

Сравнительная кардиопротекторная эффективность аргинина гидрохлорида и аргинина сукцината при ишемическо-реперфузионном повреждении миокарда у крыс

Белорусский государственный медицинский университет

В опытах на крысах изучали способность аргинина гидрохлорида и аргинина сукцината ослаблять ишемическо-реперфузионное повреждение миокарда. Показано, что эквивалентные дозы L-аргинина гидрохлорида и L-аргинина сукцината обладают сопоставимой кардиопротекторной эффективностью.

Ключевые слова: аргинин, сукцинат, ишемия-реперфузия, повреждение миокарда.

Dubovik B.V., Zhdanov A.A., Romanovskii D.I.

Comparative efficacy of L-arginine hydrochloride and L-arginine succinate in reducing myocardial ischemia-reperfusion injury in rats.

Protective effects of both L-arginine hydrochloride and L-arginine succinate on ischemia-reperfusion induced myocardial injury have been studied in experiments on rats. It was found that equivalent doses of L-arginine hydrochloride and L-arginine succinate tend to display similar cardioprotective efficacy.

Key words: arginine, succinate, ischemia-reperfusion, myocardial injury

Термин "кардиопротектор" обозначает лекарственное средство, устраняющее дисфункцию миокарда и предохраняющее его от необратимых изменений.

Механизмы кардиопротекторного эффекта разнообразны и включают сохранение биоэнергетических субстанций и стимуляцию их образования, тренировку ишемией (прекондиционирование), модуляцию функций ионных каналов, антиоксидантную и антирадикальную активность.

Исследования последних десятилетий в области сосудистой биологии позволили установить центральную роль оксида азота (NO) в обеспечении сосудистого гомеостаза. Недостаток NO ведет к развитию эндотелиальной дисфункции, что, в свою очередь, приводит к повышению тонуса коронарных сосудов, стимуляции хемотаксиса лейкоцитов, а также росту агрегационной и адгезивной способности тромбоцитов. При ишемии-реперфузии миокарда указанные феномены способствуют развитию синдрома "no reflow", заключающегося в прогрессивном ухудшении кровотока в тех частях миокарда, перфузия которых в момент устранения окклюзии была адекватной [5]. Поскольку единственным эндогенным источником NO в организме человека является аминокислота L-аргинин (LA), то возможности коррекции дефицита NO за счет назначения дополнительных количеств LA уделяется особое внимание [11]. Накопленные к настоящему времени экспериментально-теоретические данные касательно LA как донатора NO, нормализующего функцию эндотелия коронарных сосудов, свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований кардиопротекторных свойств LA и использования последнего для коррекции ишемическо-реперфузионного повреждения миокарда.

Сукцинат (анион янтарной кислоты) - один из интермедиатов заключительного фрагмента цикла Кребса. В ряде исследований показано позитивное влияние

сукцината на энергетический обмен ишемизированного миокарда его и устойчивость к ишемическому повреждению [1, 9].

Целью настоящего исследования явилось сравнение кардиопротекторных свойств L-аргинина гидрохлорида и L-аргинина сукцината на модели ишемическо-реперфузионного повреждения миокарда у крыс.

Материал и методы

Опыты проведены на 143 белых беспородных крысах-самцах массой 220-300 г. Ишемию длительностью 30 мин с последующей реперфузией (ИР) моделировали перевязкой левой коронарной артерии на уровне нижнего края ушка левого предсердия. Операцию выполняли под уретановым наркозом. Наличие коронароокклюзии в процессе операции подтверждалось изменением окраски миокарда и характерными признаками ишемии на ЭКГ. Исследуемые субстанции назначали интрагастрально однократно за 1 ч до моделирования ИР. L-аргинина гидрохлорид (АГ) вводили в дозах 100, 300 и 1000 мг/кг, а L- аргинина сукцинат (АС) - в дозах 110, 330 и 1100 мг/кг, содержащих то же количество аргинина, что и соответствующие дозы АГ. Контрольная группа получала 1% крахмальный гель в эквивалентном объеме.

Животных выводили из эксперимента через 24 ч после реперфузии. Величину ишемическо-реперфузионного повреждения миокарда определяли на трех последовательных поперечных срезах, выполненных на расстоянии 4, 6 и 8 мм от верхушки сердца (см рис.1). Для верификации зоны некроза использовали реакцию с нитросиним тетразолием (НСТ) с последующей компьютерной морфометрией [3]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета Statistica 6.0. Достоверность различий оценивали по критерию Манна-Уитни.

