

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

НО-ЗАВИСИМЫЙ МЕХАНИЗМ КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ФЕНИБУТА ПРИ СТРЕССОРНОМ НАРУШЕНИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ СЕРДЦА

И. Н. Тюренков, В. Н. Перфилова, Н. В. Садикова, И. И. Прокофьев¹

При стрессорном воздействии в течении 24 ч снижаются ино- и хронотропные резервы сердца у животных, о чем свидетельствует уменьшение прироста скоростей сокращения и расслабления миокарда, левожелудочкового давления (ЛЖД), частоты сердечных сокращений (ЧСС) и максимальной интенсивности функционирования структур (МИФС), по сравнению с интактными животными при проведении пробы на адренореактивность и максимальной изометрической нагрузке, вызванной пережатием восходящей части дуги аорты. Блокада NO-синтаз вызывает высокий процент гибели животных во время стрессирования, наркотизации, при вскрытии грудной клетки и при проведении функциональных тестов, а также выраженное уменьшение прироста скорости сокращения ($+dp/dt \max$), скорости расслабления ($-dp/dt \max$) миокарда, ЛЖД, ЧСС и МИФС в среднем в 2 раза ($p < 0,05$) в условиях нагрузочных проб по сравнению с контрольной группой стрессированных животных. Фенибут ограничивает стрессорные нарушения сократимости миокарда, на что указывает более высокий прирост показателей при проведении нагрузочных тестов в среднем в 1,8 раза, чем у животных контрольной группы ($p < 0,05$). Кардиопротекторное действие фенибута выражено слабее при введении его на фоне блокады NO-ергической системы, отмечаются случаи гибели животных преимущественно во время стрессирования. Полученные результаты позволяют считать, что для обеспечения кардиопротекторного действия фенибута при стрессорном повреждении миокарда необходимо участие системы оксида азота.

Ключевые слова: фенибут; стрессорное повреждение сердца; кардиопротекторное действие; NO-ергический механизм; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Воздействие стрессорных факторов вызывает угнетение сократимости и снижение функциональных резервов сердца [4, 9, 10]. В настоящее время установлена существенная роль дисфункции стресс-лимитирующих систем организма в патогенезе многих кардиальных расстройств, в том числе нарушений сократимости сердца, и показана эффективность корригирующей стресс-лимитирующей фармакотерапии [5].

К стресс-лимитирующим системам относят NO-ергическую систему, которая ингибирует секрецию “гормонов и медиаторов стресса” — кортикотропин-рилизинг-фактора, АКТГ, вазопрессина и катехоламинов, модулирующих эндокринные, метаболические и другие реакции организма в ответ на воздействие различных стрессорных факторов [2, 4].

Участие NO-ергической системы в ограничении стрессорных воздействий на сердце сопряжено с ГАМК-ергической системой. Обнаружено, что ГАМК-

ергические нейроны различных структур мозга содержат NO-синтазу — фермент, продуцирующий оксид азота [12]. Показано потенцирующее действие оксида азота на высвобождение ГАМК в клетках ядра солитарного тракта, паравентрикулярного ядра гипоталамуса, стриатума, гиппокампа [13, 15]. Имеются данные о влиянии оксида азота на концентрацию ГАМК в ростральной вентролатеральной области продолговатого мозга и участии в регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы [14].

Результаты многочисленных исследований показывают, что ГАМК и ее производные повышают инотропные резервы сердца в условиях нормы и существенно ограничивают депрессию сократительной функции миокарда у стрессированных животных [4, 9].

В работе [11] установлено, что продуцируемый эндотелием коронарных сосудов оксид азота оказывает модулирующее влияние на сократимость миокарда. На изолированном сердце крыс показано, что перфузия в коронарную артерию нитропруссид натрия и L-аргинина вызывает значительное увеличение амплитуды и скорости сокращения сердца [3].

¹ Волгоградский государственный медицинский университет, Россия, 400131, Волгоград, ул. Павших Борцов, 1.

