

На правах рукописи

Мирошкина Ирина Александровна

**ОЦЕНКА КАРДИОПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ
ФАБОМОТИЗОЛА НА МОДЕЛЯХ ИНФАРКТА МИОКАРДА И
АЛКОГОЛЬНОЙ КАРДИОМИОПАТИИ**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва - 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении
«Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Крыжановский Сергей Александрович

Научный консультант:

доктор медицинских наук,
профессор, член-корр. РАН

Дурнев Андрей Дмитриевич

Официальные оппоненты:

Кошелев Владимир Борисович, доктор биологических наук, профессор, МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, кафедра физиологии и общей патологии, заведующий кафедрой

Чурин Алексей Александрович, доктор медицинских наук, профессор РАН, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, отдел лекарственной токсикологии, заведующий отделом

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России)

Защита состоится «__» _____ 2023 года в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.183.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова» (ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова») по адресу: 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ученой части ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» по адресу: 125315 Москва, ул. Балтийская, д. 8 и на сайте www.academpharm.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Вальдман Елена Артуровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

По данным Минздрава (МЗ) России, среди всех причин смертности болезни системы кровообращения (БСК), несмотря на определенную положительную динамику, занимают лидирующее положение и на 2018 год составили 46,3%. Так, в 2014 г. смертность от БСК составила 623,7 случаев на 100 тыс. В 2019 г. летальность от БСК продолжала расти и составила 633,0 случаев на 100 тыс. населения [ТАСС // Электронный ресурс. URL: <https://tass.ru/obschestvo/6627091> (дата обращения 24.10.2021)]. За 6 месяцев 2020 года (январь-июнь) в РФ от COVID-19 умерли 7 317 человек, больных с COVID-19 от других причин – 5 825 человек. За это же время от острого коронарного синдрома (ОКС) скончались 39 985 россиян, от ишемической болезни сердца (ИБС) – 220 719 человек [Шляхто, Е.В. // Электронный ресурс. URL: <https://doctorpiter.ru/articles/26524>, 22.09.2020 (дата обращения 24.10.2021)].

Согласно анализу, проведенному национальным медицинским исследовательским центром профилактической медицины, экономический ущерб от БСК составил 2,7 трлн. руб., что эквивалентно 3,2% ВВП [Концевая, А.В и др. // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2018. – Т.14, № 2. - С.156-166]. Одним из факторов является недостаточная эффективность существующих средств фармакотерапии. Поиск новых кардиотропных лекарственных средств и изучение кардиопротективного действия препаратов, используемых в клинической практике по другим показаниям, остается актуальной задачей.

Синтезированный и фармакологически изученный в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова под руководством академика РАН С.Б. Середенина оригинальный анксиолитик фабомотизола дигидрохлорид (афобазол) обладает сложным механизмом анксиолитического действия, включающим в себя агонистическое влияние на σ_1 -R [Середенин, С.Б. и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2009. - Т. 72, № 1. - С. 3-11]. Показано, что, помимо анксиолитической, фабомотизол проявляет и антиаритмическую, и антиишемическую активность, которая во многом связана с его сродством к σ_1 -R [Крыжановский, С.А и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2010. – т. 149, № 3. – С. 290-293, Середенин, С.Б. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2013. Т. 155, № 6. - С. 723-727], локализованным в кардиомиоцитах (КМ), что дает основание говорить о потенциальной возможности его применения в качестве кардиотропного лекарственного средства.

Степень разработанности проблемы

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова в течение многих лет проводятся исследования, посвященные изучению спектра и механизмов фармакологической активности фабомотизола. Показано, что препарат в условиях глобальной преходящей ишемии мозга, а также сочетанной ишемической патологии сердца и мозга вызывает усиление мозгового кровотока [52,29], обладает цитопротекторным, в частности нейропротекторным [Зенина,

Т.А.и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2005. - Т. 140, № 8. - С. 161-163., 2005; Мирзоян, Р.С. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2010. - Т. 73, № 5. - С. 2-7; Cuevas, J. et al. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2011. – Vol. 339, №1. – P.152-160], и кардиопротективным [Крыжановский, С.А. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. - Т. 149, № 3. – С. 290-293] действием. При изучении кардиопротективной активности фабомотизола было показано, что препарат проявляет антиаритмическую, противофибрилляторную [Столярук, В.Н. и др. // Вестник РАМН. – 2010, № 4. - С. 49-52] и антиишемическую активность [Крыжановский, С.А. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. - Т. 150, № 9. - С. 284-287]. Кардиотропное действие фабомотизола реализуется и у животных с денервированным миокардом [Столярук, В.Н. и др. // Вестник РАМН. – 2010, № 4. - С. 45-48], т.е. на уровне сердечной мышцы. В основе кардиопротективного действия препарата лежит его агонистическое влияние в отношении σ_1 -R, поскольку на фоне блокады рецепторов таковое не реализуется [Крыжановский, С.А. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. - Т. 149, № 3. – С. 290-293]. Вместе с тем, систематические исследования, посвященные изучению морфологических особенностей и молекулярных механизмов кардиопротективного действия анксиолитика фабомотизола, выполненные на трансляционных моделях, воспроизводящих основные клинико-диагностические критерии какой-либо патологии сердца, до настоящего времени не проводились.

Цель исследования. Морфологическая характеристика и оценка молекулярных и генопротекторных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола на моделях коронарогенного и некоронарогенного повреждения миокарда.

Задачи исследования

1. Морфологическая оценка особенностей кардиопротективного действия фабомотизола на моделях острого и подострого инфаркта миокарда (ИМ).
2. Морфологическая оценка особенностей кардиопротективного действия фабомотизола на модели хронической сердечной недостаточности (ХСН).
3. Изучение молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола на модели хронической сердечной недостаточности.
4. Морфологическая оценка особенностей кардиопротективного действия фабомотизола на модели алкогольной кардиомиопатии (АКМП) в сравнении с триметазидином.
5. Изучение электрофизиологических и молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола на модели алкогольной кардиомиопатии.
6. Изучение эффектов фабомотизола методом ДНК-комет на поврежденность ДНК в кардиомиоцитах на моделях инфаркта миокарда и алкогольной кардиомиопатии.

Научная новизна. Впервые на моделях острого и подострого инфаркта миокарда показано, что фабомотизол (15 мг/кг, в/б, ежедневно, 15 дней) уменьшает зону некроза, стимулирует ангиогенез в периинфарктной зоне, способствует сохранению структуры

кардиомиоцитов (КМ) и препятствует развитию патологического ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) сердца. Впервые на трансляционных моделях хронической сердечной недостаточности (ХСН) и алкогольной кардиомиопатии (АКМП) выявлены морфологические особенности кардиопротективного действия фабомотизола (15 мг/кг, в/б, ежедневно, 28 дней).

Показано, что фабомотизол в условиях ХСН препятствует нарушению структурной целостности КМ, способствует обратному ремоделированию миокарда, снижает экспрессию генов рецепторов ангиотензина и вазопрессина, регуляторных белков Ерас2, а также повышает уровень экспрессии гена $\sigma 1$ -R в КМ. Фабомотизол, как и триметазидин, в условиях АКМП понижает интенсивность жировой дистрофии миокарда, способствует восстановлению структурной целостности КМ и уменьшает степень патологического ремоделирования сердца. Фабомотизол на модели АКМП восстанавливает электрическую стабильность КМ и подавляет в КМ экспрессию генов инозитол-трифосфатных рецепторов 2-типа (IP3R2), рианодиновых рецепторов 2-типа (RyR2), регуляторных белков Ерас1 и Ерас2, кальмодулина (CaM). Впервые показана способность фабомотизола снижать выраженность ДНК-повреждений в КМ животных с экспериментальной патологией миокарда.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы обусловлена морфологическим подтверждением кардиопротекторного действия фабомотизола в моделях острого и хронического коронарогенного, а также некоронарогенного повреждения миокарда. Полученные данные о влиянии на экспрессию генов рецепторов и регуляторных белков в КМ в условиях экспериментальной патологии миокарда расширяют представления о молекулярных механизмах кардиопротекторного действия фабомотизола.

