

УДК 616.12:615.2

КАРДИОПРОТЕКТОРНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТИМОХИНОНА ПРИ ФОТОТРОМБОЗИНДУЦИРОВАННОМ ОСТРОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА У КРЫС

Постоялко С.А., Гриппа Т.Р., Волчек А.В.

УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

В исследовании подтверждена эффективность экспериментальной модели инфаркта миокарда (ИМ), вызванного фототромбозом коронарных сосудов у крыс. Однократное воздействие светом на сенсибилизированный бенгальским розовым сосуд вызывало образование тромба, который затем подвергался лизису, что имитировало процесс реперфузии. В опытной группе площадь некротизированного миокарда составляла около 46–51 %, в контрольной группе некроза не было. Микроскопия окрашенных гематоксилин-эозином микропрепаратов миокарда показала, что у ложнооперированных животных кардиомиоциты без признаков ИМ, в группе плацебо – выраженные признаки инфаркта, у крыс, получавших профилактически однократно метопролола тартрат в дозе 10 мг/кг, наблюдалась частичная защита с минимальными повреждениями, а у животных, получавших профилактически тимохинон в дозе 10 мг/кг, выявлялась значительная кардиопротекция без признаков инфаркта.

Ключевые слова: тимохинон; метопролол; инфаркт; крысы.

Введение. Инфаркт миокарда (ИМ) является одной из ведущих причин смертности и инвалидности в мире. Несмотря на достижения современной медицины, количество пациентов с острыми коронарными синдромами остается высоким. Тромболитическая терапия, ангиопластика, медикаментозное лечение и другие эффективные технологии оказания помощи при остром ИМ имеют ряд ограничений, противопоказаний и нежелательных побочных эффектов. Также в связи с узким терапевтическим окном не все пациенты могут получить своевременную и эффективную помощь. Но даже после успешного лечения ИМ сохраняется риск развития сердечной недостаточности и других поздних осложнений. Поэтому поиск новых методов и лекарственных средств для лечения ИМ важная задача современной медицины и фармакологии. Большой интерес представляет разработка лекарств, которые не только устраняют симптомы, но и защищают клетки миокарда от ишемии и способствуют их регенерации. Потенциальным кардиопротектором является тимохинон (2-изопропил-5-метил-1,4-бензохинон) – один из компонентов семян черного тмина (*Nigella sativa*), перспективный универсальный антигипоксанта, повышающий выживаемость ткани мозга при остром ишемическом инсульте у крыс [1], увеличивающий время жизни мышей при респираторной гипоксии [2], на не-

которых моделях острого ИМ уменьшающий площадь некроза [3].

Цель исследования: оценить противоишемическую эффективность однократного профилактического назначения тимохинона в сравнении с метопролола тартратом при остром ИМ у крыс, вызванном фототромбозом.

Материалы и методы. Исследование проведено в экспериментальной лаборатории кафедры фармакологии БГМУ в соответствии с нормами биомедицинской этики и правилами гуманного обращения с животными на 42 самцах крыс линии Wistar массой 320–380 г. Перед началом операции крысу, введенную в наркоз при помощи ингаляционного анестетика севофлурана, фиксировали на операционном столике. Грудь животного выбривали и дезинфицировали 70 %-ым раствором этанола. После этого остроконечными ножницами по передней срединной линии в проекции четвертого межреберья выполняли разрез длиной 3 сантиметра. Для большего удобства кожные лоскуты фиксировали на лигатуры. Раздвигающими движениями ножниц тупо расслаивали мышцы в 4-м межреберье. В случае остановки дыхания проводили ручную вентиляцию легких. С помощью микроретракторов операционную область расширяли на 1,5–2 см, что обеспечивало хороший визуальный контроль за сердцем. Животным в хвостовую вену вводили раствор бенгальского розового

в дозе 25 мг/кг, который под влиянием излучения инициирует тромбоз [4]. После этого на переднюю нисходящую коронарную артерию на протяжении трех минут направляли перпендикулярно луч твердотельного лазера с диодной накачкой мощностью ~75 мВт, длиной волны 532 нм и диаметром 3 мм, облученность составляла 0,1 Вт/см². Затем грудную клетку и кожу послойно ушивали простыми узловыми швами. После завершения операции раневую поверхность обрабатывали раствором бриллиантового зеленого. Ребра при этом оставались неповрежденными. Продолжительность операции составляла не более 10 минут. Крысы приходили в сознание в среднем через три минуты после окончания операции. Подопытные животные были поделены на 4 группы, по 6 животных в каждой. Крысам из первой группы до индукции ИМ однократно внутрибрюшинно вводили метопролола тартрат в виде суспензии в дозе