Учитывая представленные данные о стресс-лимитирующем действии NO-ергической системы, взаимодействии ее с системой ГАМК, нам представлялось целесообразным оценить ранее установленное кардиопротекторное действие фенибута при экспериментальном стрессе у животных в условиях блокады NO-ергической системы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на беспородных крысах-самцах массой 250 – 280 г (81 особь), полученных из питомника “Рапполово” (Санкт-Петербург). Животные содержались в стандартных условиях вивария, согласно правилам GLP при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.396 и 51000.4-96). Экспериментальное исследование было одобрено региональным независимым этическим комитетом ГУ Волгоградского медицинского научного центра (протокол № 12 – 2011). Стресс моделировали однократным подвешиванием крыс за дорсальную шейную кожную складку на 24 ч [1]. В работе использовались функциональные тесты: проба на адренореактивность (введение адреналина (эпинефрин, ФГУП “Московский эндокринный завод”, Россия) внутривенно в дозе 0,0001 мг/кг) и нагрузка сопротивлением (окклюзия восходящей части дуги аорты на 30 с) [8]. Животные были разделены на 5 групп: 1) группа позитивного контроля — интактные животные ($n = 14$); 2) группа негативного контроля — стрессированные животные, которым вводили физиологический раствор ($n = 18$); 3) опытная группа — стрессированные животные, получавшие фенибут в дозе 25 мг/кг ($n = 6$) (субстанция фенибута синтезирована на кафедре органической химии Российского государственного педагогического университета им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург); 4) контрольная группа — стрессированные животные, получавшие физиологический раствор и неселективный ингибитор NO-синтаз — N-нитро-L-аргинин-метиловый эфир (L-NAME) (порошок Sigma-Aldrich, США) в дозе 10 мг/кг ($n = 31$); 5) опытная группа — стрессированные животные, получавшие фенибут в дозе 25 мг/кг и L-NAME в дозе 10 мг/кг ($n = 12$). Субстанции фенибута (25 мг) и L-NAME (10 мг) растворя-

ли в 1 мл физиологического раствора и вводили внутривенно за 10 мин до и через 10 мин после стрессирования в объеме 0,1 мл/100 г массы животного. В названных дозах вещества обладают выраженными эффектами [7, 10]. Контрольная группа стрессированных животных получала физиологический раствор в аналогичном опытным группам режиме.

Для исследования изменений кардиодинамики наркотизированным (хлоралгидрат, 400 мг/кг внутривенно) животным всех групп проводилась следующая оперативная подготовка: после перевода на искусственную вентиляцию легких (аппарат “Вита”, Ленинградское производственное объединение “Красногвардеец”, Россия) осуществлялась торакотомия, затем перикардотомия [8]. Через верхушку сердца в левый желудочек вводили катетер, соединенный с датчиком давления (Элема, Швеция). С помощью компьютерного гемодинамического анализатора на базе программы BEAT регистрировали скорость сокращения ($+ dp/dt \max$) (мм рт.ст/с), скорость расслабления ($- dp/dt \max$) (мм рт. ст./с) миокарда, левожелудочковое давление (ЛЖД) (мм рт. ст.), частоту сердечных сокращений (ЧСС). Максимальная интенсивность функционирования структур (МИФС) определялась расчетным способом ((ЛЖД ср. \times ЧСС ср)/масса левого желудочка (мг) + 1/3 межжелудочковой перегородки (мг)) [8].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ “Statistica 6.0” с предварительной проверкой выборок на нормальность распределения с применением критерия Шапиро – Уилка. Достоверность различий оценивали по точному критерию Фишера, критерию Краскела — Уоллиса, Сигела — Кастеллана.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено, что после 24-часового стрессорного воздействия в группе негативного контроля 3 из 18 животных погибли после проведения пробы на адренореактивность. Не отмечено гибели в группе стрессированных животных, получавших фенибут (группа 3). Ингибирование синтеза оксида азота введением животным L-NAME вызывало существенное снижение их устойчивости к стрессу и хирургическому вмеша-

Таблица 1. Влияние фенибута на выживаемость животных при иммобилизационно-болевым стрессе в условиях блокады NO-ергической системы

Группа животных	Количество животных в группе	Гибель животных			
		во время стрессирования	после наркоза	при вскрытии грудной клетки	после 1-й нагрузки
1. Интактная	14	0	0	0	0
2. Физиологический раствор + стресс	18	0	0	0	3
3. Фенибут + стресс	6	0	0	0	0
4. L-NAME + стресс	31	8*	5	6	5
5. L-NAME + фенибут + стресс	12	6	0	0	1

* $p \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе стрессированных животных, точный критерий Фишера.

