

УДК 547.74/.75:616.127-005.3.001.6

ВЛИЯНИЕ N-ЗАМЕЩЕННОГО АМИНОМЕТИЛПИРРОЛА НА ТЕЧЕНИЕ ИЗАДРИН-ПИТУИТРИНОВОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРЫС

© 2003 г. О.В. Филиппова

Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко

В работе изучается влияние производного аминометилпирролов под лабораторным шифром ПВ-149 течение изадрин-питуитринового инфаркта миокарда у крыс. Установлено, что на фоне вещества ПВ-149 снижается интенсивность процессов цитолиза, уменьшаются проявления острой сердечной недостаточности. Уменьшение тяжести течения инфаркта миокарда подтверждается нормализацией формулы крови. Одним из возможных путей влияния данного вещества на течение инфаркта миокарда является нормализация процессов свертывания крови, в частности антиагрегантные и профибринолитические свойства вещества ПВ-149.

ВВЕДЕНИЕ

Острый инфаркт миокарда продолжает оставаться одной из ведущих причин смертности и потери трудоспособности во всем мире [1, 5, 6], что обуславливает необходимость разработки новых лекарственных средств для лечения данной патологии. В течение многих лет в НИИ фармакологии РАМН ведутся работы по созданию новых кардиотропных средств. В развитие этих исследований к.х.н. В.П. Пересадой и к.х.н. А.М. Лихошерствым под руководством профессора Н.В. Кавериной был синтезирован ряд производных пирролов, обладающих антиаритмической активностью [2]. Цель данной работы – изучение влияния N-замещенного аминометилпиррола под лабораторным шифром ПВ-149 на течение острого мелкоочагового инфаркта миокарда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 72 беспородных белых крысах массой 180-220 г, разделенных на серии по 8 животных. Мелкоочаговый инфаркт миокарда вызывали по методике Резникова К.М. и соавт. [3]. В первые сутки эксперимента животным вводился питуитрин в дозах 1 ЕД/кг внутривентриально, а через 15 мин подкожно - изадрин (35 мг/кг), инъекция которого повторялась спустя 6 часов. Через 24 часа после первого введения питуитрина введение препаратов повторялось аналогичным образом. Это приводило к развитию у крыс мелкоочагового инфаркта миокарда, который наблюдался на следующий день после окончания введения лекарственных веществ. Исследуемое соединение вводилось дважды за 15 мин до четной инъекции изадрина в объеме жидкости 0,2 мл/100 г веса в дозе 1,5 мг/кг. У крыс регистрировали ЭКГ во втором отведении, коагулограм-

му, определяли количество воды в легких и печени, показатели общего анализа крови, агрегацию тромбоцитов, активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспаратаминотрансферазы (АсАТ) в плазме крови. По результатам общего анализа крови определяли лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) [4]. В отдельных сериях определяли время плавания крыс с весом 10% от массы тела и объем мочи в течение двух часов после внутривентриального введения 1 мл физиологического раствора. Животные были разделены на следующие группы: 1) крысы с нелеченым изадрин-питуитриновым инфарктом миокарда (ИПИМ); 2) крысы с ИПИМ, получавшие соединение ПВ-149 (ИПИМ+ПВ-149), 3) контрольные крысы, получавшие инъекции физиологического раствора вместо всех препаратов по тем же схемам, что и группа ИПИМ+ПВ-149 (контроль).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как в контрольной серии, так и на фоне применения исследуемого соединения выжили все крысы, которым воспроизводили ИПИМ. Все животные имели синусовый ритм, показатели ЭКГ от значений контрольной группы не отличались, поэтому в данной работе не приводятся.

Инфаркт миокарда у человека часто сопровождается развитием острой сердечной недостаточности, что проявляется застоем крови в малом и большом кругах кровообращения, отеками, в частности отеком легких, одышкой и снижением работоспособности [5]. В эксперименте мы оценивали степень острой сердечной недостаточности по длительности плавания животных (как показателю работоспособности) и количеству воды в печени и легких. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Влияние соединения ПВ-149 на течение изадрин-питуитринового инфаркта миокарда у крыс