10 мг/кг. Животные второй группы в тех же условиях получали тимохинон в дозе 10 мг/кг. Крысам третьей группы внутрибрюшинно вводили изотонический раствор хлорида натрия. Животным из четвертой группы («ложнооперированным») вместо бенгальского розового назначали изотонический раствор натрия хлорида, тромбоз коронарной артерии у них не развивался. На 3-е сутки крыс подвергали эвтаназии летальной дозой севофлурана и забирали у них сердца. После извлечения сердце фиксировали в 10 %-ом растворе формальдегида, обезвоживали, заключали в парафиновые блоки, приготавливали срезы, окрашивали их гематоксилином и эозином. Микрофотосъемку препаратов на увеличении $\times 200$ выполняли при помощи светового микроскопа с цифровой камерой Leica DFC420c. Морфологические исследования выполнены при консультативном участии кандидата медицинских наук, доцента С.М. Поляковой.

На предварительном этапе исследования, включавшем 18 крыс в целях отработки экспериментальной модели ИМ применяли экспресс-метод морфометрии [5], для этого сердце рассекали на сегменты толщиной 2 мм начиная от верхушки и в течение 30 минут окрашивали в 0,5 %-ом растворе нитросинего тетразолия (НСТ). Жизнеспособная ткань, содержащая лактатдегидрогеназу, превращала бесцветный НСТ в формазан фиолетового цвета. Нежизнеспособные участки миокарда оставались неокрашенными. В дальнейшем в стандартных условиях делали макрофотографии срезов, полученные цифровые изображения использовали для определения площади «живой» (НСТ+) и некротизированной (НСТ-) ткани нижней поверхности каждого сегмента сердца.

Использовали тимохинон чистотой $\geq 97,5$ %, поставляемый Acros Organics (США), лот №A0460598; препарат таблеток метопролола тартрата производства Egis Pharmaceuticals (Венгрия).

Результаты и обсуждение

На предварительном этапе исследования установлена состоятельность экспериментальной модели ИМ, вызванного фототромбозом коронарных сосудов. После однократного воз-

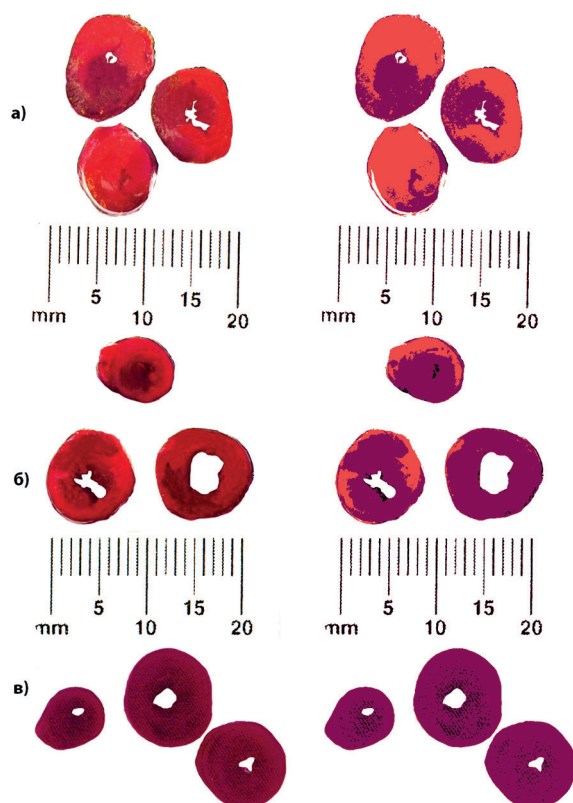


Рис. 1. Нативные изображения окрашенных срезов миокарда крыс (слева) и индексированные изображения этих же препаратов (справа): Группы: а – инфаркт миокарда + плацебо; б – инфаркт миокарда + метопролола тартрат 10 мг/кг однократно внутрибрюшинно; в – ложнооперированные животные

действия пучком света на сосуд сенсibilизированного животного формируется тромб, который в дальнейшем под влиянием эндогенных факторов подвергается лизису, происходит реперфузия [4]. Эта последовательность событий лучшим образом соответствует патогенезу острого нарушения перфузии тканей вследствие тромбоза и позволяет оценить комплексное влияние различных факторов: чувствительности ткани к нарушениям перфузии, баланса системы гемостаза и тромболизиса и др [6; 7]. Обтурацию сосуда тромбом визуально фиксировали на 2-й минуте облучения лазером. После аутопсии, разделения сердца на сегменты и их последующей окраски НСТ установлено, что площадь некротизированного миокарда крыс опытной группы $46 \pm 8 \%$ 2-го, и $51 \pm 10 \%$ 3-го сегментов. В контрольной группе ложнооперированных животных некроза не было (рис. 1).

Микроскопическое исследование миокарда ложнооперированных крыс показало кардиомиоциты без признаков ИМ с равномерно и интенсивно окрашенными ядрами и сохраненной поперечнополосатой исчерченностью (рис. 2).

У животных, получавших перед индукцией фототромбоза плацебо (раствор хлорида натрия), наблюдались все признаки обширного ИМ: множество крупных зон круглоклеточной инфильтрации, нарушенная поперечнополосатая исчерченность, фрагментация ядер (рис. 3).

В группе, которой назначали эталонный кардиопротектор метопролола тартрат в дозе

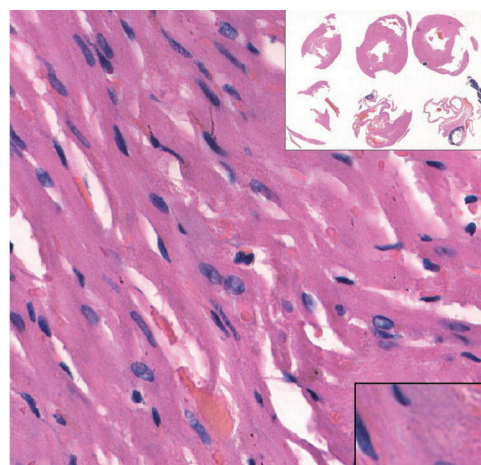


Рис. 2. Сердце контрольной группы (ложнооперированные животные), нормальные мышечные волокна миокарда: гематоксилин-эозин, $40\times$

10 мг/кг, обнаружили гиперемию, диффузную межклеточную инфильтрацию, очаговую фрагментацию кардиомиоцитов, у одной из крыс выявили небольшие очаги некроза и межклеточный миокардит (рис. 4).

У крыс, профилактически получавших перед операцией 10 мг/кг тимохинона, обнаружили участки очаговой круглоклеточной, либо диффузной инфильтрации миокарда без признаков инфаркта (рис. 5).

Результаты исследований хорошо согласуются с данными других авторов, полученных на модели ишемии-реперфузии миокарда путем наложения лигатуры, указывающих на кардиопротективную эффективность метопролола тартрата при однократном профилактическом применении [8] и тимохинона в тех же условиях [3].

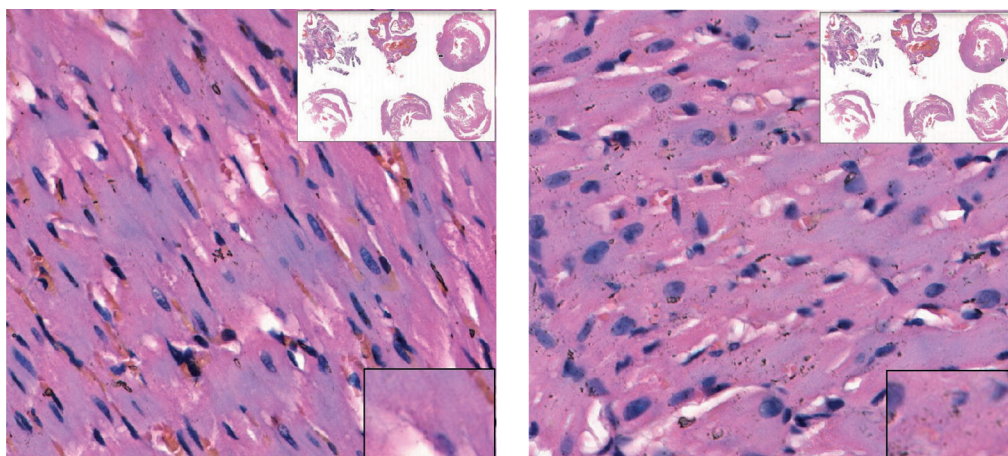


Рис. 3. Инфаркт миокарда (плацебо): гематоксилин-эозин, $40\times$

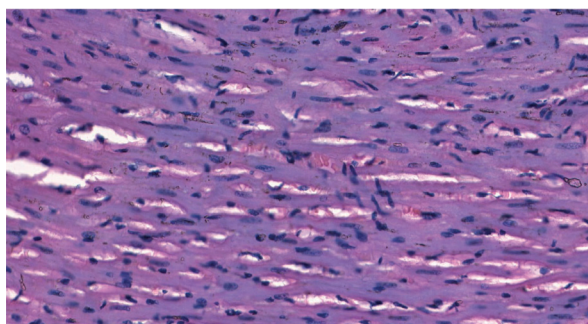


Рис. 4. Диффузная межклеточная инфильтрация без инфаркта (метопролола тартрат 10 мг/кг): гематоксилин-эозин, 40×

