

Т.П. Красненкова, А.С. Евсеенко, Н.А. Кувшинова

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ГЛИЦИНА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА

Государственное учреждение «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси»

Эффективность глицина при различных патологических состояниях, связанных с гипоксическим состоянием и иницированным им свободнорадикальным процессом, обусловлена воздействием данной аминокислоты на рецепторы мембран клеток различных органов и тканей. В литературе выдвинуто предположение, что на мембране клеток миокарда находятся рецепторы, за счет воздействия на которые глицин может оказывать цитопротекторное действие в результате ингибирования потока ионов кальция. Исследовано действие раствора глицина (90 мг/кг) при внутривенном введении крысам Wistar, у которых индуцирована острая ишемия дофамином (20 мг/кг).

Показано, что введение глицина животным способствует их выживанию (67%), нормализует показатели ЭКГ в краткие сроки после введения до уровня исходных значений, достоверно улучшает фракцию выброса левого желудочка. Эффективность глицина в столь краткие сроки по всей вероятности обусловлена его способностью воздействовать непосредственно на клетки миокарда.

Ключевые слова: глицин, дофамин, острая ишемия миокарда.

T.P. Krasnenkova, A.S. Evseyenko, N.A. Kuvsheva

THE EFFICIENCY OF GLYCINE AT THE EXPERIMENTAL MODEL OF ACUTE MYOCARDIAL ISCHEMIA

The efficiency of glycine at the different pathological states are caused by hypoxia and initiated free radical processes, is determined by the direct action of this amino acid to receptors of the cell membranes of different organs and tissues. It was advanced thesis in the literature that receptors are in the myocardial cells. The cytoprotective action are caused by glycine as result of inhibition of calcium ion flow.

It was investigated the effect of the glycine solution (90 mg/kg) at the intravenous introduction to Wistar rats after the dophamine-induced (20 mg/kg) acute myocardial ischemia. The administration of glycine is observed to promote the survival of rats (67%), improve the ECG indicies to the baseline values in short terms, reliably improve the left ventricular ejection fraction. Probably the efficiency of glycine is caused its ability of the direct action to the myocardial cells.

Key words: *glycine, dophamin, acute myocardial ischemia.*

Глицин является нейромедиаторной аминокислотой и входит в ряд препаратов, рекомендуемых в качестве профилактического и терапевтического приема при ишемическом инсульте. Глициновые рецепторы в центральной нервной системе являются мембранными ионными каналами, функционально зависимыми от взаимодействия с лигандом [4]. Глицин оказывает ингибиторный эффект на центральную нервную систему при связывании с глициновыми рецепторами, которые располагаются на постсинаптической мембране. На клетках, не являющихся нейронами, глицин активирует рецепторы на плазматической мембране, увеличивая поток ионов хлора, которые гиперполяризуют клеточную мембрану, что приводит к блокированию движения ионов кальция через плазматическую мембрану и снижению воспалительного процесса, ассоциированного со свободнорадикальными процессами [5]. Обнаружено, что глициновые рецепторы находятся в эндотелиальных клетках, в проксимальных тубулярных клетках почечного эпителия [11], лейкоцитах [6] и в миокардиальных клетках [3, 9, 10].

Поскольку при ишемии миокарда снижение содержания кислорода приводит к увеличению генерированных цитотоксичных супероксидных анионрадикалов и других активных форм кислорода [2], происходит резкое необратимое ингибирование активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, то возможно, прием глицина как цитопротектора при острой ишемии миокарда может привести к снижению поражения миокардиальных клеток при гипоксии.

Цель работы исследовать эффективность глицина при внутривенном введении на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы в экспериментальной модели острой ишемии.

Материалы и методы

В исследовании были использованы крысы самцы Wistar (n=24) массой 200-220 г. Животные

содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к еде и питью. Животные были рандомизированы на 4 группы, в каждой по 6 особей.

Для создания экспериментальной модели острой ишемии животным, наркотизированным внутрибрюшинным введением тиопенталом натрия в дозе 50 мг/кг, при непрерывном кардиографическом мониторинге в боковую хвостовую вену вводился раствор дофамина в дозе 20 мг/кг [1]. Электрокардиограмму (ЭКГ) записывали с помощью многоканального комплекса (Віорас, США). После регистрации устойчивых изменений, характерных для острой ишемии – элевация ST-сегмента не менее, чем на 50%, углубление зубца Q, уширение интервала QRST, снижение частоты сердечных сокращений, животным в течение 20-30 секунд вводился исследуемый раствор глицина (Sigma) в дозах 9 (группа 1) и 90 мг/кг (группа 2) или физиологический раствор (группа 3), дальнейшее мониторирование ЭКГ-параметров осуществлялось в течение 1 часа. Наблюдение за животными проводилось в течение 7 суток.

