

Лечение рецидивирующего инфаркта миокарда в эксперименте

П. А. Сарапульцев, О. Н. Чупахин, А. Н. Дмитриев, М. А. Ранцев, А. П. Сарапульцев
Институт Иммунологии и Физиологии Уро РАН; Института Органического синтеза Уро РАН; ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава

Резюме

Целью работы явилась разработка новых подходов к лечению рецидивирующего инфаркта миокарда, что проявилось в изучении энзимологических особенностей инфарцированного миокарда и их динамики под влиянием препарата из группы тиаминов.

Ключевые слова: рецидивирующий инфаркт миокарда, тиамины.

В настоящее время в мире основной причиной смерти являются болезни системы кровообращения (БСК), которые в 2004 г. стали причиной 1,29 млн. смертей, что составляет 56,1% от общего числа умерших. [1-3]. При этом в 2004 г. ишемическая болезнь сердца (ИБС) явилась причиной смерти 614 тыс. россиян (110 тыс. умерли в работоспособном возрасте), в том числе от инфаркта миокарда (ИМ) умерли — 62,8 тыс. человек (14,4 тыс. умерли в работоспособном возрасте) [3]. Несмотря на постепенное снижение частоты развития острого ИМ и постинфарктной смертности, инфаркт миокарда до сих пор остается основной причиной смертности [1-3] за счет внезапной остановки сердца, сердечной недостаточности, рецидивирующего и повторного инфаркта [4-8].

В Рекомендациях рабочей группы Американской кардиологической ассоциации (2005-2007), Европейского Кардиологического общества (2000), и в основывающихся на них Российских Рекомендациях (2001), лечение развившегося ИМ базируется на использовании бета-блокаторов, нитратов, антагонистов кальция и антитромбоцитарных агентов (аспирин, тиенопиридины, блокаторы гликопротеиновых IIb/IIIa рецепторов тромбоцитов)

[10-13]. В то же время, наличие доступных лекарственных препаратов, обладающих доказанной эффективностью в улучшении прогноза больных, перенесших инфаркт миокарда, главным образом за счет профилактики рецидивов инфаркта миокарда и внезапной смерти, представляет огромный практический интерес [14].

В значительной степени всем требованиям современного подхода к лечению и профилактике рецидивов ИМ отвечает «соединение 117» из группы тиаминов, разработанное НИИ биохимического синтеза УРО РАН и обладающее антикоагулянтными, дезагрегантными свойствами, отрицательным инотропным и хронотропным эффектом, как у антагонистов кальция и бета-блокаторов, вазодилатационным эффектом, как у нитратов, и даже антиаритмическим действием в зоне атриовентрикулярного соединения, обеспечивающим ликвидацию 90% суправентрикулярных нарушений ритма [15]. В связи с этим изучение влияния «соединения 117» на течение инфаркта миокарда представляет несомненный интерес, что и определило цель настоящего исследования, каковой явилось изучение энзимологических особенностей инфарцированного миокарда и их динамики под влиянием «соединения 117».

Материалы, методы исследования инфаркта миокарда в эксперименте на белых беспородных крысах. Создание экспериментальной модели инфаркта миокарда

Отработка создания модели ИМ проведена на беспородных белых крысах со средней массой тела 230 ± 15 г.

Обезболивание животного с исключением сознания достигалось путем ингаляции воздуш-

- П. А. Сарапульцев — д. м. н., профессор, гл. научн. сотр. Института Иммунологии и Физиологии Уро РАН;
О. Н. Чупахин — акад. РАН, д. т. н., зам. директора Института Органического синтеза Уро РАН;
А. Н. Дмитриев — к. м. н. доцент кафедры внутренних болезней №1 ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава,
М. А. Ранцев — к. м. н., доцент кафедры общей хирургии ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава;
А. П. Сарапульцев — млад. научн. сотр. Института Иммунологии и Физиологии Уро РАН.

но-эфирной смеси масочным способом. Дозировка эфира подбиралась индивидуально, в соответствии с массой тела животного. Ингаляция воздушно-эфирной смеси производилась в течение 1-3 минут, в зависимости от массы тела животного. Глубина наркоза соответствовала 3.1-3.2 стадии.