Результаты исследования могут составить основу для расширения показаний применения фабомотизола в клинической практике.

Методология и методы исследования. В настоящей работе использована методология моделирования острого и хронического коронарогенного, а также некоронарогенного повреждения миокарда с применением фармакологических, гистологических, морфометрических, электрофизиологических, генотоксикологических и молекулярных методов исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Фабомотизол на модели инфаркта миокарда защищает кардиомиоциты от ишемического поражения и препятствует развитию патологического ремоделирования сердца.

2. Фабомотизол на модели хронической сердечной недостаточности способствует восстановлению структурной целостности кардиомиоцитов и значимо уменьшает степень патологического ремоделирования сердца.

3. Фабомотизол в условиях модели хронической сердечной недостаточности уменьшает повышенную экспрессию генов рецепторов ангиотензина и вазопрессина, регуляторных белков Ерас2, а также повышает уровень экспрессии гена $\sigma 1$ -R в КМ.

4. Фабомотизол, как и триметазидин, понижает интенсивность жировой дистрофии миокарда, способствует восстановлению структурной цельности кардиомиоцитов и уменьшает степень патологического ремоделирования сердца на модели алкогольной кардиомиопатии.

5. Фабомотизол на модели алкогольной кардиомиопатии способствует восстановлению электрической стабильности кардиомиоцитов и подавляет в кардиомиоцитах повышенную экспрессию инозитол-трифосфатных рецепторов 2-типа (IP3-R2), рианодиновых рецепторов 2-типа (RyR2), регуляторных белков Ерас1 и Ерас2, кальмодулина (CaM).

6. Фабомотизол в условиях коронарогенной и некоронарогенной патологии миокарда оказывает генопротективное действие.

Степень достоверности и апробация работы. В настоящей работе были использованы адекватные и хорошо воспроизводимые методы исследования, соответствующие поставленным задачам. Статистическая обработка экспериментальных данных была проведена с применением современных методов математической статистики, что обеспечивает высокую степень достоверности полученных результатов. Основные результаты диссертационной работы были представлены на IV съезде фармакологов России «Инновации в современной фармакологии» (Казань, 18-23 сентября, 2012 г.), Первой Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Проблемы разработки новых лекарственных средств» (Москва, 3-5 июня, 2013 г.), Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика Н.П. Кравкова «Достижения современной фармакологической науки» (Рязань, 22-23 октября, 2015 г.), 6-й Международной конференции «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам» (Москва, 9-13 ноября, 2015 г.), II Всероссийской научной конференции «Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты», (Томск, 13 – 15 июня 2017 г.), V съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль, 14 – 18 мая, 2018 г.), Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина «Достижения современной фармакологической науки» (Рязань, 8-10 ноября, 2018 г.). Апробация диссертационной работы состоялась на расширенном заседании отдела лекарственной токсикологии и лаборатории фармакологического скрининга НИИ фармакологии имени В.В. Закусова 5 октября 2022 г.

Личный вклад автора состоит в анализе данных литературы по теме диссертационной работы, выполнении экспериментальной части исследования и анализа полученных результатов, проведении статистической обработки полученных данных,

формулировании положений и выводов, написании диссертационной работы. При активном участии соискателя подготовлены публикации по результатам диссертационной работы.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 29 научных работ, из них 11 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 4 статьи в журнале, входящем в РИНЦ, 1 патент РФ и 13 тезисов докладов в материалах научных конференций и съездов.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, главы результатов и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, и списка цитируемой литературы, включающего 271 источник. Работа изложена на 173 страницах компьютерного текста, содержит 48 рисунков и 8 таблиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Препараты и вещества, использованные при проведении исследований.

Средства для наркоза: кетамин ФГУП «Московский эндокринный завод»; уретан «Acros organics» Индия; эфир для наркоза ООО «Кузбассоргхим».

Субстанции: фабомотизола дигидрохлорид (афобазол) АО «Фармстандарт»; триметазидин АО «Фармстандарт» Россия.

Лекарственные средства: раствор натрия хлорида 0,9% изотонический ООО «Мосфарм»; спирт этиловый 96%; цефазолин-натрий ОАО «Биосинтез».

Реактивы для гистологии: раствор формалина 10% забуференный, ООО «Биовитрум»; раствор для гистологической проводки на основе изопропилового спирта IsoPrep, Эрго Продакшн, Россия; парафин Leica Paraplast, Leica Vyosystems, США; эозин 1% водный раствор, Эрго Продакшн, Россия; галлоцианин-хромовые квасцы, Serva, Германия; набор для окраски по Ван-Гизону, 100 тестов/упак., Эрго Продакшн, Россия; среда для заключения препаратов Leica CV Mount, Leica Vyosystems, США

Реактивы для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР): раствор RNAlater (Ambion, США); TRI[®]Reagent (Sigma, США); ДНКаза I; ЭДТА; гексамерные Random праймеры и обратная транскриптаза M-MuLV в составе набора RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (США); универсальный набор реактивов для проведения ПЦР «в реальном времени» (ПЦР-РВ, «Евроген» Россия); праймеры для генов ООО "ДНК-Синтез", Россия.

Реактивы для генотоксических исследований: фосфатно-солевой буфер (ФСБ); 0.9% раствор легкоплавкой агарозы; лизирующий буфер (10 mM Tris-HCl [pH 10], 2.5 M NaCl, 100 mM EDTA-Na₂, 1 % Triton X-100, 10% ДМСО); буфер 90 mM Tris-borate, 2 mM EDTA-Na₂ [pH 7.5] ; флуоресцирующий краситель SYBR Green I .

Животные. Исследования выполнены на 176 белых беспородных крысах самцах начальной массой 160-200 г, полученных из питомника лабораторных животных филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА Россия и содержавшихся в виварии в соответствии с

СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) от 29.08.2014 г № 51. Организацию и проведение работ осуществляли в соответствии с российскими и международными нормативно-правовыми документами: Приказом МЗ России № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 23.09.2010 г. по охране животных используемых в научных целях. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Методы воспроизведения коронарогенной патологии миокарда.

Острую ишемию миокарда и ИМ воспроизводили по методу A.I. Selye [Selye, A. I et. al. // *Angiology*. – 1960. - №11. – P. 398–407]. На вторые сутки после воспроизведения ИМ на наркотизированных кетамин (100 мг/кг в/б) крысах проводили эхокардиографические исследования и в дальнейший эксперимент отбирали только тех животных, у которых диагностировался передний трансмуральный ИМ. Критерием формирования постинфарктной ХСН было статистически значимое, по сравнению со 2-м днем после воспроизведения ИМ, снижение фракции выброса + дилатация левого желудочка (ЛЖ) сердца. ХСН развивается через 90 дней после перевязки коронарной артерии.

Метод воспроизведения некоронарогенной патологии миокарда

Для изучения некоронарогенной патологии миокарда была выбрана АКМП, которую моделировали на беспородных белых крысах-самцах изначальной массой 180-200 г. Животных подвергали принудительной алкоголизации, предоставляя в качестве единственного источника жидкости 10% раствор этанола. Среднесуточное потребление алкоголя в пересчете на чистый этанол колебалось в пределах 5.0-6.5 г/кг. АКМП развивается через 24 недели принудительной алкоголизации у животных.