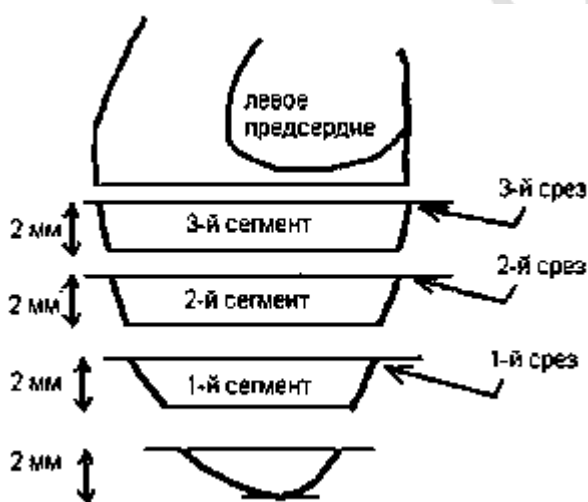


Рис.1. Схема изготовления препаратов левого желудочка и уровни сканирования. Результаты и обсуждение

В таблице представлены результаты морфометрии срезов миокарда, выполненных на различных уровнях.

Таблица

Площадь зоны некроза (в %) при ишемическо-реперфузионном повреждении миокарда у крыс, получавших АГ, АС и в контроле

Вещество	Доза, мг/кг	n	1 срез			2 срез			3 срез		
			среднее	стандартное отклонение	коэффициент вариации	среднее	стандартное отклонение	коэффициент вариации	среднее	стандартное отклонение	коэффициент вариации
плацебо		15	35,5	12,7	0,36	26,7	13,2	0,50	16,8	13,5	0,81
АГ	100	7	31,6	11,6	0,37	32,2	13,0	0,40	17,1	11,8	0,69
АС	110	12	35,1	16,9	0,48	28,4	13,9	0,49	17,7	16,6	0,94
АГ	300	6	19,9	4,3	0,22	24,6	16,0	0,65	11,5	7,3	0,63
АС	330	10	18,9	12,7	0,67	20,9	13,3	0,64	11,9	9,0	0,76
АГ	1000	7	22,3	10,4	0,46	24,6	15,1	0,62	14,8	21,9	1,48
АС	1100	10	18,6	10,5	0,56	17,9	10,4	0,58	9,8	7,8	0,79

Анализ полученных данных выявил значительную вариабельность размеров зоны некроза на уровне 2-го и 3-го срезов. В этой связи, наиболее благоприятные условия для оценки протекторной эффективности изучаемых субстанций создаются на уровне 1-го среза, где индивидуальные особенности кровоснабжении минимальны. На рис. 2 приведены данные для площади некроза на уровне 1 среза (медиана, верхний и нижний квадрили распределения, минимум, максимум)