Эхокардиографические исследования проводились с помощью сканера для ультразвуковых исследований (Ассомедика, Беларусь) у наркотизированных крыс (группа 4, n=6), при которых животное помещалось на левый бок. Датчик располагался в II-IV межреберье слева у края грудины. Эхокардиограмма, как и электрокардиограмма, регистрировалась до введения дофамина, после введения дофамина (20 мг/кг) и после введения раствора глицина (90 мг/кг). По показателям конечно-диастолического и конечно-систолического диаметра левого желудочка (ЛЖ) сердца крысы были рассчитаны ударный объем и фракция выброса ЛЖ в % [7, 8].

Для статистического анализа данных использовали однофакторный метод ANOVA (Statistica 6.0). Различия считались достоверными при уровне зна-

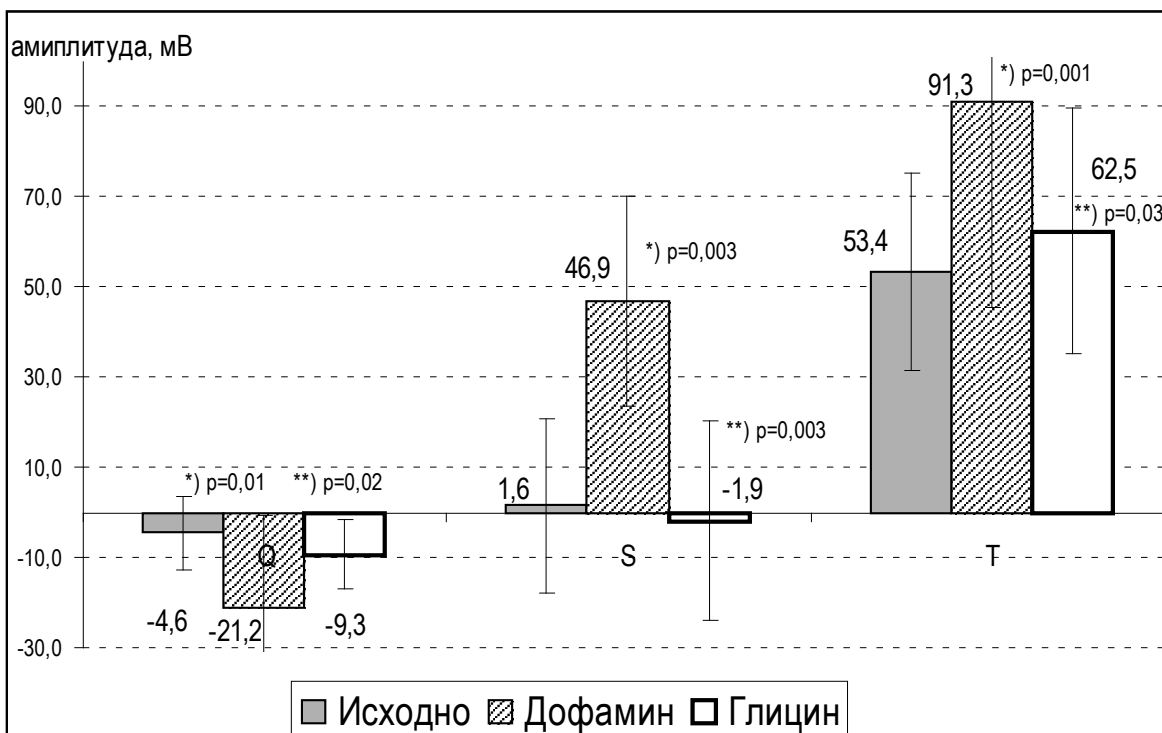


Рис. 1. Амплитудные значения зубцов Q, S, T на ЭКГ у крыс Wistar до введения дофамина и глицина (исходно), после введения дофамина (дофамин) и глицина в дозе 90 мг/кг (глицин).