Статистическая обработка результатов. Нормальность распределения выборок проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий по Левену. Большинство выборок имели нормальное распределение и их дисперсии не различались. В этих случаях для анализа данных применяли однофакторный ANOVA (3 и более выборок) с дальнейшей обработкой с помощью критерия множественных сравнений по Ньюмену-Кейлсу или t-критерия Стьюдента выборок (2 выборки). Результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Если допущения применения указанных выше методов не соблюдались, а также при измерениях в порядковых шкалах, использовали непараметрический аналог ANOVA по Крускалу-Уоллису с дальнейшей обработкой с помощью критерия множественных сравнений по Данну. Результаты выражали в виде медиан и нижнего и верхнего квартилей. Категориальные данные обрабатывали с помощью метода точной вероятности Фишера или критерия χ^2 с учетом множественности сравнений. Во всех случаях критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Изучение морфологических особенностей и молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола при коронарогенном повреждении миокарда

1.1. Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у животных с острым ИМ

Результаты патологоанатомического вскрытия свидетельствуют о том, что у контрольных животных (n=5), в отличие от ложнооперированных (n=6), форма сердца близка к шаровидной, а ниже места перевязки левой коронарной артерии на передней стенке ЛЖ визуализируется зона некроза, имеющая неправильную форму и сероватый оттенок. У крыс (n=5), получавших фабомотизол (15 мг/кг; в/б, ежедневно, с 1-го по 15-й день от момента перевязки левой коронарной артерии), форма сердца ближе к конусообразной, а зона некроза визуальна меньше. Согласно данным морфометрии у контрольных животных площадь ИМ составляет $11,7 \pm 1,2 \text{ мм}^2$ или $32,9 \pm 4,7\%$ от площади ЛЖ (Рисунок 1). У леченных животных этот показатель значительно меньше, соответственно $4,4 \pm 1,0 \text{ мм}^2$ ($p=0,002$) и $15,1 \pm 5,6\%$ ($p=0,042$). То же касается и площади полости ЛЖ – у леченных крыс она меньше, соответственно $13,8 \pm 2,9 \text{ мм}^2$ и $24,1 \pm 0,5 \text{ мм}^2$ ($p=0,024$). При проведении гистологических исследований показано, что у крыс, получавших фабомотизол, в периинфарктной зоне миокарда волнообразная деформация и фрагментация КМ менее выражены, чем в контроле, а ядра КМ хорошо различимы, имеют нормальную величину (Рисунок 2).



Рисунок 1 - Влияние систематической терапии фабомотизолом (15 мг/кг/сут в/б, 1-14 сут. после ИМ) на величину зоны некроза и размеры полости ЛЖ сердца крыс (% от площади ЛЖ) в условиях острой ишемии миокарда; * - $p \leq 0,05$ - по отношению к контрольной группе с ИМ

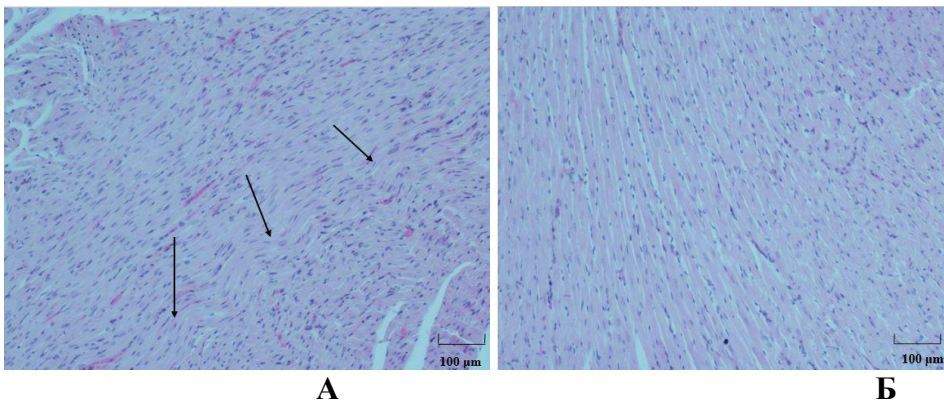


Рисунок 2 - А - микрофотография периинфарктной зоны миокарда крысы контрольной группы; Б - микрофотография периинфарктной зоны миокарда крысы, получавшей фабототизол 15 мг/кг/сут. 15 суток после ИМ. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение $\times 100$. Примечание: стрелками обозначены участки с волнообразной деформацией клеток сердечной мышцы

1.2. Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабототизола у животных с подострым ИМ

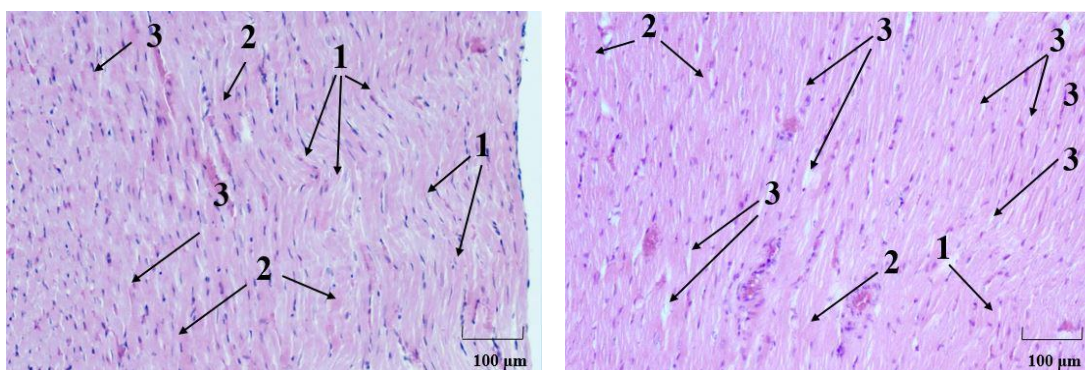
Визуальный осмотр сердец ложноперитонизированных животных ($n=8$), животных контрольной ($n=6$) и основной группы ($n=6$) позволяет сделать заключение о том, что их патологоанатомическая картина близка к таковой, описанной в разделе 1.1. Результаты морфометрии свидетельствуют о том, что фабототизол значительно уменьшает степень ремоделирования ЛЖ: площадь полости ЛЖ сердца у крыс, получавших фабототизол, была статистически значимо ($p=0002$) меньше, чем у контрольных животных – соответственно $14,68 \pm 0,68 \text{ мм}^2$ и $24,82 \pm 2,05 \text{ мм}^2$ (Рисунок 3), тогда как площадь миокарда ЛЖ у крыс, получавших фабототизол, была статистически значимо ($p=0,0122$) больше, чем у контрольных крыс. В отличие от контрольных животных, у крыс, получавших фабототизол, толщина передней стенки ЛЖ значительно больше, соответственно $1,50 \pm 0,34 \text{ мм}$ и $0,98 \pm 0,24 \text{ мм}$ ($p < 0,05$).



Рисунок 3 - Влияние терапии фабототизолом (15 мг/кг/сут., в/б) на площадь миокарда ЛЖ у крыс в условиях подострой ишемии (% от площади ЛЖ); * - $p \leq 0,05$ - по отношению к контрольной группе с подострой ишемией миокарда

Согласно данным микроскопического исследования, систематическая терапия фабототизолом, проводимая в период с 15-го по 28-й день после воспроизведения ИМ, способствует уменьшению волнообразной деформации и фрагментации КМ в периинфарктной зоне миокарда (Рисунок 4). Не менее важно и то, что у крыс, получавших

фабомотизол, перинфарктная зона была хорошо васкуляризирована, тогда как у животных контрольной группы количество сосудов в перинфарктной зоне незначительно (рисунок 4).



А

Б

Рисунок 4 - А - микрофотография перинфарктной зоны миокарда крысы контрольной группы; Б - микрофотография перинфарктной зоны миокарда крысы, получавшей фабомотизол 15 мг/кг/сут. 28 суток после ИМ. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение $\times 100$. Примечание: 1 – волнообразная деформация КМ; 2 – потеря поперечной исчерченности в КМ; 3 – капилляры в перинфарктной зоне миокарда

Таким образом, результаты морфологических исследований, выполненных на животных с острым и подострым ИМ, получавших фабомотизол, свидетельствуют о том, что препарат способствует сохранению гистоархитектоники миокарда, стимулирует в перинфарктной зоне репаративные процессы и улучшает ее васкуляризацию, способствует снижению интенсивности постишемического ремоделирования ЛЖ сердца, т.е. проявляет кардиопротективную активность.

1.3. Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у животных с ХСН

В качестве модели ХСН была использована разработанная нами трансляционная модель ХСН у крыс [Крыжановский, С.А. и др. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2018. - Т.62, № 2. - С. 129–135].

Результаты патологоанатомического вскрытия свидетельствуют о том, что у крыс, получавших фабомотизол, в отличие контрольных животных, сердца правильной конусообразной формы, однако визуально несколько больше, чем у ложнооперированных животных. Передняя стенка ЛЖ, по сравнению с контролем, менее истончена.

