

УДК 612.354.1:615.917.615.015.12

ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНЫЕ И КАРДИОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЭНДОТОКСИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ МОДЕЛИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

Рагулина В.А.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск,
e-mail: wvas@mail.ru

Для коррекции состояний, сопровождающихся эндотелиальной дисфункцией, перспективными считаются препараты, обладающие антиоксидантной активностью. В результате многолетних исследований было создано несколько оригинальных отечественных препаратов на основе 3-гидроксипиридина, активно используемых в клинической практике (эмоксипин, мексидол, этоксидол). Целью работы стало установление эндотелиопротективных и кардиопротективных эффектов некоторых производных 3-гидроксипиридина в условиях эндотоксин-индуцированной модели эндотелиальной дисфункции. Эксперименты проведены на крысах Вистар. Производные 3-гидроксипиридина (препараты: мексидол (2-метил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат) и этоксидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина малат), соединение бета-гидроксицианидина 2-метил-3-гидрокси-4-формил-5-оксиметилпиридина дигидрохлорид – ПОНКП) вводили пятикратно, через 24 часа, внутривенно: мексидол и этоксидол по 50 мг/кг, ПОНКП по 35 мг/кг сразу после моделирования эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункции. Установлено, что по выраженности эндотелио- и кардиопротективных свойств исследованные производные 3-гидроксипиридина в условиях эндотоксин-индуцированной модели эндотелиальной дисфункции располагаются в следующем порядке: этоксидол = соединение ПОНКП → мексидол.

Ключевые слова: эндотоксин-индуцированная модель эндотелиальной дисфункции, производные 3-гидроксипиридина

ENDOTHELIOPROTECTIVE AND CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF SOME DERIVATIVES OF 3-HYDROXYPYRIDINE WHEN MODELING ENDOTOXIN-INDUCED MODEL OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

Ragulina V.A.

Kursk state medical university, Kursk, e-mail: wvas@mail.ru

For the correction of conditions accompanied by endothelial dysfunction, are considered to be promising drugs with antioxidant activity. As a result of many years of research has created several original domestic drugs on the basis of 3-hydroxypyridine, which are widely used in clinical practice (Emoxipin, Mexidol, Etoxidol). The aim of this work was to establish endothelioprotective and cardioprotective effects of some derivatives of 3-hydroxypyridine in the conditions of endotoxin-induced model of endothelial dysfunction. The experiments were performed on Wistar rats. Derivatives of 3-hydroxypyridine (drugs: Mexidol (2-methyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate) and etoxidol (2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine malate), connection beta hydroxycyanine 2-methyl-3-hydroxy-4-formyl-5-oximetildiazoni dihydrochloride – PANCHP) injected five times / 24 hours intraperitoneally: Mexidol and Emoxidal 50 mg/kg, PANCHP 35 mg/kg immediately after modeling endotoxin-induced endothelial dysfunction. Found that the severity of endothelio- and cardioprotective properties of the investigated derivatives 3-hydroxypyridine in the conditions of endotoxin-induced model of endothelial dysfunction are in the following order: Etoxidal = connection PANCHP → Mexidol.

Keywords: endotoxin-induced model of endothelial dysfunction, derivative of 3-hydroxypyridines

Эндотелий-зависимая регуляция сосудистого тонуса обеспечивает адекватное кровоснабжение отдельных органов и тканей при повышении их функциональной активности, предотвращает чрезмерные сократительные реакции и вазоспазмы, в чем важная роль принадлежит оксиду азота. Антikonстрикторная роль эндотелия способствует формированию общего периферического сопротивления сосудов и нормального уровня артериального давления [1-3].

В этой связи, для коррекции состояний, сопровождающихся эндотелиальной дисфункцией, перспективными считают-

ся препараты, обладающие антиоксидантной активностью. В результате многолетних исследований было создано несколько оригинальных отечественных препаратов на основе 3-гидроксипиридина, активно используемых в клинической практике (эмоксипин, мексидол, этаксидол) [4-6]. В тоже время препараты и соединения данной группы мало изучены в отношении коррекции развития эндотелиальной дисфункции.

Цель исследования: установление эндотелиопротективных и кардиопротективных эффектов производных 3-гидроксипиридина в условиях эндотоксин-ин-

дуцированной модели эндотелиальной дисфункции (ЭИЭД).

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на 140 здоровых половозрелых крысах-самцах Вистар, массой 170-200 г. В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария Курского государственного медицинского университета и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Все исследования проводили в одно и то же время суток, с 8 до 12 ч, с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986) и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.).

Производные 3-гидроксипиридина (препараты мексидол (2-метил-6-метил-3-гидроксипиридина сукциналит) и этоксидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина малат), соединение бета-гидрокси-никотиноилгидразон 2-метил-3-гидрокси-4-формил-5-оксиметилпиридина дигидрохлорид – ПОНКГП) вводили пятикратно, через 24 часа, внутривенно: мексидол и этоксидол по 50 мг/кг, ПОНКГП по 35 мг/кг. Препараты вводили согласно рекомендациям «Регистра лекарственных средств России» (2010) и инструкциям по их применению, доза ПОНКГП соответствовала рекомендациям авторов патента на соединение [7].

При моделировании ЭИЭД [5, 8] крыс фиксировали и при соблюдении правил асептики и антисептики, под наркозом выбривали шерсть, подкожно вводили 0,1 мл свежей взвеси *Staphylococcus aureus* (штамм 603 музея кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии Курского государственного медицинского университета) в концентрации $10 \cdot 10^9$ /мл. В дальней-

шем, ежедневно проводили компрессионный, пневматический массаж места инъекции в течение 10 минут. После проведения функциональных проб, на 6 сутки от моделирования патологического процесса, под наркозом осуществляли торакотомию, затем забор крови в объеме 5 мл из правого желудочка сокращающегося сердца. Производные 3-гидроксипиридина начинали вводить со дня моделирования ЭИЭД. Кровь подвергали бактериоскопическому и бактериологическому исследованию.

Развитие ЭИЭД у экспериментальных животных, оценивали по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД) [9]. Нами исследовались показатели кардиогемодинамики (левожелудочковое давление (ЛЖД), максимальную скорость сокращения ($+ dp/dt_{max}$), максимальную скорость расслабления ($- dp/dt_{max}$), частоту сердечных сокращений (ЧСС) и интенсивность функционирования структур (ИФС) (произведение частоты сердечных сокращений и давления, развиваемого левым желудочком (мм рт. ст. x уд. мин) [10].

Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных проводили нагрузочные пробы в представленной последовательности: проба на адренореактивность, нагрузка сопротивлением и 3-х минутную гипоксию с последующей реоксигенацией.

Достоверность наблюдавшихся при действии исследованных препаратов изменений параметров как абсолютных, так и в приростах от исходного уровня определяли разностным методом описательной статистики с нахождением средних значений сдвигов (M), средней ошибки средней арифметической ($\pm m$) и вероятности возможной ошибки (p), рассчитанной с использованием t-test для групп с различной дисперсией. Различия оценивали как достоверные, при $p < 0,05$. Для расчётов использовали программу для статистического анализа Microsoft Excel 7.0.

Таблица 1

Влияние производных 3-гидроксипиридина на коэффициент эндотелиальной дисфункции при моделировании ЭИЭД ($M \pm m$)

| Группы животных | Функциональная проба | САД | ДАД | S | КЭД |
|--------------------|----------------------|---------------|---------------|------------------|-------------|
| Интактные | Исходные | 135,1 ± 3,5 | 102,2 ± 4,7 | | 1,1 ± 0,1 |
| | АХ | 83,9 ± 4,4 | 37,9 ± 2,7 | 1234,2 ± 88,2 | |
| | НП | 82,9 ± 3,8 | 42,6 ± 4,5 | 1364,8 ± 96,4 | |
| Сепсис | Исходные | 152,3 ± 5,7* | 126,2 ± 5,1* | | 2,2 ± 0,3* |
| | АХ | 102,3 ± 4,5* | 78,6 ± 6,2* | 636,7 ± 52,3* | |
| | НП | 86,6 ± 4,8 | 59,8 ± 3,9* | 1569,5 ± 126* | |
| Сепсис + Мексидол | Исходные | 142,3 ± 9,1 | 129,2 ± 4,8* | | 1,8 ± 0,2** |
| | АХ | 82,1 ± 2,5 | 51,1 ± 4,9 | 1236,7 ± 145,1** | |
| | НП | 76,8 ± 5,0 | 52,3 ± 4,6 | 2036,4 ± 263,3* | |
| Сепсис + Этоксидол | Исходные | 135,6 ± 6,8 | 109,6 ± 11,9 | | 1,2 ± 0,2** |
| | АХ | 88,6 ± 5,6 | 56,7 ± 4,5 | 1367,8 ± 108,9** | |
| | НП | 103,8 ± 5,4 | 53,2 ± 4,7 | 1675,3 ± 98,7 | |
| Сепсис + ПОНКГП | Исходные | 136,7 ± 9,3** | 102,6 ± 7,9** | | 1,2 ± 0,1** |
| | АХ | 66,7 ± 4,6* | 46,7 ± 3,6 | 1356,3 ± 86,7** | |
| | НП | 88,7 ± 5,2 | 52,4 ± 3,2 | 1469,3 ± 88,6 | |

Примечание. * – $p < 0,05$ – в сравнении с интактными животными, ** – $p < 0,05$ – в сравнении с моделью ЭИЭД, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, S – площадь над кривой восстановления артериального давления при проведении фармакологических проб, КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции.

Таблица 2

Влияние производных 3-гидроксипиридина на показатели сократимости левого желудочка сердца крыс при моделировании ЭИЭД ($M \pm m$)

| Группы животных | ЛЖД | +dp/dtmax | -dp/dtmax | ЧСС |
|--------------------|---------------|--------------|----------------|------------|
| Интактные | 107,3 ± 5,9 | 6302 ± 689 | - 3926 ± 378 | 388 ± 16 |
| Сепсис | 146,5 ± 7,5* | 8563 ± 726* | - 4698 ± 319* | 436 ± 13* |
| Сепсис + Мексидол | 126,1 ± 8,5** | 6035 ± 475** | 4023 ± 247** | 402 ± 11 |
| Сепсис + Этоксидол | 121,7 ± 8,1** | 7269 ± 487** | - 4147 ± 224** | 368 ± 18** |
| Сепсис + ПОНКГП | 114,8 ± 9,4** | 6138 ± 569** | - 4136 ± 369** | 396 ± 15 |

Примечание. * – $p < 0,05$ – в сравнении с интактными, ** – $p < 0,05$ – в сравнении с моделью ЭИЭД, ЛЖД – левожелудочковое давление, +dp/dtmax – максимальная скорость нарастания левожелудочкового давления, dp/dtmax – максимальная скорость снижения левожелудочкового давления, ЧСС – частота сердечных сокращений.

Таблица 3

Влияние производных 3-гидроксипиридина на функциональные возможности миокарда крыс при проведении нагрузочных проб на фоне моделирования ЭИЭД ($M \pm m$)

| Группа животных | Адренореактивность (ЛЖД, мм рт. ст.) | Исчерпание миокардиального резерва (%) |
|------------------|--------------------------------------|--|
| Интактные | 189,9 ± 8,1 | 82,9 ± 2,2 |
| ЭИЭД | 212,1 ± 6,2* | 66,9 ± 3,4* |
| ЭИЭД + Мексидол | 209,9 ± 6,2** | 78,4 ± 3,9** |
| ЭИЭД + Этоксидол | 202,1 ± 8,8** | 75,1 ± 4,2** |
| ЭИЭД + ПОНКГП | 179,8 ± 12,1** | 71,8 ± 5,1** |

Примечание. * – $p < 0,05$ – в сравнении с интактными, ** – $p < 0,05$ – в сравнении с моделью ЭИЭД.

Результаты исследования и их обсуждение

Нами оценивалось влияние мексидола, этоксидола и ПОНКГП на систолическое АД и диастолическое АД в условиях ЭИЭД. Обнаружено, что в этих условиях повышается АД как за счет САД, так и ДАД. Изученные производные 3-гидроксипиридина снижали АД, однако целевой уровень АД достигался только при использовании этоксидола и ПОНКГП, так как ДАД после применения мексидола осталось выше значений интактных животных (табл. 1).

Результаты функциональных проб на эндотелийзависимое и эндотелийнезависимое расслабление сосудов у животных с эндотоксин-индуцированной патологией на фоне лечения мексидолом, этоксидолом и ПОНКГП позволили установить, что при введении мексидола крысам с ЭИЭД изменений САД и ДАД в пробах с АХ и НП не происходило, но имело место восстановление до нормы площади треугольника над кривой восстановления АД в пробе с АХ и повышение – в пробе с НП. КЭД в группе ЭИЭД, получавшей мексидол, по сравнению с крысами, не получавшими препараты, соответственно снижался с $2,2 \pm 0,3$ до $1,8 \pm 0,2$. В группах животных, получавших

этоксидол или ПОНКГП отмечалось снижение площадей треугольников восстановления АД в пробах с АХ и НП до нормы. В этой связи в этих группах животных с ЭИЭД происходила нормализация КЭД (табл. 1).

При переводе животных на управляемое дыхание обнаружено, что исходные показатели сократимости левого желудочка (ЛЖД) у животных с ЭИЭД дисфункции на фоне введения ПОНКГП, этоксидола, мексидола, достоверно оказались меньше, чем в контрольной группе. Наиболее выраженное гиподинамическое действие оказывали этоксидол и ПОНКГП, т.к. значения ЛЖД при их использовании не отличались от группы интактных животных (табл. 2).

При использовании нагрузочных проб у животных с ЭИЭД, получавших различные соединения 3-гидроксипиридина установлено, что использование этоксидола и ПОНКГП полностью предотвращало повышение адренореактивности у животных с ЭИЭД, введение мексидола не снижало абсолютные цифры ЛЖД на пробе с введением адреналина (табл. 3).

При проведении пробы на нагрузку с сопротивлением значение прироста ЛЖД к 25 секунде пережатия восходящей аорты

в группе с моделированием ЭИЭД составило 66,9% по отношению к 5-й секунде, тогда как у интактных животных 82,9%, в группе животных, получавших дополнительно мексидол – 78,4%, этоксидол – 75,1%, а в группе с ПОНКГП – 71,8% (табл. 3).

Результаты исследования функционального состояния миокарда при проведении нагрузочных проб выявили отчетливое кардиопротективное действие производных 3-гидроксипиридина, выражающееся в предотвращении увеличения адренореактивности, снижения ЛЖД (за исключением мексидола) и повышения миокардиального резерва при проведении пробы на нагрузку сопротивлением по сравнению с животными у которых моделировали ЭИЭД. Таким образом, по выраженности эндотелио- и кардиопротективных свойств исследованные производные 3-гидроксипиридина в условиях моделирования ЭИЭД располагаются в следующем порядке: этоксидол = соединение ПОНКГП → мексидол.

Результаты проведенных нами экспериментов свидетельствуют о том, что исследуемые производные 3-гидроксипиридина (особенно этоксидол и ПОНКГП) с антиоксидантной направленностью действия обладают выраженным эффектом в отношении восстановления регуляторной функции эндотелия и способствуют восстановлению активности eNOS. Более того, так как восстановление NO-продуцирующей функции эндотелия на фоне введения антиоксидантов сопровождалось улучшением ЭЗВД, можно считать, что это связано с увеличением биодоступности NO, поскольку антиоксиданты, уменьшая окислительный стресс, препятствуют деградации оксида азота [11-16].

Список литературы

1. Гайнуллина Д.К., Кирюхина О.О., Тарасова О.С. Оксид азота в эндотелии сосудов: регуляция продукции и механизмы действия // Успехи физиологических наук. – 2013. – Т. 44, № 4. – С. 88–102.
2. Горожанская Э.Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях (лекция) // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 6. – С. 28–44.
3. Марков Х.М. Оксидантный стресс и дисфункция эндотелия // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2005. – № 4. – С. 5–9.
4. Ивлицкая И.Л., Покровский М.В., Провоторов В.Я., Покровская Т.Г. Иммуномодулирующие, эндотелио- и кардиопротективные эффекты статинов и L-норвалина в условиях эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункции // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17, № 4. – С. 377–378.
5. Черноморцева Е.С., Цепелев В.Ю., Покровская Т.Г. и др. Применение макролидного антибиотика азитромицина для коррекции эндотелиальной дисфункции в эксперименте // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 4 (109). – С. 155–159.
6. Яснецов В.В., Цублова Е.Г., Яснецов Вик. В. И др. Исследование некоторых фармакологических свойств нового производного 3-гидроксипиридина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2016. – Т. 79, № 2. – С. 3–8.
7. Авдеева Е.В., Сернов Л.Н., Кесарев О.Г., Конопля А.И. Бета-гидроксиникотиноилгидразон 2-метил-3-гидрокси-4-формил-5-оксиметилпиридина дигидрохлорид, проявляющий антиоксидантную, гепатопротекторную и иммуномодулирующую активность // Патент России № 2304142.2009. Бюл. № 34.
8. Мерзвинский И.А. Роль лимфатической системы в патогенезе и лечении сепсиса: дис. ... докт. мед. наук. – М., 2002. – С. 24–58.
9. Покровская Т.Г., Кочкаров В.И., Покровский М.В. и др. Принципы фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции // Кубанский научный медицинский вестник. – 2007. – № 1-2 (94-95). – С. 146–150.
10. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека // Лабораторная медицина. – 2005. – № 7. – С. 19–24.
11. Аточина-Вассерман Е.Н., Абрамова Е.В., Томер Я. и др. SP-D-зависимая регуляция метаболизма NO в перитонеальных макрофагах, стимулированных липополисахаридами // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – № 4. – С. 395–400.
12. Yuan J., Chen M., Zhao M.H. Complement in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis // Clin Exp Nephrol. – 2013. – Vol. 17, № 5. – P. 642–645.
13. Rahman S.H., A phenomenal response to treatment by an advanced tumour / A. Roy, M. Leahy, P.J. Guillou, G.J. Toogood // Gut. – 2004. – Vol. 53, № 11. – P. 1582–1616.
14. Поройский С.В., Воронков А.В., Тюренков И.Н. и др. Эндотелиальная дисфункция в хирургии – современный взгляд на проблему // Вестник ВолГМУ. – 2011. – Вып. 3(39). – С. 13–17.
15. C. Zhang, X. Xu, B.J. Potter et al. TNF-alpha contributes to endothelial dysfunction in ischemia/reperfusion injury // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2006, Vol. 26, № 3. – P. 475–480.
16. Трегубова И.А., Косолапов В.А., Спасов А.А. Антиоксиданты: современное состояние и перспективы // Успехи физиологических наук. – 2012 – Т. 43, № 1. – С. 75–94.