различия по сравнению с *) исходными показателями и **) показателями после введения дофамина статистически достоверны при уровне значимости $p < 0,05$

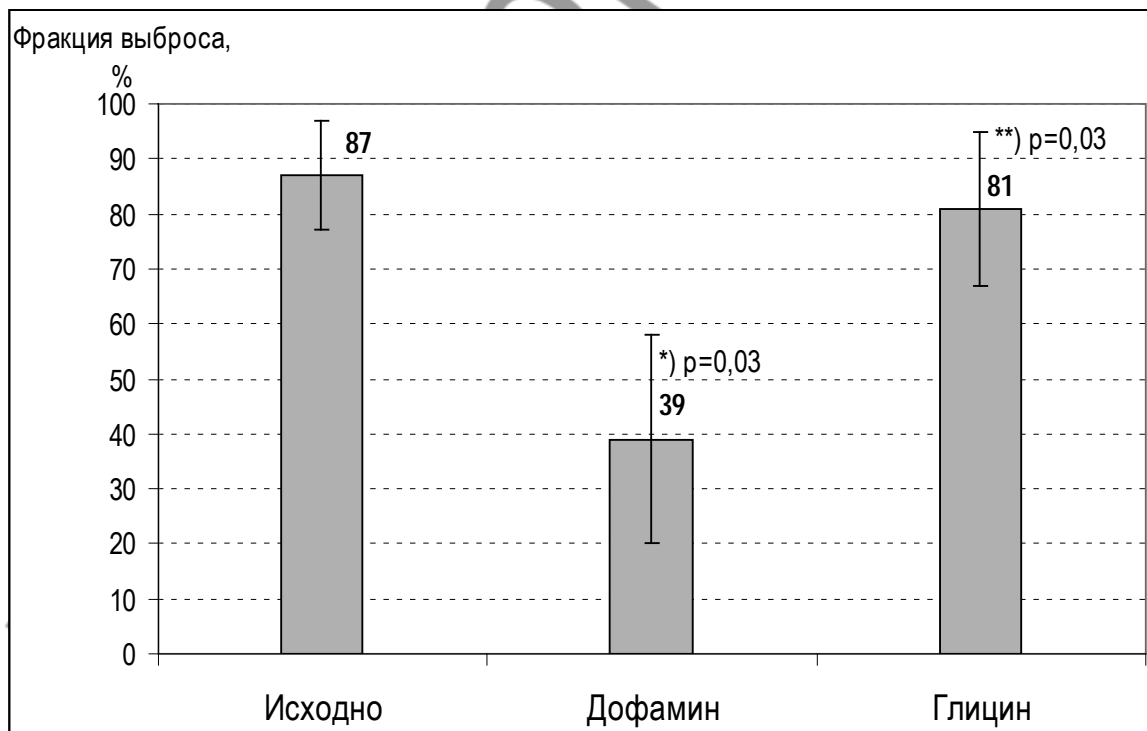


Рис. 2. Показатели фракции выброса левого желудочка сердца крыс Wistar до введения дофамина и глицина (исходно), после введения дофамина (дофамин) и глицина в дозе 90 мг/кг (глицин).

различия по сравнению с *) исходными показателями и **) показателями после введения дофамина статистически достоверны при уровне значимости $p < 0,05$

чимости $P < 0,05$. Данные на рисунках представлены в виде среднего значения с указанием доверительных интервалов.

Результаты и обсуждение

Внутривенное введение дофамина в дозе 20 мг/кг крысам вызывает стремительное развитие острой ишемии, в среднем в течение 30 секунд, которое при регистрации показателей ЭКГ выражается в достоверном углублении зубца Q более, чем на 100% по сравнению с исходными данными ($p=0,01$), возрастанием амплитуд зубцов S и T в 30 раз ($p=0,003$) и 2 раза ($p=0,01$) соответственно (рис.1). При введении исследуемого раствора глицина в дозе 9 мг/кг в 15-секундный интервал времени после развития ишемии состояние животных не стабилизировалось, и все крысы группы 1 погибли, как и крысы контрольной группы (группа 3). При введении исследуемого раствора глицина в дозе 90 мг/кг в 15-секундный интервал времени после развития ишемии состояние животных улучшалось в течение 30 минут наблюдения (от 7 до 30 мин). Отмечалась достоверная нормализация глубины зубца Q до уровня исходных значений по сравнению с амплитудой Q, инициированной введением дофамина ($p=0,02$). Наблюдалось статистически значимое снижение амплитуд зубцов S и T до уровня исходных значений ($p=0,03$ и $p=0,04$ соответственно). Частота сердечных сокращений (ЧСС) после введения дофамина достоверно снизилась на 40% по сравнению с исходными данными ($p=0,02$) и после введения глицина (90 мг/кг) достоверно возросла на 60% ($p=0,04$) до уровня исходных значений. Вышеприведенные результаты эксперимента *in vivo* согласуются с литературными данными эксперимента *in vitro*. В экспериментах *in vitro* показано, что введение глицина в буферную среду, которая перфузирует изолированное сердце крысы, после повреждающего воздействия на него липосахаридов происходит восстановление ЧСС до нормального уровня, а также достоверное восстановление монофазного потенциала действия миокарда [5].