Согласно данным морфометрии, у контрольных животных площадь полости ЛЖ составляет $30,09 \pm 1,9$ мм² или $32,54 \pm 1,71$ % от площади ЛЖ, тогда как у леченных животных эти показатели значимо меньше, соответственно $21,98 \pm 1,79$ мм² ($p=0,006$) и $25,31 \pm 1,59$ % ($p=0,025$). Не менее важно и то, что толщина передней стенки ЛЖ и площадь миокарда у крыс с ХСН, получавших фабомотизол, статистически значимо больше, чем в контроле: соответственно $3,32 \pm 0,21$ мм и $1,36 \pm 0,14$ мм ($p=0,18$); $60,34 \pm 2,26$ мм² и $54,72 \pm 1,96$ мм² ($p<0,05$) (Рисунок 5).

При гистологической оценке состояния миокарда крыс, получавших фабототизол, показано, что в периинфарктной зоне, по сравнению с контролем, волнообразная деформация, вакуолизация и фрагментация КМ были незначительно выражены (рисунок 6).

Таким образом, результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что систематическая терапия фабототизолом животных с ХСН оказывает выраженное кардиопротективное действие, способствуя восстановлению гистоархитектоники ткани миокарда и уменьшению интенсивности ремоделирования ЛЖ сердца. Есть все основания полагать, что на фоне терапии фабототизолом происходит существенное восстановление сократительной функции ЛЖ сердца, поскольку, согласно результатам гистологической оценки состояния органов – мишеней (лёгкие, печень), в них отсутствуют патогномичные для ХСН признаки венозного застоя.

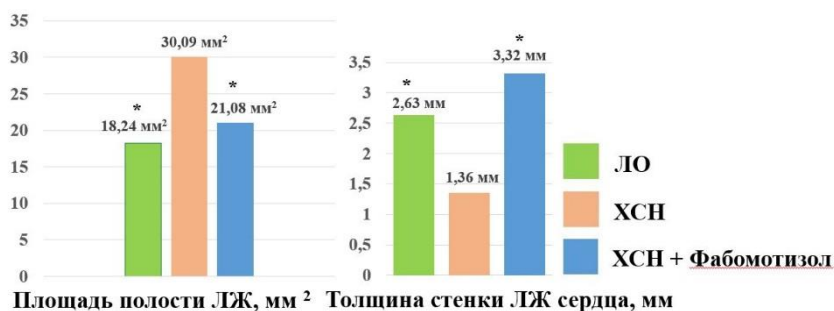
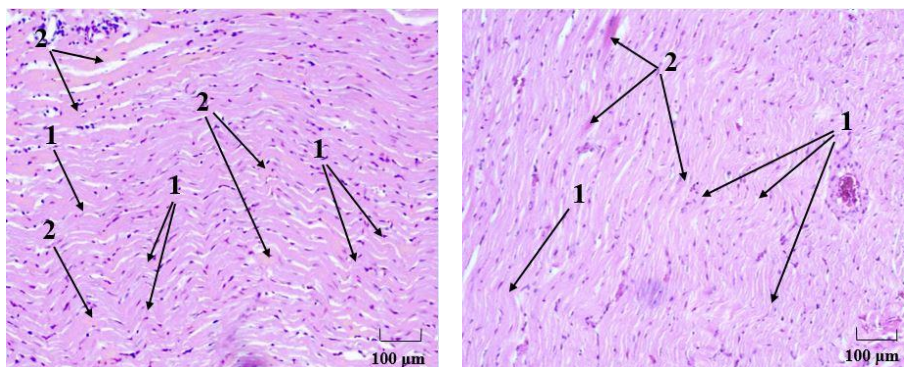


Рисунок 5 – Влияние терапии фабототизолом (15 мг/кг/сут., в/б, в течение 28-и дней) на размеры полости ЛЖ и толщину стенки ЛЖ сердца у животных со сформировавшейся ХСН; * - $p \leq 0,05$ - по отношению к контрольной группе с ХСН



А

Б

Рисунок 6 - А - микрофотография периинфарктной зоны миокарда крысы контрольной группы с ХСН; Б - микрофотография периинфарктной зоны миокарда крысы с ХСН, получавшей фабототизол 15 мг/кг/сут. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение $\times 100$. Примечание: 1 – волнообразная деформация КМ; 2 – потеря поперечной исчерченности в КМ

1.4. Изучение механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия фабототизола при коронарогенном повреждении миокарда

1.4.1. Изучение молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабототизола у животных с ХСН

Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия фабототизола, проводили на трансляционной модели ХСН у крыс. Результаты

молекулярных исследований свидетельствуют о том, что у крыс контрольной группы (n=6) в биоптатах тканей миокарда ЛЖ сердца по сравнению с ложнооперированными животными (n=11) статистически значимо увеличена экспрессия генов ангиотензиновых (AT1A-R) и вазопрессиновых (V1A-R) рецепторов – соответственно на 41% (p=0,006) и 33% (p<0,05), а также на 25% (p=0,03) возрастает содержание мРНК, кодирующей регуляторный белок Ерас2 (рисунок 7).

На фоне систематической терапии фабомотизолом (n=7) происходит статистически значимое по сравнению с ложнооперированными крысами уменьшение уровня экспрессии генов рецепторов AT1A-R (p=0,006), V1A-R (p<0,05) и белков Ерас2 (p=0,03), тогда как экспрессия генов σ_1 -R значимо (p=0,0377) возрастает (Рисунок 7).

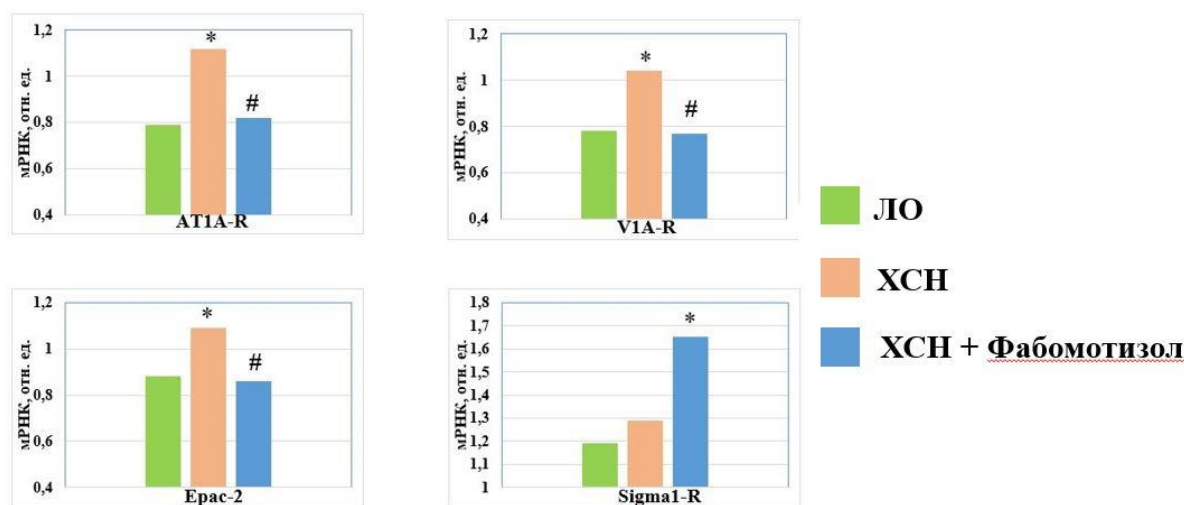


Рисунок 7 - Влияние фабомотизола (15мг/кг в/б 1 раз в сут., в течение 1 мес.) на уровень экспрессии генов ангиотензиновых рецепторов 1 типа (AT1-R), вазопрессиновых рецепторов 1 типа (V1A-R) и сигма-1 (Sigma1-R) рецепторов, а также регуляторных белков Ерас2 при терапевтическом (начиная с 90 сут. после воспроизведения ИМ) применении препарата у крыс с ХСН. Примечание: * - $p \leq 0,05$ - по отношению к группе ложнооперированных животных
- $p \leq 0,05$ - по отношению к контрольной группе с ХСН

Таким образом, результаты молекулярных исследований, посвященных изучению особенностей кардиопротективного действия фабомотизола в условиях ишемического повреждения миокарда, позволяют говорить о способности препарата воздействовать на различные звенья этого патологического процесса.