тельству: 8 животных погибло во время стрессирования, 5 — при наркотизации, 6 — при вскрытии грудной клетки, 5 — после нагрузки адреналином. В группе стрессированных самок, получавших фенибут на фоне блокады продукции NO, из 12 животных 6 погибло во время стрессирования, 1 — после проведения пробы на адренореактивность (табл. 1).

У стрессированных животных контрольной группы прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда (+ dP/dt max и $-dP/dt$ max), ЛЖД и ЧСС при стимуляции адренорецепторов сердца был значительно ниже показателей интактной группы (табл. 2). Фенибут существенно ограничивал депрессию сократительной функции миокарда животных опытной группы, прирост + dP/dt max, $-dP/dt$ max, ЛЖД и ЧСС у крыс, получавших препарат до и после стрессирования, был значительно выше, чем в контрольной группе. В условиях блокады синтеза NO снижение сократительной функции у выживших стрессированных крыс усугублялось, о чем свидетельствует в среднем в 2 раза меньший, чем в контрольной группе, прирост + dP/dt max, $-dP/dt$ max, ЛЖД и ЧСС в ответ на введение адреналина (табл. 2). При введении фенибута на фоне блокады NO-синтаз кардиопротекторное действие было выражено в значительно меньшей степени в сравнении с действием без блокады NO-системы (табл. 2).

При максимальной изометрической нагрузке, вызванной пережатием восходящей части дуги аорты на

30 с, у стрессированных животных контрольной группы прирост показателей сократимости миокарда, ЛЖД и МИФС на 5 и 30 с был существенно ниже, чем у интактных крыс (табл. 2). Фенибут ограничивал стрессорное нарушение сократительной функции миокарда, о чем свидетельствуют более высокие показатели + dP/dt max, $-dP/dt$ max, ЛЖД и ЧСС у крыс опытной группы, получавших препарат, по сравнению с животными контрольной группы. У стрессированных самок, которым вводили L-NAME, прирост исследуемых значений был значительно меньше выражен, чем в группе негативного контроля (табл. 2).

Таким образом, при стрессорном воздействии в течение 24 ч снижаются ино- и хронотропные резервы сердца у животных, о чем свидетельствует уменьшение прироста скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД, ЧСС и МИФС по сравнению с интактными животными при проведении пробы на адренореактивность и пробы с максимальной изометрической нагрузкой. Блокада NO-синтаз приводит к существенному снижению стрессустойчивости животных, на что указывает высокий процент их гибели во время стрессирования, после наркоза, при вскрытии грудной клетки и после проведения функциональных тестов, а также выраженное уменьшение прироста + dP/dt max, $-dP/dt$ max, ЛЖД, ЧСС и МИФС в условиях нагрузочных проб по сравнению с контрольной группой стрессированных животных. Фенибут ограничивает стрессорные нарушения сократимости миокарда, на что

Таблица 2. Прирост скорости сокращения (+ dP/dt max), скорости расслабления миокарда ($-dP/dt$ max), ЛЖД, ЧСС и МИФС у стрессированных животных при проведении нагрузочных проб ($M \pm m$)