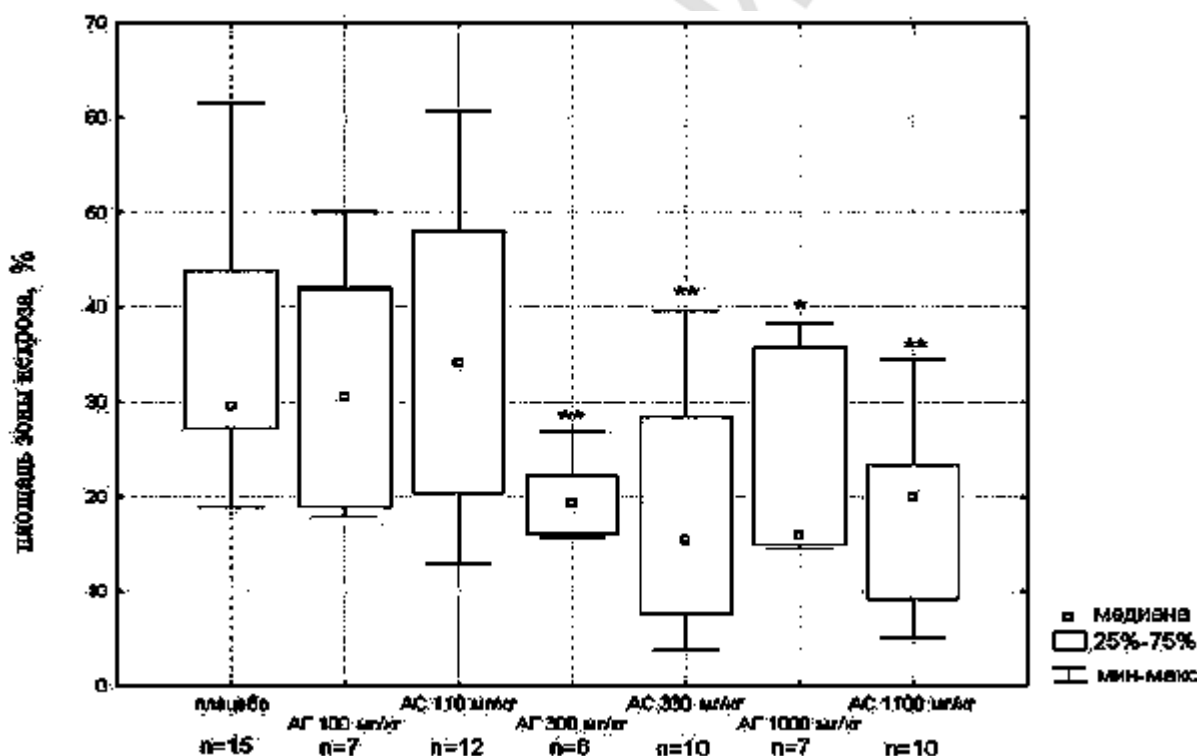


Рис. 2. Площадь зоны некроза миокарда (в %) на уровне 1 среза у крыс, получавших АГ, АС и в контроле. ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$

Как видно из рис. 2, ни АГ в дозе 100 мг/кг, ни АС в дозе 110 мг/кг не оказывали существенного влияния на размер зоны некроза. В то же время, увеличение доз АГ и АС до 300 мг/кг и 330 мг/кг приводило к развитию отчетливого ($p < 0,01$) кардиопротекторного эффекта, проявившегося как снижением медианного значения зоны некроза, так и симметричным сдвигом верхнего и нижнего квадрилей распределения в сторону уменьшения. Дальнейшее увеличение доз АС и АГ до 1000 мг/кг и 1100 мг/кг соответственно не приводило к усилению кардиопротекторного эффекта. При этом не наблюдалось достоверных отличий в величине зоны инфаркта

между группами, получавшими эквивалентные по содержанию аргинина дозы АГ и АС.

По современным представлениям, защитное действие LA при ишемическо-реперфузионном повреждении реализуется через систему LA - NO. LA является единственным эндогенным источником NO - молекулы, играющей ключевую роль в обеспечении сосудистого гомеостаза. Так, NO обладает мощным вазодилаторным потенциалом, а баланс между NO, с одной стороны, и различными, выделяемыми эндотелием сосудов, вазоконстрикторами и активностью симпатической нервной системы с другой, определяет тонус сосудов. Кроме того, NO, обладая антиагрегационным действием, подавляет экспрессию молекул адгезии и хемотаксис лейкоцитов [10].

В условиях окислительного стресса при ишемии-реперфузии не только нарастает содержание антагонистических NO факторов, но и усиливается инактивация NO, что приводит к формированию как относительной, так и абсолютной недостаточности NO. Дефицит NO, в свою очередь, вследствие экспрессии молекул адгезии, вазоспазма, повышенной агрегационной способности тромбоцитов и адгезии лейкоцитов на сосудистой стенке ведет к развитию синдрома "no reflow", повышению сосудистой проницаемости, интерстициальному отеку, инфильтрации и повреждению тканей нейтрофилами [5]. В качестве компенсаторной реакции на развивающиеся нарушения наблюдается резкая, но непродолжительная индукция синтеза NO [8]. Локальное снижение концентрации LA имеет и самостоятельное патологическое значение, поскольку на фоне дефицита LA NO-синтаза начинает продуцировать O₂-, значительно усиливая окислительный стресс [6]. В этих условиях введение дополнительных количеств LA, являющегося источником NO и обладающего антиоксидантными свойствами [11], позволяет существенно повысить биодоступность NO и сохранить гомеостатическую функцию эндотелия коронарных сосудов [10]. В свою очередь, сохранность эндотелиальной функции создает оптимальные условия для мобилизации коллатерального кровотока при ишемии, так повышения резистентности эндотелия сосудов и миокарда в целом к окислительному стрессу, и, следовательно, устранение дефицита NO является перспективным подходом к профилактике синдрома "no reflow", постишемического отека и нейтрофильного повреждения миокарда [5].

Существующие теоретические предпосылки протекторного действия LA при ишемии-реперфузии находят свое экспериментальное подтверждение. Так, в частности, показано, что добавление LA в кардиоплегический раствор оказывает благотворное влияние на энергетику и позволяет ускорить функциональное восстановление ишемизированного миокарда [7]; а введение LA во время реперфузии снижает величину некротических изменений в миокарде [2]. В нашем исследовании профилактическое интрагастральное введение LA значительно уменьшало размер ишемическо-реперфузионного повреждения миокарда, причем максимальный эффект достигался при назначении LA в дозе 300 мг/кг.