1.4.2. Изучение влияние фабомотизола на уровень ДНК-повреждений в миокарде крыс, перенесших острый ИМ

Оценку уровней ДНК-повреждений в ишемизированном миокарде производили в модельных экспериментах, воспроизводящих ИМ. Показано, что в препаратах ДНК-комет, взятых преимущественно из перинфарктной зоны миокарда, выявлены «малые» ДНК-кометы, не встречающиеся в клетках интактного миокарда. Эти «малые» ДНК-кометы имеют форму стандартных ДНК-комет (ширина головы и хвоста сопоставимы), но содержат значительно меньшее количество ДНК [Жанатаев, А.К. и др. // Цитология. - 2017. - Т. 59, №

3. - С. 163-168]. В перинфарктной зоне у крыс, получавших фабомотизол, количество клеток, содержащих «малые» ДНК-кометы, статистически значимо меньше, чем в контрольной группе – 25,4% ($p=0,009$) и 32,2% от всех изученных клеток, соответственно. Таким образом, систематическая экспериментальная терапия фабомотизолом способствует уменьшению количества атипичных ДНК-комет в перинфарктной зоне миокарда, что, возможно, связано со способностью препарата подавлять апоптоз ишемизированных КМ, однако этот вопрос требует дальнейшего углубленного изучения.

2. Изучение особенностей кардиопротективного действия фабомотизола при некоронарогенном повреждении миокарда

Кардиопротективные эффекты фабомотизола при некоронарогенном повреждении миокарда изучали на разработанной в НИИ фармакологии трансляционной модели АКМП у крыс, которая формируется через 24 недели после принудительного приема 10% алкоголя [Крыжановский, С.А. и др. // Молекулярная медицина. - 2015. - №3. - С.40-47]. В качестве эталонного препарата использовали р-FOX ингибитор триметазидин, который по мнению ряда кардиологов является препаратом выбора для лечения АКМП [Драпкина, О.М. и др. // Эффективная фармакотерапия в кардиологии и ангиологии. – 2008. - №1. – С.30-34; Kantor, P.F. et.al. // Circulation Research. – 2000 - № 86. – P. 580-588; Li, H. . et.al. // Experimental and therapeutic medicine. – 2016. – 12. – P. 979-982].

2.1. Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у животных с АКМП

Сердца животных из подгрупп алкоголированного контроля к фабомотизолу и триметазидину были увеличенными в размерах, округлой формы, с желтыми вкраплениями, тогда как форма сердец крыс, получавших исследуемые препараты, была близка к конусообразной, размеры сопоставимы с сердцами интактных животных.

Согласно данным морфометрии, степень дилатации желудочков сердца крыс, получавших фабомотизол, значимо меньше, чем у контрольных алкоголированных животных (рисунок 8). Так, если у контрольных животных ($n=6$) площадь полости ЛЖ составляет $11,58 \pm 1,76$ мм² или $22,5 \pm 2,8$ % от площади ЛЖ, то у леченных животных ($n=7$) эти показатели меньше, чем в контроле – соответственно $5,48 \pm 1,76$ мм² ($p \approx 0,0059$) и $10,0 \pm 2,6$ % ($p \approx 0,0004$). Тоже касается и площади правого желудочка (ПЖ) – у леченных крыс она также меньше, чем у контрольных животных, соответственно $3,35 \pm 0,45$ мм² и $5,18 \pm 0,59$ мм² ($p \approx 0,0021$). Близкие результаты зарегистрированы и у крыс, получавших триметазидин (рисунок 8).

Таким образом, результаты морфометрических измерений, полученные в этой серии экспериментов, свидетельствуют о том, что систематическая терапия фабомотизолом у крыс с АКМП, так же, как и терапия эталонным препаратом триметазидином, в условиях депривации алкоголя способствует значимому уменьшению размеров полостей ЛЖ и ПЖ сердца, что позволяет говорить о том, что препараты инициируют обратное ремоделирование миокарда.

При микроскопическом изучении препаратов миокарда крыс, получавших фабомотизол, показано, что их гистоархитектоника сохранена. Признаки нарушения реологии крови и полиморфизма КМ в поле зрения были существенно менее выражены, чем в контрольной группе (рисунок 9). Жировые включения в КМ и в межмышечной строме были обнаружены только у 2 животных из 7 в данной группе. Гистологическая картина миокарда крыс, леченных триметазином (n=8) не имела существенных отличий от таковой, обнаруженной у животных, получавших фабомотизол. Интенсивная жировая инфильтрация миокарда, характерная для контрольных алкоголизованных крыс, была обнаружена только у 1 животного из 8, а слабо выраженная жировая инфильтрация миокарда – у 2 крыс.

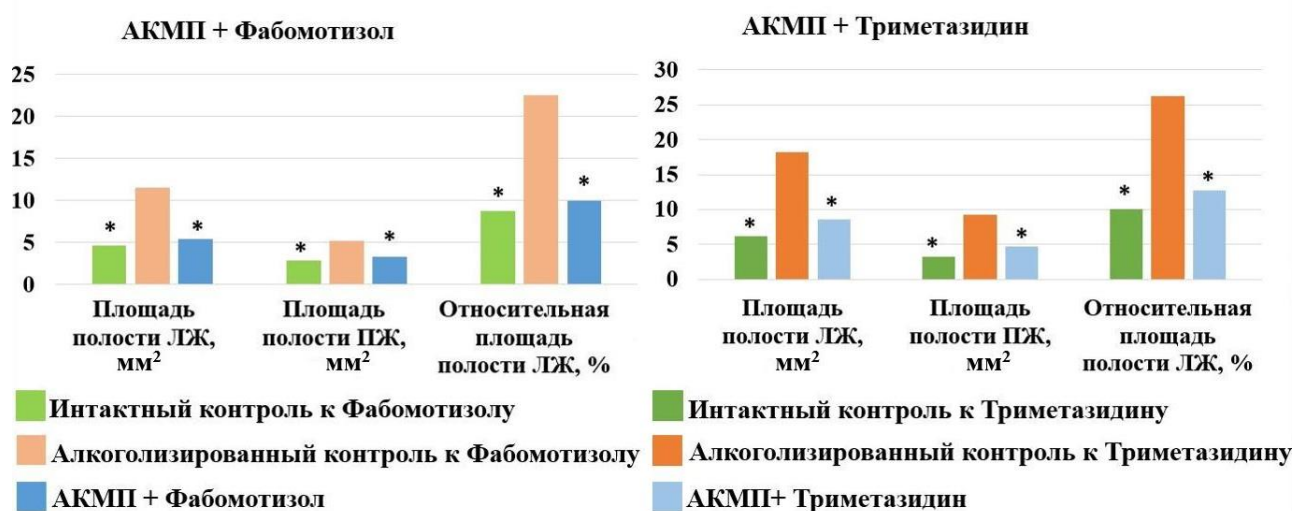


Рисунок 8 - Влияние фабомотизола (15 мг/кг/сут., в/б, в течение 28-и дней) или триметазида (30 мг/кг/сут., в/б, в течение 28 дней) на размеры полостей ЛЖ и ПЖ сердца крыс с АКМП в условиях алкогольной депривации; * - $p \leq 0,05$ - по отношению к алкоголизованному контролю

Таким образом, согласно результатам гистологического исследования, систематическая терапия фабомотизолом и эталонным препаратом триметазином, проведенная в условиях депривации алкоголя животных со сформировавшейся АКМП, способствует существенному уменьшению полиморфизма КМ, признаков нарушений реологии крови и жировой дистрофии миокарда. В целом эти результаты могут свидетельствовать о том, что препараты обладают кардиопротективной активностью. Также следует отметить, что, согласно результатам морфогистологических исследований, выполненных на модели АКМП, фабомотизол по своей активности, как минимум, не уступает эталонному препарату триметазидину.