Обработка операционного поля заключалась в сбривании волосяного покрова с последующей обработкой кожного покрова препаратом «Экобриз». Доступ к плевральной полости достигался путем торакотомии, с минимальным рассечением мышц грудной клетки. Интраоперационная кровопотеря практически отсутствовала.

После доступа в плевральную полость осуществлялось воздействие на переднюю нисходящую ветвь коронарной артерии сердца с визуализацией зоны инфарктирования. После этого производилось ушивание операционной торакотомной раны послойно аграмматическим шовным материалом. В течение 10 минут после операции животные полностью выходили на уровень предоперационного состояния по поведенческим реакциям. Летальности зарегистрировано не было.

При оценке поведения животных через 24 часа никаких особенностей поведенческих реакций выявлено не было: животные были активны, без задержки реагировали на светозвуковое раздражение, хорошо ели и пили.

Методика исследования

После отработки экспериментальной модели ИМ выполнено моделирование процесса на 30 интактных беспородных белых крысах мужского пола. Все крысы находились в отдельных клетках. Предоперационное обезболивание производилось по описанной выше методике путем ингаляции воздушно-эфирной смеси. Операционное поле сбривалось и обрабатывалось препаратом «Экобриз». Интраоперационной летальности в ходе создания модели инфаркта миокарда зарегистрировано не было.

Вывод животных из эксперимента проводился путем декапитации после предварительного их погружения в состояние наркотического сна.

Из животных с экспериментальной моделью инфаркта миокарда было сформировано 2 группы по 15 особей: основная группа (группа А) — из белых крыс со средней массой тела 248 ± 10 граммов, ежесуточно получавших препарат «117» интраперитонеально (без обезболивания) в дозировке 40 мг/кг. и контрольная группа (В) — из животных со средней массой 241 ± 12 граммов, которым интраперитонеально вводился физиологический раствор хлорида натрия.

Вывод животных из эксперимента проводился на 1, 5 и 7 сутки. Забор органов для последующего гистоморфологического исследования проводился с фиксацией материала в формалине. Кровь для биохимического исследования забиралась путем пунктирования сердца в объеме 3 мл с последующим центрифугированием и отделением сыворотки.

Миокард, помимо визуальной оценки, исследовался светооптически в зоне некроза, в околинфарктной и удаленной от повреждения зонах левого желудочка. Материал, забранный для светооптической микроскопии и морфометрии, фиксировался в нейтральном формалине, микропрепараты из ткани миокарда окрашивались гематоксилин-эозином.

У всех животных, помимо общего анализа крови, исследовалась сывороточная активность креатинкиназы (КФК), аспаратаминотрансферазы (АСТ), изоферментов 1 и 2 лактатдегидрогеназы (1-2₁) перед развитием ИМ и в динамике процесса (через 1, 5 и 7 суток).

Лабораторные исследования крови проводились на следующих аппаратах и диагностических системах:

1. Биохимический анализатор «Immunochemistry Systems» фирмы «Beckman Coulter» (США).
2. Диагностические системы фирмы «DSL» (США).
3. Спектрофотометр «Multiscan» фирмы «Labsystems» (Финляндия).
4. Автоматический анализатор «Glycomat DS5» фирмы «Drew» (США).

Результаты исследования

Переносимость животными «соединения 117» оценивалась как вполне удовлетворительная: ни в одном случае не было выявлено болевых реакций и некробиотических изменений в месте инъекции, нагноения операционной раны и эмпиемы плевры, и лишь через 20-30 минут после инъекции препарата была отмечена заторможенность животных со снижением реакции на светозвуковые раздражители, длившаяся 40-45 минут, после чего в поведении животных не было выявлено отличий от интактных особей. Симптомов дыхательной недостаточности, нарушения питания и потребления жидкости также отмечено не было.

Во всех случаях макроскопически отмечено наличие четко различимой инфарктированной зоны миокарда, при этом изменений в легких и выпота в плевральной полости не отмечалось; макроскопически видимых изменений в органах брюшной полости (печень, селезенка, петли кишечника) и других тканях также отмечено не было.

Таблица Влияние соединения «117» на биохимические показатели крови ($M \pm m$) в динамике развития экспериментального инфаркта миокарда

Показатели	Инт. крысы (n = 4)	Животные с экспериментальным инфарктом миокарда					
		1-е сутки ИМ		5 сутки ИМ		7 сутки ИМ	
		не леченн. группа В (n = 5)	соеди. «117» группа А (n = 5)	не леченн. группа В (n = 5)	соедин. «117» группа А (n = 5)	не леченн. группа В (n = 5)	соедин. «117» группа А (n = 5)
КФК (мкмоль/л-мин)	146,92±22,6	234,9±60,1	201,08±28,5	168,54±21,6*	103±12,1x	248,12±41,5*	107,64±19,9x
АСТ (мкмоль/л-сут)	0,193±0,014	0,415±0,033**	0,379±0,022 ^{xx}	0,290±0,05	0,184±0,011	0,288±0,023*	0,225±0,024
ЛДГ ₁₋₂ (мкмоль/л-сут)	165,15±34,6	515,82±60,1	403,78±38,4**	262,28±22,1	258,08±31,6	346,46±52,9*	229,74±60,6

Примечание. Достоверность различий биохимических показателей у экспериментальных и интактных животных: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$;

достоверность различий биохимических показателей у животных с экспериментальным инфарктом миокарда, получавших и не получавших препарат «117»: X — $p < 0,05$.

При гистологическом исследовании сердца животных с экспериментальной моделью ИМ зона некроза в первые сутки была представлена деструктивно измененными и некротизированными кардиомиоцитами.

В исследуемой группе с интраперитонеальным введением «соединения 117» в дозе 40 мг/кг на 1 сутки макроскопически выявлено наличие четко видимой инфарктной зоны во всех 5 случаях, при этом отмечена повышенная (в сравнении с контрольной группой) кровоточивость тканей при их рассечении. Макроскопически значимых изменений в печени, легких, почках и селезенке не выявлено. Летальности в контрольной и исследуемой группах отмечено не было.

На 5-е сутки выведены из эксперимента по 5 животных каждой группы. Поведенческих изменений, нарушения потребления пищи и воды (по сравнению со здоровыми крысами) не отмечено. Заживление раны проходило первичным натяжением во всех случаях в группе, получавшей «соединение 117» и в четырех случаях в контрольной группе. Во всех случаях (в контрольной и исследуемой группах) имелась хорошо различимая зона инфарктирования.

На 7-е сутки из эксперимента выведены оставшиеся животные (по пять крыс в каждой группе). Поведенческие реакции (потребление пищи и воды) и в этом сроке не были нарушены.

Результаты исследования активности саркоплазматических ферментов в крови показали наличие достоверных различий по каждому из исследовавшихся показателей у животных с ИМ, не получавших лечения и лечившихся «соединением 117» (таблица). При этом было отмечено, что «соединение 117» обеспечивало мень-

шую выраженность гиперферментемии уже в первые сутки ИМ, а также большую позитивность динамики процесса в последующие 7 дней наблюдения.

Так, согласно полученным результатам, у животных, леченых соединением «117» уже на первые сутки после экспериментального ИМ отмечались более низкие значения КФК (201,08±28,5 мкмоль/л в группе А 234,9±60,1 мкмоль/л в группе В), АСТ (0,379±0,022 мкмоль/л-сут в группе А против 0,415±0,033 мкмоль/л-сут в группе В) и ЛДГ₁₋₂ (403,78±38,4 мкмоль/л-сут в группе А против 515,82±60,1 мкмоль/л-сут в группе В), причем для АСТ разница носила статистически достоверный характер.

На пятые сутки после экспериментального ИМ, отмечалось сохранение опережающей динамики снижения уровня ферментов в крови животных группы А (леченных соединением «117»), при этом наибольшее снижение наблюдалось для КФК (103±12,1 мкмоль/л-мин в группе А против 168,54±21,6 мкмоль/л-мин в группе В); уровень АСТ и ЛДГ₁₋₂ в группе также был ниже, чем у животных группы В. Так, уровень АСТ в группе А составлял 0,184±0,011 мкмоль/л-сут против 0,290±0,05 мкмоль/л-сут в группе В; уровень ЛДГ₁₋₂ в группе А составлял 258,08±31,6 мкмоль/л-сут в группе А против 262,28±22,1 мкмоль/л-сут в группе В.

Особый интерес представляют данные определения ферментов на седьмые сутки экспериментального инфаркта миокарда. Если в группе не леченных животных наблюдалось повторное повышение показателей КФК и ЛДГ₁₋₂, свидетельствующее об увеличении площади и глубины повреждения миокарда в условиях активного двигательного режима, то

у животных, получавших препарат «117», продолжалось снижение активности ферментов, причем различие между показателями КФК у леченных и не леченных животных являлось статистически достоверным ($p < 0,05$).

Выводы

1. Препарат «117» из группы тиаминов достоверно снижает уровень трансаминаземии при экспериментальном инфаркте миокарда.

2. Препарат «117» из группы тиаминов достоверно предотвращает рецидивирование экспериментального инфаркта миокарда по показателям КФК.

Литература

1. Российский статистический ежегодник. 2005: Стат.сб. М.: Росстат, 2006.
2. Харченко В. И., Какорина Е. П., Корякин М. В. и др. Смертность от основных болезней системы кровообращения в России (аналитический обзор официальных данных Госкомстата, Минздрава России, ВОЗ и экспертных оценок по проблеме). Российский кардиологический журнал 2005; 1(51): 5-15.
3. Heart Disease and Stroke Statistics-2008 Update: A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Circulation 2008; 117: e25-e146.
4. Vlaar P. J., Svilaas T., van der Horst I. C., et al. Cardiac death and reinfarction after 1 year in the Thrombus Aspiration during Percutaneous coronary intervention in Acute myocardial infarction Study (TAPAS): a 1-year follow-up study Lancet. 2008; 371(9628): 1915-20.
5. Bradshaw P. J., Ko D. T., Newman A. M., et al. Validity of the GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) acute coronary syndrome prediction model for six month post-discharge death in an independent data set. Heart. 2006; 92: 905-909.
6. Kuch B., Heier M., von Scheidt W., Kling B., et al. 20-year trends in clinical characteristics, therapy and short-term prognosis in acute myocardial infarction according to presenting electrocardiogram: the MONICA / KORA AMI Registry (1985-2004). J Intern Med. 2008 Apr. [Epub ahead of print]
7. Hovanesyan A., Rich M.W. Outcomes of acute myocardial infarction in nonagenarians. Am J Cardiol. 2008; 101(10): 1379-83.
8. de Araujo Gonaalves P., Ferreira J., Aguiar C., Seabra-Gomes R. TIMI, PURSUIT, and GRACE risk scores: sustained prognostic value and interaction with revascularization in NSTEMI-ACS. Eur Heart J. 2005 May; 26(9): 865-72.
9. Белоусов Д. Ю., Медников О. И. Потребность и потребление антитромбоцитарных препаратов у постинфарктных больных в РФ. Качественная Клиническая Практика 2003; 1: 60-70.
10. ACC/AHA 2007 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction): Developed in Collaboration with the American College of Emergency Physicians, the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons: Endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation and the Society for Academic Emergency Medicine Circulation 2007; 116: 803-877.
11. Gibler W. B., Cannon C. P., Blomkalns A. L., Douglas M. Char D. M., et al. Practical Implementation of the Guidelines for Unstable Angina/Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction in the Emergency Department: A Scientific Statement From the American Heart Association Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Acute Cardiac Care), Council on Cardiovascular Nursing, and Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group, in Collaboration With the Society of Chest Pain Centers Circulation, May 2005; 111: 2699-2710.
12. ACC/AHA 2007 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction): Developed in Collaboration with the American College of Emergency Physicians, the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons: Endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation and the Society for Academic Emergency Medicine. Circulation, Aug 2007; 116: 803-877.
13. Лечение острого коронарного синдрома без стойких подъемов сегмента ST на ЭКГ. Российские рекомендации. М: 2001.
14. Ахмеджанов Н. М. Доказанный путь улучшения прогноза больных после инфаркта миокарда Русский Медицинский Журнал 2005; 13(19): 1302-1305.
15. Чупахин О. Н., Сидорова Л. П., Петрова Н. М., Чарушин В. Н., Руснов В. Л., Муляр А. Г. Замещенные 5R1,R62, 3,4-тиадиазин-2 амины и содержащие их фармацевтические композиции в качестве фармакологически активных средств, обладающих антикоагулянтным и антиагрегантным действием. — Патент на изобретение № 2259371 (Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 27 августа 2005 г.).