Следует отметить, что одна из крыс группы 2 через 30 секунд после введения глицина (90 мг/кг) погибла и в течение суток погибла еще одна крыса. Таким образом, из 6 крыс, которым ввели глицин в дозе 90 мг/кг на фоне острой ишемии, инициированной внутривенным введением дофамина (20 мг/кг) выжили 4 особи (67%).

Данные эхокардиографического исследования свидетельствуют о статистически значимом снижении фракции выброса левого желудочка на 55% ($p=0,03$) у крыс после внутривенного введения дофамина по сравнению с исходными данными (рис.2). После введения глицина в дозе 90 мг/кг отмечается статистически значимое увеличение фракции выброса по сравнению с показателем, наблюдаемым после введения дофамина ($p=0,03$). Статистически

значимых изменений в расчетном показателе ударного объема не выявлено.

Таким образом, как показано исследованиями *in vitro*, глицин ингибирует возрастание концентрации свободных ионов кальция в кардиомиоцитах, которая увеличивается при повреждающем действии гипоксии/реоксигенации [5]. По всей вероятности, данный факт свидетельствует в пользу наличия глициновых рецепторов на мембране кардиомиоцитов и способности глицина, таким образом, оказывать прямой цитопротекторный эффект в условиях гипоксии.

Раствор глицина при внутривенном введении крысам при острой ишемии, индуцированной дофамином, способствует выживаемости животных и в краткие сроки (в течение нескольких минут) улучшает электрокардиографические и гемодинамические показатели.

Литература

1. Кардаш, О.Ф., Булгак А.Г., Лобанок Е.С., Крутов В.Г., Красненкова Т.П., Алексеенко О.В., Колядко М.Г. Сравнительная характеристика экспериментальных моделей инфаркта миокарда при доклиническом исследовании эффективности клеточной терапии // Кардиология в Беларуси. – 2011. - №5. – С.271.
2. Ланкин, В.З., Тихадзе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях (Пособие для врачей). Изд. 2-е, испр.и доп. – М.: РКНПК МЗ РФ, 2001. – 78 с.
3. Ikejima, K, Iimuro Y, Forman DT, Thurman RG. A diet containing glycine improves survival in endotoxin shock in the rat // Am J Physiol. - 1996. -V. 271. – P. 97-103.
4. Pfeiffer, F, Betz H. Solubilization of the glycine receptor from rat spinal cord // Brain Res. - 1981. – V.226. – P. 273-279.
5. Qi R., Zhang J.Y., Lu D.X., Wang H.D., Wang H.H. Glycine receptors contribute to cytoprotection of glycine in myocardial cells // Chin Med J. - 2007. – V. 120, 10. P. 915-921.
6. Reeves, WB. Effects of chloride channel blockers on hypoxic injury in rat proximal tubules // Kidney Int. – 1997. – V. 51. – P. 1529-1534.
7. Roelandt, R.F. Practical echocardiography, Ultrasound in medicine series / R.F. Roelandt // 1977. – Vol. 1. – P. 124.
8. Teichholz, L.E. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence or absence of asynergy / L.E. Teichholz // Am. J. Cardiol.- 1976.- Vol. 137. - №1. – P. 7-11.
9. Wheeler, MD, Rose ML, Yamashina S, Enomoto N, Seabra V, Madren J, et al. Dietary glycine blunts lung inflammatory cell influx following acute endotoxin // Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. – 2000. – V. 279. – P.390-398.
10. Wheeler, MD, Stachlewitz RF, Yamashina S, Ikejima K, Morrow AL, Thurman RG. Glycine-gated chloride channels in neutrophils attenuate calcium influx and superoxide production // FASEB J. – 2000. – V.14. – P. 476-484.
11. Yamashina, S, Konno A, Wheeler MD, Rusyn IV, Rusyn EL, Cox AD, Thurman RG. Endothelial cells contain a glycine-gated chloride channel // Nutr Cancer. - 2001. – V. 40. –P. 197-204.

Поступила 24.01.2014 г.