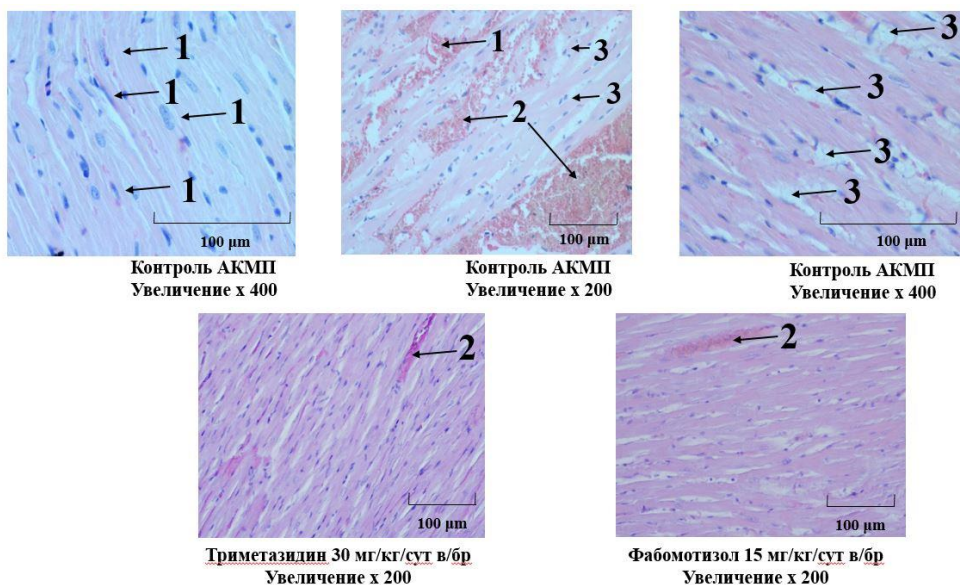


Рисунок 9 - Патологические изменения структуры миокарда крыс со сформировавшейся АКМП в условиях 28-дневной алкогольной депривации. Окраска галлоцианин-эозином. Примечание: 1 – диффузное полнокровие миокарда; 2 – жировая дистрофия миокарда; 3 – полиморфизм КМ

2.2. Изучение механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия фабототизола при некоронарогенном повреждении миокарда

2.2.1. Изучение влияния фабототизола на порог электрической фибрилляции сердца у животных с АКМП

Показано, что у контрольных алкоголизованных животных порог электрической фибрилляции сердца статистически значимо ($p \approx 0,009$) ниже, чем у интактных крыс, тогда как у крыс, получавших фабототизол, порог электрической фибрилляции желудочков сердца не отличался от такового у животных интактной группы (Таблица 1). Необходимо подчеркнуть, что если порог электрической фибрилляции $\geq 0,5$ миллиампер (мА) регистрировался у всех интактных животных и животных, получавших фабототизол, то у контрольных алкоголизованных крыс – только у 1 из 6 (Таблица 1).

Таблица 1 - Влияние фабототизола на порог электрической фибрилляции желудочков сердца (ПФЖ) у крыс со сформировавшейся АКМП

Показатель	Интактный контроль, n=6	Алкоголизованный контроль, n=6	Фабототизол, n=6	Триметазидин, n=5
ПФЖ, мА (медиана, верхний и нижний квартили)	0,7 0,5÷1,5 $p \approx 0,026$	0,4 0,4÷0,4	0,7 0,5÷0,7 $p \approx 0,026$	0,6 0,4÷0,6 $p \approx 0,51$
Кол-во крыс, у которых ПФЖ $\geq 0,5$ мА	6/6 $p \approx 0,023$	1/6	6/6 $p \approx 0,023$	3/5 $p \approx 0,59$
Примечание: p – указано по отношению к алкоголизованному контролю				

Полученные в этой серии экспериментов данные свидетельствуют о том, что систематическая экспериментальная терапия фабомотизолом животных со сформировавшейся АКМП способствует восстановлению электрической стабильности КМ, что существенно снижает риск возникновения злокачественных нарушений сердечного ритма, патогномоничных для АКМП. Триметазидин подобной активностью не обладает (Таблица 1).

2.2.2. Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с АКМП

На следующем этапе работы были исследованы возможные молекулярные механизмы, лежащие в основе способности препарата уменьшать интенсивность патологического ремоделирования сердца и восстанавливать электрическую стабильность КМ у крыс со сформировавшейся АКМП. Для этой цели методом ПЦР в реальном времени оценивали влияние фабомотизола на уровень экспрессии генов ключевых рецепторов и белков, ответственных за поддержание в КМ гомеостаза ионов Ca^{2+} и регуляцию их ритмической активности.

Показано, что в миокарде ЛЖ сердца у контрольных животных с АКМП (n=8) по сравнению с интактными животными (n=8) статистически значимо ($p < 0,05$) увеличена экспрессия генов инозитол-трифосфатных рецепторов 2-типа (IP3R2) и рианодиновых рецепторов 2-типа (RyR2), а также регуляторных белков Eras1 и Eras2 и кальмодулина (CaM) (рисунок 8). Иная картина наблюдается у животных, получавших систематическую экспериментальную терапию фабомотизолом (n=8), на фоне которой в КМ значимо уменьшается (практически до уровня, определенного у интактных животных) экспрессия генов IP3R2 ($p = 0,006$), RyR2 ($p = 0,031$) рецепторов и белков Eras1 ($p = 0,021$), Eras2 ($p = 0,018$) и CaM ($p = 0,00001$).

Таким образом, результаты молекулярных исследований свидетельствуют о том, что у крыс с АКМП в результате экспериментальной терапии фабомотизолом значимо подавляется аномальная экспрессия генов ключевых рецепторов и белков, ответственных за поддержание в КМ гомеостаза ионов Ca^{2+} и регуляцию их ритмической активности.

2.2.3. Изучение влияния фабомотизола на уровень повреждения ДНК в миокарде животных с АКМП

Показано, что у контрольных алкоголизованных крыс, по сравнению с интактными, в миокарде статистически значимо ($p=0,0002$) снижено количество так называемых «ghost cells» (клетки с сильно-поврежденной ДНК, «клетки-призраки») – соответственно 2,7% и 7,6%. У крыс, получавших фабомотизол, количество «ghost cells» практически не отличается ($p > 0,05$) от интактного контроля [Жанатаев, А.К. и др. // Фармакокинетика и фармакодинамика. - 2018. - №2. - С. 28-34]. Полагают, что возникновение ДНК-комет с сильно фрагментированной ДНК может свидетельствовать об активации репаративных процессов в клетках [Lorenzo, Y. et. al. // Mutagenesis. – 2013. – Vol. 28, №4. –P. 427-432].

Исходя из этого, можно с определенной долей уверенности полагать, что на фоне длительного токсического воздействия алкоголя в миокарде значительно снижается интенсивность репаративных процессов, о чем и свидетельствует скижение более чем на 70% количество «ghost cells», тогда как на фоне терапии фабомотизолом происходит активация репаративных процессов, о чем свидетельствует воостановление до уровня интактных животных количества «ghost cells».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов морфогистологических особенностей действия фабомотизола свидетельствует о том, что систематическая терапия препаратом (15 мг/кг, в/б ежедневно в течение 15 дней), начатая в условиях острого и подострого ИМ, способствует уменьшению зоны некроза и сохранению гистологической картины КМ, стимулирует ангиогенез в перинфарктной зоне, снижает интенсивность постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца, а также в существенной мере восстанавливает массу функционального миокарда.

Морфогистологические исследования особенностей действия фабомотизола, выполненные на трансляционной модели постинфарктной ХСН у крыс, продемонстрировали, что систематическая терапия препаратом оказывает определенное кардиопротекторное действие: в перинфарктной зоне миокарда ЛЖ сердца леченных животных, в отличие от контрольных, большая часть КМ имели нормальную форму и величину с сохраненной поперечной исчерченностью миофибрилл и ядрами нормальной формы и величины. КМ в состоянии дистрофии практически отсутствовали. Результаты морфометрии свидетельствуют о том, что терапия фабомотизолом способствует обратному ремоделированию ЛЖ сердца, что дает основание полагать, что препарат уменьшает тяжесть течения ХСН. Это предположение подтверждают результаты гистологической оценки состояния органов-мишеней (легкие, печень), в которых застойные явления выражены в значительно меньшей степени, чем у контрольных животных с ХСН.