Группа животных	Исходное ЛЖД, мм рт. ст.	Проба на адренореактивность, % прироста показателей							
		+ dP/dt max		$-dP/dt$ max		ЛЖД		ЧСС	
Интактная группа	75,1 ± 11,8	60,4 ± 7,7		62,6 ± 9,6		58,9 ± 8,1		50,9 ± 6,9	
Стресс + физиологический раствор	73,6 ± 15,5	30,5 ± 2,4 [^]		29,8 ± 3,5 [^]		30,4 ± 3,7 [^]		25,6 ± 3,9 [^]	
Стресс + фенибут	77,1 ± 2,2	45,8 ± 2,6 [*]		49,9 ± 3,2 [*]		52,0 ± 4,0 [*]		29,0 ± 6,5	
Стресс + L-NAME	87,6 ± 14,4	12,8 ± 2,6 ^{**}		17,6 ± 7,4 [#]		18,4 ± 4,4 [#]		13,3 ± 6,3	
Стресс + L-NAME + фенибут	85,8 ± 12,0	26,2 ± 3,4		25,8 ± 3,0		25,5 ± 2,7		29,4 ± 8,5	
Максимальная изометрическая нагрузка, % прироста показателей									
		+ dP/dt max		$-dP/dt$ max		ЛЖД		МИФС	
		5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с	5 с	30 с
Интактная группа	70,7 ± 16,6	59,7 ± 5,9	45,6 ± 5,9	54,5 ± 5,8	40,1 ± 5,4	95,5 ± 12,2	80,5 ± 12,7	168,7 ± 22,1	133,0 ± 21,7
Стресс + физиологический раствор	71,1 ± 10,7	42,5 ± 4,0 [^]	21,3 ± 3,4 [^]	42,4 ± 5,2 [^]	17,7 ± 4,6 [^]	60,6 ± 4,5 [^]	37,8 ± 5,2 [^]	98,4 ± 7,9 [^]	45,4 ± 4,5 [^]
Стресс + фенибут	70,8 ± 13,6	50,8 ± 2,6 [*]	39,6 ± 2,1 [*]	50,3 ± 3,0 [*]	37,6 ± 4,8 [*]	93,0 ± 7,9 [*]	82,9 ± 9,2 [*]	143,0 ± 7,2	124,1 ± 10,3 [*]
Стресс + L-NAME	85,4 ± 10,1	22,4 ± 4,7 [*]	0,1 ± 4,8 ^{**}	18,2 ± 2,3 ^{**}	-9,7 ± 3,0 ^{**}	27,0 ± 2,5 [#]	16,5 ± 3,2 [#]	36,1 ± 2,3 [#]	13,1 ± 2,2 [#]
Стресс + L-NAME + фенибут	76,5 ± 9,3	26,8 ± 3,2 [#]	6,3 ± 2,1 [#]	22,0 ± 2,5 [#]	5,8 ± 1,9 ^{**#}	36,2 ± 0,8 [#]	15,9 ± 1,8 [#]	66,4 ± 1,6	16,5 ± 3,9

Примечание:

[^] — изменения достоверны относительно интактной группы при $p < 0,05$ (критерий Краскела – Уоллиса, Сигела – Кастеллана);

^{*} — изменения достоверны относительно контрольной группы стрессированных животных при $p < 0,05$;

^{**} — изменения достоверны относительно группы стрессированных животных, получавших L-NAME, при $p < 0,05$;

[#] — изменения достоверны относительно группы стрессированных животных, получавших фенибут, при $p < 0,05$.

указывает более высокий прирост показателей при проведении нагрузочных тестов, что согласуется с полученными ранее данными [1, 6, 9]. При блокаде NO-ергической системы кардиопротекторное действие фенибута значительно снижается. Вероятно, антистрессорное и кардиопротекторное действие фенибута реализуется с вовлечением системы оксида азота, так как мобилизация ино- и хронотропных резервов сердца при дополнительных нагрузках слабо выражена при введении его на фоне L-NAME, отмечаются случаи гибели животных во время стрессирования, наркотизации, при вскрытии грудной клетки и проведении функциональных тестов.

ВЫВОДЫ

1. Фенибут в дозе 25 мг/кг внутривенно за 10 мин до и через 10 мин после стрессирования оказывает выраженное кардиопротекторное действие при стрессорном повреждении миокарда крыс.