Несомненный интерес представляет поиск возможностей усиления протекторных свойств LA за счет комбинирования с веществами, способными улучшать энергообеспечение ишемизированного миокарда. К таким веществам традиционно относят ряд интермедиатов цикла Кребса, наиболее перспективным из которых, на наш взгляд, является сукцинат.

Выбор сукцината как возможного энергообеспечивающего средства связан с большей скоростью его окисления в сравнении с таковой других субстратов. Кроме того, флавиновая природа сукцинат-убихинон редуктазы обеспечивает сохранение окислительных превращений сукцината при более низком парциальном давлении кислорода, в то время как окисление NAD-зависимых субстратов при недостаточной оксигенации тормозится накоплением восстановленных форм NAD [4].

Еще один возможный механизм протекторного действия сукцината при ишемии-реперфузии реализуется посредством восстановления убихинона. Назначение экзогенного сукцината позволяет восстановить антиоксидантные свойства убихинона, а следовательно делает митохондрии более резистентными к ишемии-реперфузии. [9].

В нашем исследовании, АС в дозах 330 и 1100 мг/г значительно ослаблял ишемическо-реперфузионное повреждение миокарда. В то же время, величина отмеченного эффекта не отличалась от такового при введении АГ в дозах, содержащих эквивалентные количества аргинина. Несмотря на то, что проведенное исследование не позволяет сделать окончательное заключение о преимуществах такой комбинации, есть все основания полагать, что использование АС как противоишемического препарата в комбинированных средствах может представлять значительный интерес. Возможно, что известный кардиопротекторный потенциал сукцината во многом обусловлен его антиоксидантным действием. В этом случае механизмы защитного действия аргинина и сукцината при ишемии-реперфузии существенно перекрываются, что может объяснить отсутствие суммации кардиопротекторных потенциалов, присущих каждому из этих веществ.

Выводы

1. L-аргинина гидрохлорид в дозах 300 и 1000 мг/кг при интрагастральном введении за 60 минут до тридцатиминутной транзиторной коронарной окклюзии обеспечивает увеличение зоны метаболически активного миокарда у крыс.

2. Кардиопротекторная эффективность L-аргинина сукцината в эквивалентных дозах сопоставима с таковой L-аргинина гидрохлорида.

Литература

1. Байрамкулов Х. Д., Гацура В. В. Влияние сукцината натрия на некоторые показатели углеводного обмена ишемизированного миокарда // Бюлл. exper. биол.-1976.- № 12.- С. 1439-1941.

2. Булгак А. А., Мрочек А.Г., Гурин А.В. Вовлечение дисфункции сосудистого эндотелия в патогенез необратимых реперфузионных повреждений миокарда // Новости медико-биол. наук.-2004.- N 3.- С. 40-45.

3. Волчек А. В., Жданов А.А. Использование графического редактора Adobe Photoshop для градуальной оценки фармакологических эффектов // Труды молодых ученых 2004: Сб. науч. раб. под общ. ред. С. Л. Кабака. Мн., 2004. С. 10-13.

4. Гацура В. В. Фармакологическая коррекция энергетического обмена ишемизированного миокарда: М.: Антекс, 1993.- 254 с.

5. Coronary endothelial dysfunction after ischemia and reperfusion and its prevention by ischemic preconditioning / P. Pagliaro, A. Chiribiri, D. Mancardi e. a. // Ital Heart J.-2003.- Vol. 4, N 6.- P. 383-394.

6. Evidence for free radical generation after primary percutaneous transluminal coronary angioplasty recanalisation in acute myocardial infarction / Grech E. D., Dodd N. J., Jackson M. J. e. a. // Am. J. Cardiol.- 1996.- Vol. 77, N 2.- P. 122-127.

7. L-arginine during long-term ischemia: effects on cardiac function, energetic metabolism and endothelial damage M. Desrois, M. Sciaky, Lan C. e. a. // J. Heart Lung Transplant.- 2000.- Vol. 19.- P. 367-376.
8. L-arginine treatment alters the kinetics of nitric oxide and superoxide release and reduces ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle / I. Huk, J. Nanobashvili, C. Neumayer e. a. // Circulation.- 1997.- Vol. 96, N 2.- P. 667-682.
9. Sakamoto M., Takeshigt K., Yasui H., Tokunaga K. Cardioprotective effect of succinate against ischemia/reperfusion injury // Jpn. J. Surg.- 1998.- Vol. 28.- P. 522-528.
10. Vallance P., Chan N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance // Heart.- 2001.-Vol. 85, N 3.- P. 342-350.
11. Wu G., Meininger C.J. Arginine nutrition and cardiovascular function // J Nutr.- 2000.- Vol. 130, N 11.- P. 2626-2629