При изучении на модели ХСН молекулярных механизмов, лежащих в основе кардипротективного действия фабомотизола, было показано, что препарат воздействует на различные звенья этого патологического процесса: как следует из полученных данных, на фоне терапии препаратом в миокарде подавляется выявленная у контрольных животных аномальная экспрессии AT1-R и V1A-R рецепторов. Поскольку хорошо известно, что патогенез ХСН во многом связан с гиперактивностью таких нейрогуморальных регуляторов как ренин-ангиотензин-альдостероновая система и гипоталамо-гипофизарная система, естественно, что снижение практически до уровня зарегистрированного у ложнооперированных крыс экспрессии акцепторов действия ангиотензина II и вазопрессина – AT1-R и V1A-R рецепторов, – может лежать в основе способности препарата препятствовать развитию/уменьшать интенсивность постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца. Подавление под влиянием фабомотизола гиперэкспрессии регуляторных белков Eрас2, по всей видимости, будет способствовать снижению активности сопряженных с ними

проаритмических сигнальных каскадов, что в условиях ХСН представляется достаточно важным, поскольку при этой патологии крайне высок риск развития злокачественных нарушений сердечного ритма, особенно фибрилляции предсердий. Не менее важным представляется и тот факт, что препарат значимо увеличивает в КМ экспрессию σ_1 -R, с чем может быть связана его способность повышать в условиях ХСН инотропную функцию ЛЖ сердца, а также, возможно, улучшать пластические свойства миокарда. Исходя из результатов генотоксических исследований, можно полагать, что определенный вклад в кардиопротективную активность препарата вносит его способность в условиях ишемии миокарда уменьшать интенсивность апоптоза КМ.

При морфогистологическом исследовании особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у животных с АКМП на фоне депривации было показано, что систематическая терапия препаратом способствует развитию обратного ремоделирования миокарда, существенному уменьшению полиморфизма КМ и признаков жировой дистрофии миокарда. Близкий результат был получен и при изучении морфогистологических особенностей кардиопротективного действия эталонного препарата триметазидина. Результаты этой серии экспериментов позволяют сделать заключение о том, что фабомотизол по своей способности в условиях АКМП инициировать обратное ремоделирование миокарда, восстанавливать гистологическую картину КМ и уменьшать жировую дистрофию миокарда, как минимум, не уступает эталонному препарату триметазидину.

При проведении экспериментов по изучению влияния фабомотизола на порог электрической фибрилляции желудочков сердца было показано, что препарат восстанавливает до уровня у интактных животных вдвое сниженный у контрольных животных с АКМП порог электрической фибрилляции сердца, что позволяет говорить о том, что на фоне систематической терапии фабомотизолом восстанавливается электрическая стабильность КМ. Результаты этой серии экспериментов представляются достаточно важными, поскольку известно, что основным клиническим проявлением АКМП, помимо ХСН, являются злокачественные нарушения сердечного ритма, которые у 30-40% пациентов приводят к внезапной сердечной смерти. В отличие от фабомотизола, эталонный препарат триметазидин не влияет на порог электрической фибрилляции желудочков сердца у животных с АКМП.

В основе способности фабомотизола повышать электрическую стабильность КМ, т.е. проявлять антиаритмическую активность, согласно результатам молекулярных исследований, лежит способность препарата подавлять аномальную экспрессию $RyR2$ и IP_3R2 рецепторов и регуляторных белков CaM и $Eras2$, избыточная активация которых инициирует утечку ионов Ca^{2+} из депо саркоплазматического ретикулума (СПР) и тем самым повышает аритмогенный потенциал КМ. Этот эффект препарата, скорее всего, связан с его агонистическим влиянием на σ_1 -R КМ, поскольку известно, что σ_1 -R регулируют выброс

ионов Ca^{2+} из депо СПР, как минимум, посредством модуляции активности IP_3R2 и $RyR2$ рецепторов.

Определенный вклад в кардиопротективное действие фабомотизола в условиях АКМП может внести и его способность активировать в миокарде репаративные процессы, которые, согласно результатам генотоксических исследований, связаны со способностью препарата восстанавливать в КМ содержание «ghost cells».

Все вышесказанное позволяет заключить, что в настоящем исследовании полностью реализованы стоящие перед ним задачи.

ВЫВОДЫ

1. Фабомотизол (15 мг/кг, в/б, ежедневно, 15 дней) значительно уменьшает зону некроза, стимулирует ангиогенез в перинфарктной зоне, сохраняет микроскопическую картину кардиомиоцитов и снижает интенсивность постинфарктного ремоделирования левого желудочка сердца на моделях острого и подострого инфаркта миокарда у крыс.

2. Фабомотизол (15 мг/кг, в/б, ежедневно, 28 дней) восстанавливает микроскопическую картину кардиомиоцитов, вызывает обратное ремоделирование левого желудочка сердца и уменьшает тяжесть течения хронической сердечной недостаточности.

3. Фабомотизол (15 мг/кг, в/б, ежедневно, 28 дней) в условиях трансляционной модели алкогольной кардиомиопатии у крыс, как и триметазидин, способствует обратному ремоделированию миокарда, уменьшению полиморфизма кардиомиоцитов и признаков жировой дистрофии миокарда, однако, в отличие от триметазида, повышает электрическую стабильность миокарда.

4. Кардиопротективное действие фабомотизола в условиях хронической сердечной недостаточности реализуется на фоне подавления экспрессии генов ангиотензиновых рецепторов I типа ($AT1-R$), вазопрессиновых рецепторов I типа ($V1A-R$) и регуляторных белков $Eras2$, а также увеличения экспрессии генов сигма-1-рецепторов ($\sigma1-R$).

5. Фабомотизол в условиях модели алкогольной кардиомиопатии у крыс подавляет экспрессию генов риаодиновых рецепторов II типа ($RyR2$), инозитол-трифосфатных рецепторов типа II ($IP3R2$), регуляторных белков кальмодулина (CaM), $Eras1$ и $Eras2$.

6. Фабомотизол уменьшает в кардиомиоцитах показатель «малые» ДНК-кометы на модели инфаркта миокарда и нормализует поврежденность ДНК по показателю «клетки-призраки» на модели алкогольной кардиомиопатии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты, полученные на моделях коронарогенной и некоронарогенной патологии миокарда, свидетельствуют, что фабомотизол уменьшает степень патологического ремоделирования сердца, способствует сохранению структуры кардиомиоцитов, снижает в них выраженность ДНК-повреждений. В условиях хронической сердечной недостаточности фабомотизол подавляет экспрессию генов ангиотензиновых рецепторов I типа, вазопрессиновых рецепторов I типа, регуляторных белков $Eras2$, а также увеличивает экспрессию генов сигма-1-рецепторов. В условиях алкогольной кардиомиопатии

фабомотизол восстанавливает электрическую стабильность кардиомиоцитов, подавляет экспрессию генов рианодиновых рецепторов II типа, инозитол-трифосфатных рецепторов II типа, регуляторных белков кальмодулина, Eras1 , Eras2 . Полученные результаты выявляют ранее неизвестные свойства фабомотизола и дают основания для постановки вопроса о расширении показаний его применения в клинической практике.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях

1. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Колик Л.Г., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Ионова Е.О., Сорокина А.В., **Мирошкина И.А.**, Дурнев А.Д., Середенин С.Б. О возможности использования афобазола для лечения алкогольной кардиомиопатии и профилактики сопутствующих ей осложнений // Молекулярная медицина. 2015. - № 4. -С.35-42.
2. Крыжановский С.А., Колик Л.Г., Цорин И.Б., Ионова Е.О., Столярук В.Н., Сорокина А.В., Вититнова М.Б., **Мирошкина И.А.** Доказательство валидности эхокардиографии в модельных экспериментах на мелких животных. Бюл. эксп. биол. и медицины. – 2016. - Том 161, № 3. – С. 416-420.
3. Жанатаев А.К., Анисина Е.А., Чайка З.В., **Мирошкина И.А.**, Дурнев А.Д. Феномен атипичных ДНК-комет. Цитология. 2017; 59 (3): 163-168.
4. **Мирошкина И.А.**, Ионова Е.О., Надорова А.В., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Сорокина А.В., Колик Л.Г., Дурнев А.Д., Цорин И.Б., Крыжановский С.А. Кардиопротективное действие триметазидина у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в период абстиненции. Молекулярная медицина. 2018; 16(1): 44-50.
5. **Мирошкина И.А.**, Ионова Е.О., Сорокина А.В., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Цорин И.Б., Колик Л.Г., Крыжановский С.А., Дурнев А.Д. Сравнительное изучение кардиопротекторного действия триметазидина и фабомотизола гидрохлорида у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в условиях абстиненции. 2018. Молекулярная медицина 2018; 16(3): 58-64.
6. Крыжановский С.А., Кожевникова Л.М., Цорин И.Б., Суханова И.Ф., Ионова Е.О., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., **Мирошкина И.А.**, Середенин С.Б. К механизму кардиопротективного действия агониста σ_1 -рецепторов анксиолитика фабомотизола гидрохлорида (афобазола). Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018; 165(5): 605-609.
7. Крыжановский С.А. Цорин И.Б., Ионова Е.О., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Барчуков В.В., **Мирошкина И.А.**, Сорокина А.В., Кожевникова Л.М., Дурнев А.Д. Трансляционная модель хронической сердечной недостаточности у крыс. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2018; 62(2): 136-148.
8. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., **Мирошкина И.А.**, Кожевникова Л.М. Оценка экспрессии рецепторных и регуляторных белков в миокарде крыс в условиях трансляционной модели хронической сердечной недостаточности. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2018; 62(4): 28-35.

9. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Ионова Е.О., Барчуков В.В., **Мирошкина И.А.**, Сорокина А.В., Кожевникова Л.М., Дурнев А.Д. Хроническая сердечная недостаточность: трансляционная модель // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – 167 (5): 655-660.
10. Крыжановский С.А., **Мирошкина И.А.** Роль сигма-1 рецепторов в регуляции деятельности сердца. Часть 1. Структура, локализация и функциональная активность сигма-1 рецепторов в кардиомиоцитах. Физиология человека. 2021. Т. 47. № 2. С. 101-115.
11. Крыжановский С.А., **Мирошкина И.А.**, Ионова Е.О. Роль сигма-1 рецепторов в регуляции деятельности сердца. Часть 2. Роль сигма-1 рецепторов в кардиопротекции. Физиология человека. 2021. Т. 47. № 4. С. 124-134.

Статьи в журнале, индексируемом в РИНЦ

1. Цорин И.Б., **Мирошкина И.А.**, Ионова Е.О., Надорова А.В., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Сорокина А.В., Колик Л.Г., Дурнев А.Д., Крыжановский С.А. Сравнительное изучение кардиопротекторного действия триметазидина и фабомотизола гидрохлорида у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в условиях продолжающегося потребления этанола. Фармакокинетика и фармакодинамика. 2016; 3: 38-41.
2. Жанатаев А.К., **Мирошкина И.А.**, Цорин И.Б., Чайка З.В., Крыжановский С.А., Дурнев А.Д. Поврежденность ДНК в клетках миокарда крыс с экспериментальной алкогольной кардиомиопатией: модифицирующие эффекты фабомотизола и триметазидина. Фармакокинетика и фармакодинамика. 2018; 2: 28-34.
3. **Мирошкина И.А.**, Кожевникова Л.М., Цорин И.Б., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А., Дурнев А.Д. К механизму антиаритмического действия фабомотизола дигидрохлорида при алкогольной кардиомиопатии. Фармакокинетика и фармакодинамика. 2021; 1: 37–44.
4. **Мирошкина И.А.** Сорокина А.В. Цорин И.Б. Столярук В.Н. Вититнова М.Б., Крыжановский С.А., Дурнев А.Д. Изучение влияния фабомотизола дигидрохлорида на морфологическую картину левого желудочка сердца у крыс с подострым инфарктом миокарда. Фармакокинетика и фармакодинамика. 2021; 4: 29–35.

Тезисы

1. Мирошкина И.А. Морфологическая оценка кардиопротективного действия афобазола на модели острой и хронической ишемии миокарда у крыс // Материалы IV съезда фармакологов России «Инновации в современной фармакологии» – Москва, 2012. –С.132.
2. Мирошкина И.А. Морфометрическая оценка кардиопротективного действия афобазола на модели хронической ишемии миокарда у крыс // Материалы Первой Всероссийской Научно-практической конференции молодых учёных «Проблемы разработки новых лекарственных средств» – Москва, 2013. –С.69.
3. Мирошкина И.А. Морфологическая оценка кардиопротекторных эффектов афобазола на трансляционной модели алкогольной кардиомиопатии у крыс // Достижения современной фармакологической науки. Сборник материалов Всероссийской конференции молодых ученых с Международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика Н.П. Кравкова. – Рязань, 2015. – С. 204-208.

4. Мирошкина И.А., Ионова Е.О. Изучение влияния афобазола на ремоделирование левого желудочка сердца на модели острого инфаркта миокарда // Достижения современной фармакологической науки. Сборник материалов Всероссийской конференции молодых ученых с Международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика Н.П. Кравкова. – Рязань, 2015. – С. 208-213.
5. Цорин И.Б., Колик Л.Г., Ионова Е.О., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Сорокина А.В., Мирошкина И.А., Надорова А.В., Варков А.И., Крыжановский С.А. Афобазол как кардиопротектор при алкогольной кардиомиопатии // Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. 6-я Международная конференция «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам». Материалы конференции. – 2015. – С. 62.
6. Мирошкина И.А. Морфо-гистологические критерии повреждения миокарда в условиях длительной алкоголизации крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. II Всероссийская научная конференция «Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты». Материалы конференции. 13 – 15 июня 2017 года. 2017; 80 (6). Приложение: 20.
7. Цорин И.Б., Столярук В.Н., Ионова Е.О., Вититнова М.Б., Мирошкина И.А., Колик Л.Г., Экспериментальная модель хронического алкоголь-обусловленного поражения сердца. Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. II Всероссийская научная конференция «Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты». Материалы конференции. 13 – 15 июня 2017 года. 2017; 80 (6). Приложение: 32.
8. Вититнова М.Б., Кожевникова Л.М., Цорин И.Б., Ионова Е.О., Столярук В.Н., Мирошкина И.А., Крыжановский С.А., Середенин С.Б. Изучение механизмов кардиопротективного действия агониста σ_1 -рецепторов анксиолитика афобазола. Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств». Материалы съезда. 14 – 18 мая 2018 года, г. Ярославль. 2018; 81. Приложение: 43.
9. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Ионова Е.О., Барчуков В.В., Мирошкина И.А., Дурнев А.Д. Трансляционная модель сердечной недостаточности. Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств». Материалы съезда. 14 – 18 мая 2018 года, г. Ярославль. 2018; 81. Приложение: 128.
10. Мирошкина И.А., Ионова Е.О., Цорин И.Б., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Сорокина А.В., Крыжановский С.А., Дурнев А.Д. Изучение особенностей кардиопротекторного действия триметазидина и афобазола у крыс с алкогольной кардиомиопатией. Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств». Материалы съезда. 14 – 18 мая 2018 года, г. Ярославль. 2018; 81. Приложение: 159.
11. Мирошкина И.А. Ионова Е.О., Цорин И.Б., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Сорокина А.В., Крыжановский С.А., Дурнев А.Д. Сравнительное изучение особенностей кардиопротекторного действия триметазидина и афобазола у крыс с алкогольной кардиомиопатией // Материалы Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина «Достижения современной фармакологической науки» / под ред. Е.Н. