значимыми при P<0,05.

### Результаты и их обсуждение

В последние годы исследователи уделяют огромное влияние изучению механизмов адаптации к ишемии и поиску эндогенных медиаторов, обеспечивающих формирование толерантности сердца к ишемии. Такой интерес к проблеме связан с тем, что применение подобных медиаторов или их синтетических аналогов к клинической практике может существенно увеличить эффективность терапии острого инфаркта миокарда, а также позволит избежать многих осложнений, связанных с тотальной ишемией сердца. Изучение механизмов ишемического прекондиционирования показало, что ИПК развивается через триггеры и медиаторы, которые можно имитировать фармакологически агентами и таким путем стимулировать полезные эффекты ишемическо-

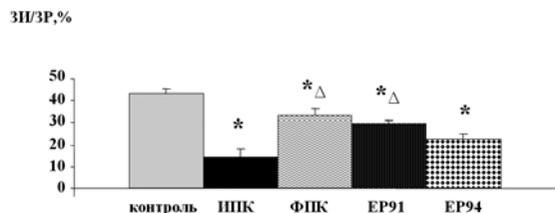


Рис. Размер зоны инфаркта (ЗИ), выраженный в процентах от зоны риска (ЗР) в контрольной и опытных группах.

\* $P < 0,05$  относительно группы «контроль»;

Δ  $P < 0,05$  относительно группы «ИПК»;

ANOVA с последующим тестом Манна-Уитни

го preconditionирования без эпизодов ишемии. С клинической точки зрения, preconditionирование фармакологическими средствами выглядит предпочтительнее ИПК, так как технологически проще и лишено потенциальной опасности ишемических эпизодов для измененного миокарда. Средства, имитирующие ИПК, показали себя перспективными в экспериментальных исследованиях.

Так, агонисты опиатных рецепторов обладают прямыми кардиопротективными свойствами, которые нельзя просто объяснить изменениями коронарного кровотока или кислородного баланса миокарда. Эти препараты непосредственно производят фармакологическое preconditionирование и косвенно усиливают защитные свойства ИПК, формируя защиту против ишемического повреждения миокарда. Ряд исследований указали, что активация опиатных рецепторов морфином сопровождается кардиопротекторным эффектом. Но морфин обладает рядом побочных эффектов, возникновение которых крайне нежелательно у пациентов с миокардиальной ишемией. Одним из перспективным направлением является создание новых опиоидных лигандов, обладающих высоким профилем активности и безопасности по сравнению с уже существующими опиоидными соединениями.

В данной работе были изучены кардиопротективные свойства новых аналогов энкефалинов компании Eribis Pharmaceuticals AB с кодовыми названиями EP91 и EP94 по сравнению с ишемическим preconditionированием и фармакологическим preconditionированием морфином.

В контрольной группе значение ZI/ZR составило  $42,9 \pm 2,7\%$  (рис.). Ишемическое preconditionирование приводило к значительному уменьшению зоны инфаркта в группе ( $14,1 \pm 4,1\%$ ,  $P < 0,05$  относительно контроля). В группе «фармакологическое preconditionирование» морфином размер инфаркта уменьшался менее значительно, но также статистически значимо ( $33,3 \pm 2,7\%$ ). При предварительном введении синтетических аналогов EP91 и EP94 наблюдалось выраженное снижение зоны инфаркта до  $27,5 \pm 2,4\%$  и  $26,0 \pm 3,5\%$  соответственно, причем введение пептида EP94 было более эффективно.

Результаты нашей работы подтвердили, что опиоиды являются триггерами классического preconditionирования и эффективны при уменьшении размера инфаркта [2].

#### Выводы

Таким образом, энкефалиновые аналоги, имеющие кардиопротективный

эффект, потенциально могут быть использованы как средства, повышающие устойчивость миокарда при ишемических и реперфузионных повреждениях. Однако необходимо отметить, что кардиопротективное действие данных пептидов нуждается в более детальном изучении непосредственно во время ишемии и сразу после окклюзии, что может быть еще более полезным в клинической практике.

#### Список литературы

1. Bobrova I. Pat. 12310193 PCT/SE2007/000731. Cardioprotective compounds.
2. Gross G. Role of opioids in acute and delayed preconditioning // J. Mol. Cell. Cardiol. 2003.V. 5. P.709-718.
3. Jackson K.E., Farias M., Stanfill A.S. et al. Transient arterial occlusion raises enkephalin in the canine sinoatrial node

and improves vagal bradycardia // Auton. Neurosci. Basic Clin. 2001. V. 256. P. 84-92.

4. Murry C., Jennings R., Reimer K. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium // Circulation. 1986. V.74. P.1124-1136.
5. Paradis P., Dumont M., Belichard P. et al. Increased preproenkephalin A gene expression in the rat heart after induction of myocardial infarction // Biochem. Cell Biol. 1992. V.70. P.593-598.
6. Schultz J., Hsu A., Gross G. Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via glibenclamide-sensitive mechanism // Circ. Res. 1996. V.78. P.1100-1114.

## Pharmacological approaches to increase of stability of a myocardium on model of a sharp heart attack at CD rats

E.R. Shayhutdinova, I.A. Bobrova, O.N. Hohlova, G.A. Slasheva, A.N. Murashev

Cardioprotective properties of new enkephalin analogs are studied and their ability to raise stability of a myocardium before ischemic and reperfusion damage is shown.

**Key words:** ischemic precondition, morphine, enkephalin, CD rats.