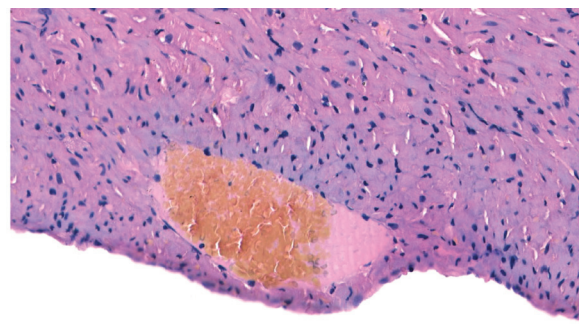


Рис. 5. Очаговая круглоклеточная инфильтрации, полнокровие и сладж без инфаркта (timoquinon 10 мг/кг): гематоксилин-эозин, 40×

Заклучение. Метопролола тартрат при однократном внутривенном профилактическом введении в дозе 10 мг/кг обладает выраженной кардиопротективной эффективностью на модели коронарного фототромбоза, предотвращая необратимые дистрофические изменения кардиомиоцитов, либо существенно умень-

шая их площадь. Тимохинон при однократном внутривенном профилактическом введении в дозе 10 мг/кг обладает не уступающей метопролола тартрату кардиопротективной эффективностью при коронарном фототромбозе, предотвращая необратимые дистрофические изменения кардиомиоцитов.

Список цитированных источников

1. Влияние мемантина и тимохинона на острейший период ишемического инсульта у крыс / В.А. Струневский, Т.А. Шишкина, О.С. Рашкевич, А.В. Волчек // Научный медицинский вестник Югры. – 2024. – Т. 40, № 2. – С. 184–186.
2. Рашкевич, О.С. Антигипоксический эффект комбинации бемитила и тимохинона в условиях гиперкапнической гипоксии/ О.С. Рашкевич, А.В. Волчек // Известия Нац. академии наук Беларуси. Серия медицинских наук. – 2024. – 21(4). – С. 345–352.
3. Thymoquinone attenuates isoproterenol-induced myocardial infarction by inhibiting cytochrome C and matrix metalloproteinase-9 expression / M. Medhet, W.M. El-Bakly, A.M. Badr [et al.] // Clinical and experimental pharmacology & physiology vol. 2022. – 49,3. – 391–405.
4. Boquillon, J.M. Photochemically induced, graded cerebral infarction in the mouse by laser irradiation evolution of brain edema / M. Boquillon, J.P. Boquillon, J. Bralet // J. of Pharmacological and Toxicological Methods. – 1992. – Vol. 27. – P. 1–6.
5. Волчек, А.В. Использование графического редактора Adobe Photoshop для градуальной оценки фармакологических эффектов / А.В. Волчек, А.А. Жданов // Труды молодых ученых : сб. науч. работ. – 2004:– Минск : БГМУ, 2004. – С. 10–13.
6. Murine left anterior descending coronary artery ligation: an improved and simplified model for myocardial infarction / C. Reichert, B. Colantuono, I. McCormack [et al.] // J. of visualized experiments. – 2017. – 122.
7. Rat models of myocardial infarction / R. Bhindi, P.K. Witting, A.C. McMahon [et al.] // Pathogenetic insights and clinical relevance. Thrombosis a8. Metoprolol protects against myocardial infarction by inhibiting miR-1 expression in rats / W. Qin, L. Zhang, Z. Li [et al.] // J. of haemostasis vol. 96,5, 2006. – 602.
8. The J. of pharmacy and pharmacology vol. 2020. – 72,1. – С. 76–83.

CARDIOPROTECTIVE EFFICACY OF THYMOQUINONE IN PHOTOTHROMBOSIS INDUCED ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION IN RATS

Pastayalka S. A., Hryppa T. R., Vauchok A.U.

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Annotation. The study confirmed the effectiveness of an experimental model of myocardial infarction (MI) caused by photothrombosis of coronary vessels in rats. A single exposure to light on a vessel sensitized with rose bengal caused thrombus formation, which was then lysed, which imitated the reperfusion process. In the experimental group, the area of necrotic myocardium was about 46–51 %, in the control group there was no necrosis. Microscopy of hematoxylin-eosin-stained myocardial slides showed that in sham-operated animals, cardiomyocytes were without signs of MI, in placebo group there were pronounced signs of infarction, in rats that received a single prophylactic dose of metoprolol tartrate at a dose of 10 mg/kg, partial protection with minimal damage was observed, and in animals that received prophylactic thymoquinone at a dose of 10 mg/kg, significant cardioprotection without signs of infarction was detected.

Key words: thymoquinone; metoprolol tartrate; infarction; rats.