2. В условиях блокады NO-ергической системы кардиопротекторное действие фенибута значительно снижается (в среднем в 2 раза, $p < 0,05$), что может свидетельствовать об участии стресс-лимитирующей NO-ергической системы в формировании кардиопротекторного действия фенибута.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. В. Ковалев, К. Г. Гурбанов, И. Н. Тюренков, *Фармакол. и токсикол.*, **46**(3), 41 – 44 (1983).

2. Е. Б. Манухина, И. Ю. Малышев, *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*, **86**(10), 1283 – 1292 (2000).
3. Х. М. Марков, *Успехи физиол. наук*, **32**(3), 46 – 65 (2001).
4. Ф. З. Меерсон, *Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца*, Медицина, Москва (1984).
5. Ф. З. Меерсон, В. В. Скибицкий, *Кардиология*, **32**(4), 25 – 30 (1992).
6. В. Н. Перфилова, А. В. Дзяков, И. Н. Тюренков, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **68**(5), 19 – 22 (2005).
7. В. Н. Перфилова, Н. В. Садикова, В. М. Берестовицкая, О. С. Васильева, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **77**(9), 13 – 17 (2014).
8. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А. Н. Миронов (ред.), ЗАО “Гриф и К”, Москва (2012).
9. И. Н. Тюренков, В. Н. Перфилова, *Кардиоваскулярные и кардиопротекторные свойства ГАМК и ее аналогов*, Издательство ВолГМУ, Волгоград (2008).
10. И. Н. Тюренков, В. Н. Перфилова, Н. В. Арсенова, *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*, **98**(9), 1131 – 1139 (2012).
11. D. L. Brutsaert, L. J. Andries, *Am. J. Physiol.*, **263**, 985 – 1002 (1992).
12. T. Gonzalez-Hernandez, M. Rodriguez, *J. Comp. Neurol.*, **421**(1), 107 – 135 (2000).
13. C. N. Liu, X. Liu, D. Gao, S. Li, *Pharmacol. Res.*, **51**, 547 – 551 (2005).
14. N. V. Radchenko, L. N. Shapoval, T. L. Davydovskaya, et al., *Neurophysiology*, **45**(5 – 6), 407 – 415 (2013).
15. S. Wang, A. G. Teschemacher, J. F. R. Paton, S. Kasparov, *FASEB J.*, **20**(9), 1537 – 1539 (2006).

Поступила 15.06.15

NO-DEPENDENT MECHANISM OF THE CARDIOPROTECTIVE ACTION OF PHENIBUT ON STRESS-INDUCED VIOLATION OF CONTRACTILE FUNCTION OF THE HEART

I. N. Tyurenkov, V. N. Perfilova, N. V. Sadikova, and I. I. Prokofiev

Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov, Volgograd, 1400131 Russia

A stressor action for 24 h reduces both ino- and chronotropic reserves of animal heart as evidenced by a decrease in rate growth increments of contraction and relaxation of the myocardium, left ventricular pressure (LVP), heart rate, and the maximum intensity of functioning (MIF) as compared to intact animals during testing for adrenoactivity and maximum isometric load caused by clamping of the ascending part of the aortic arch. Blockade of NO-synthase leads to a high percentage of animal death during the stressor action, anesthesia, opening of the chest, and functional tests and causes marked reduction in the growth rates of contraction (+dP/dt max) and relaxation (-dP/dt max) speed, LVP, heart rate, and MIF – on the average about 2 times ($p < 0.05$) under load testing conditions as compared to a control group of stressed animals. Phenibut limits stress-induced violations of the myocardium contractility, as indicated by a higher growth of performance in stress tests – on the average about 1.8 times ($p < 0.05$) in comparison to the control group of animals. The cardioprotective effect of phenibut is less pronounced when it is introduced on the background of the blockade of NO-ergic system. Under these conditions, there are cases of animal death, predominantly during the stressor action. The results obtained suggest that, for ensuring cardioprotective action of phenibut under conditions of stress-induced myocardial damage, it is necessary to provide for participation of nitric oxide system.

Keywords: phenibut; stress-induced heart damage; cardioprotective effect; NO-ergic mechanism; rats.