Показатель		Контроль	ИПИМ	ИПИМ+ ПВ-149
Продолжительность плавания	Фон, мин	6,64±0,22	5,04±0,20	5,10±0,16
	Опыт, мин	8,08±0,46	3,53±0,38*	4,19±0,18*#
	Опыт, % от фона	122,5±0,1	69,2±9,4	86,1±3,1
	Опыт, % от контроля	100	56,5	70,2
Содержание воды	Печень, %	64,06±0,35	63,39±1,59	64,09±0,28
	Легкие, %	79,99±0,20	81,21±0,34*	79,83±0,26#
Клеточный состав крови				
Эритроциты, 10 ¹² /л		5,20±0,12	4,18±0,32	6,43±0,59#
Лейкоциты, 10 ⁹ /л		6,23±0,14	8,88±1,06	11,73±0,50
Юные нейтрофилы, %		0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Палочкоядерные нейтрофилы, %		0,2±0,2	1,0±0,4	0,4±0,3
Сегментоядерные нейтрофилы, %		23,2±3,2	51,4±2,7*	24,4±1,4#
Эозинофилы, %		0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Базофилы, %		0,4±0,2	0,6±0,6	0,4±0,2
Лимфоциты, %		75,8±3,5	45,8±2,1*	72,8±1,5#
Моноциты, %		1,8±0,2	1,4±0,3	1,8±0,4
Тромбоциты, 10 ¹² /л		2,83±0,2	1,35±0,16*	1,85±0,13#
Лейкоцитарный индекс интоксикации, ед		0,319±0,069	1,141±0,098**	0,339±0,025##
Ферментная активность				
АЛАТ, мкМ/мл·ч		2,36±0,24	2,03±0,18	2,14±0,38
АСАТ, мкМ/мл·ч		2,07±0,23	2,75±0,23	0,98±0,14#
Показатели коагулограммы				
Время начала свертывания (Т ₁), с		69,2±5,4	113,8±9,4**	60,0±7,3##
Время окончания свертывания (Т ₂), с		230,8±26,4	248,8±23,3	270,0±12,4
Продолжительность свертывания (Т), с		163,6±18,3	150,0±9,5	211,7±7,5#
Скорость свертывания, ед/мин	за 1 мин (V _{c1})	1,00±0,52	0,71±0,15	0,69±0,12
	за 2 мин (V _{c2})	1,17±0,52	1,32±0,19	1,68±0,16
	за 3 мин (V _{c3})	0,18±0,27	0,56±0,27	0,63±0,15
Время начала фибринолиза (Т ₃), мин		8,21±1,29	22,67±13,34	15,72±1,73
Время существования плотного сгустка (Т ₄), мин		5,41±1,13	16,91±8,27	11,22±1,87
Скорость фибринолиза (V ₁), ед/мин		0,28±0,19	0,13±0,01	0,22±0,06
Максимальная амплитуда (А _м), ед		3,31±0,24	2,74±0,26	3,10±0,12
Минимальная амплитуда (А ₀), ед		0,13±0,01	0,02±0,01	0,05±0,03
Амплитуда фибринолиза через 10 мин (А ₁), ед		1,16±0,19	1,08±0,23	1,54±0,31
Степень коагуляции (СК), %		96,74±1,30	99,25±0,21	98,61±0,99
Коагулирующая активность (КА), усл.ед.		0,44±0,05	0,39±0,03	0,37±0,02
Степень фибринолиза (СФ), %		30,35±6,64	13,80±8,60	51,22±12,77##
Фибринолитический потенциал (ФП), усл.ед.		2,20±0,59	0,49±0,32**	2,40±0,55##
Гемостатический потенциал (ГП), усл.ед.		0,071±0,022	0,277±0,190	0,045±0,015
Ингибирование фибринолиза, %		0	50	0
Агрегация тромбоцитов	Скорость агрегации в 1-ю мин, ед.экс./мин	0,014±0,001	0,011±0,002	0,001±0,000#
	Степень агрегации, ед.экс.	0,016±0,001	0,009±0,003	0,002±0,001#*

Примечание. Достоверность отличия от группы «контроль» * - p<0,05; ** - p < 0,01; достоверность отличия между группами «ИПИМ» и «ИПИМ+ПВ-149» # - p<0,05; ## - p<0,01

В контроле развитие ИПИМ сопровождалось снижением физической работоспособности животных практически в 2 раза и отеком легких (содержание воды увеличивалось на 1,5%, $p < 0,05$); отека печени не наблюдалось (следовательно, недостаточность кровообращения по большому кругу была незначительной). Развитие сердечной недостаточности подтверждается снижением диуреза в два раза. Использование вещества ПВ-149 при ИПИМ приводило к устранению отека легких; диурез животных, получавших вещество ПВ-149 на фоне ИПИМ, также соответствовал значениям здоровых животных. Работоспособность крыс на фоне лечения ИПИМ веществом ПВ-149 увеличивалась, но оставалась ниже контрольных значений.

Для оценки выраженности резорбционно-некротического синдрома при ИПИМ мы использовали данные общего анализа крови с расчетом ЛИИ по формуле крови, активность АсАТ и АлАТ. Полученные результаты приведены в таблице 1. На фоне ИПИМ не происходило изменения количества эритроцитов, но наблюдался ряд изменений в формуле крови - умеренный лейкоцитоз, нейтрофилез со сдвигом формулы влево, относительная лимфоцитопения; соответственно, значительно возрастал ЛИИ (360 % от нормы).

На фоне применения вещества ПВ-149 количество эритроцитов при ИПИМ превышало значения у нелеченных животных (154% по сравнению с интактной группой, $p < 0,05$), но от контрольных значений достоверно не отличалось. Количество лейкоцитов также возрастало (149% от группы с ИПИМ, $p < 0,05$), что может быть также следствием как сгущением крови, так и выброса лейкоцитов из депо и течения ИПИМ по гиперергическому типу. Однако, лейкоцитарная формула соответствовала таковой у интактных животных, также как и ЛИИ.

Изучение уровня активности аминотрансфераз при ИПИМ показало, что концентрация АлАТ на фоне ИПИМ не меняется, а концентрация АсАТ возрастает на 33%. Эти данные подтверждают наличие цитолиза при ИПИМ, протекающего в миокарде. Применение соединения ПВ-149 достоверно снижало количество АсАТ, что подтверждает уменьшение цитолиза под действием исследуемого вещества.

Очень важными при инфаркте миокарда в клинике являются изменения в системе гемостаза, которая складывается из контроля трех звеньев – агрегации, коагуляции и фибринолиза.

При моделировании ИПИМ наблюдается увеличение времени начала свертывания в 2 раза ($p < 0,05$), в 2,3 раза возрастает время начала фибринолиза, причем в 50% наблюдений фибринолиз не идет. Фибринолитический потенциал, таким образом,

снижается в 4,5 раза ($p < 0,01$), а степень фибринолиза - в 2 раза. В 3,5 раза возрастает гемостатический потенциал, в 2,5 раза - время существования плотного сгустка. Имеется тенденция к снижению коагулирующей активности крови (на 15 %).

При применении вещества ПВ-149 на фоне ИПИМ наблюдалась нормализация времени начала свертывания, а продолжительность свертывания возрастала в 1,5 раза по сравнению с ИПИМ. Случаев ингибирования фибринолиза не наблюдалось, время начала фибринолиза было приближено к норме. Гемостатический потенциал снижался по сравнению с нелечеными животными в 6 раз, фибринолитический потенциал увеличивался в 5 раз ($p < 0,01$), степень фибринолиза в 3 раза ($p < 0,01$), коагулирующая активность снижалась по сравнению с нормой на 18%. Таким образом, соединение ПВ-149 интенсифицирует фибринолиз при ИПИМ, одновременно нормализуя действие гуморальных факторов свертывания.

При определении количества тромбоцитов при ИПИМ было обнаружено его снижение до 47,7% от нормы ($p < 0,05$) при одновременном уменьшении скорости и степени их агрегации (56,6% контрольных значений, $p < 0,05$). На фоне использования вещества ПВ-149 при ИПИМ степень агрегации тромбоцитов была достоверно ниже значений, полученных для нелеченного ИПИМ, в 4 раза; одновременно снижалась скорость агрегации тромбоцитов.

Таким образом, как следует из приведенных данных, введение соединения ПВ-149 крысам с развивающимся ИПИМ приводит к уменьшению повреждения миокарда (что подтверждается уменьшением активности АсАТ) и соответственно снижением степени сердечной недостаточности (что подтверждается устранением отека легких, нормализацией диуреза и работоспособности животных). Одним из механизмов защитного действия соединения, по-видимому, является влияние соединения на процессы регуляции свертывания крови. Так, при ИПИМ наблюдалось снижение интенсивности 1 фазы свертывания с умеренным увеличением коагулирующей активности крови и резкое снижение активности фибринолиза. Возможно, это являлось следствием дефицита факторов свертывания и фибринолиза, израсходованных при образовании тромбов на ранних стадиях ИПИМ. Использование соединения ПВ-149 у крыс с ИПИМ приводило к нормализации 1 фазы свертывания и активировало процессы фибринолиза.

Представляются интересными изменения в клеточном составе крови у крыс с ИПИМ. Так, у крыс без лечения наблюдались стандартные изменения для данной патологии – лейкоцитоз, нейтрофилез со сдвигом влево, с соответствующим изменением ЛИИ. Количество эритроцитов не менялось, а количество тромбо-

цитов снижалось ниже значений контроля. Столь резкое снижение числа тромбоцитов в сочетании с наблюдаемым уменьшением степени их агрегации при ИПИМ может быть связано с тем, что во время развития инфаркта происходит образование тромбов во всем микрососудистом русле миокарда. При этом расходуется значительная часть наиболее “липких”, агрегационноспособных тромбоцитов, что приводит к развитию тромбоцитопении потребления.

На фоне назначения крысам с ИПИМ соединения ПВ-149 происходит увеличение количества эритроцитов. Данные изменения могут быть связаны как со сгущением крови, так и с выбросом эритроцитов из депо под действием соединения. Одновременно происходит увеличение количества лейкоцитов на фоне применения вещества ПВ-149. С одной стороны, лейкоцитоз иногда рассматривают как критерий тяжести течения инфаркта миокарда, с другой стороны, известно, что степень тяжести ИМ коррелирует с количеством нейтрофилов [1], так как нейтрофилез при ИМ связан с резорбцией некротических тканей. Следовательно, применение вещества ПВ-149 уменьшало некроз миокарда, так как на его фоне у крыс с ИПИМ не происходило изменений лейкоцитарной формулы, несмотря на увеличение общего числа лейкоцитов в единице объема крови. Следует отметить, что возрастание количества лейкоцитов на фоне введения соединения ПВ-149 нельзя рассматривать как отрицательный момент: лейкоциты являются основным продуцентом плазминогена [7]. Таким образом, именно увеличение числа лейкоцитов на фоне применения вещества ПВ-149 может приводить к уже отмеченному усилению процессов фибринолиза.

Отсутствие изменений количества тромбоцитов на фоне лечения ИПИМ исследуемым соединением подтверждает меньшую степень тромбообразования и повреждения сердца и может быть следствием защит-

ного действия вещества. Вместе с тем, снижение агрегации тромбоцитов, наблюдавшееся как компенсаторная реакция при ИПИМ, сохранялось при применении соединения ПВ-149: уменьшение общего изменения экстинкции было достоверно ниже значений, полученных для нелеченного ИПИМ, в 4 раза. Таким образом, применение вещества ПВ-149 приводило к снижению агрегационных свойств тромбоцитов, что понижает вязкость крови и может служить причиной защитного эффекта соединения при ИПИМ.

ВЫВОДЫ

Вещество ПВ-149 способно ограничивать повреждение сердца при изадрин-питуитриновом инфаркте миокарда у крыс. Одним из механизмов защитного действия данного вещества является нормализация процессов регуляции агрегантного состояния крови, в частности, антиагрегантное и профибринолитическое действие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Международное руководство по инфаркту миокарда (*Под ред. Р.В.Ф.Кэмбелла*) - М., 1997.- 87 с.
2. *Мусин М.Н.* Фармакологическое изучение противоаритмических свойств нового класса соединений – 1,2-замещенных пирролов: Автореф....д.м.н. – Москва, 1993. – 57 с.
3. *Резников К.М., Леонов А.Н., Китаева Р.И. и др.* //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1985. – Т. ХСІС, N5. – С.532-534.
4. *Рейс Б.А., Чернышев А.К., Никонов В.М. и др.* // Вестник хирургии. – 1983. - N 6. – С. 53-55.
5. *Сыркин А.Л.* Инфаркт миокарда. – М., Медицинское информационное агентство, 1998. - 398 с.
6. *Missouris C.G., Kalaitzidis R.G., Parchure N. et al.* //Eur. J. Intern. Med.. 2001. - Dec;12(6):490-495. *Moir E., Booth N.A., Bennett B., Robbie L.A.* //Br J Haematol. - 2001 Apr;113(1):72-80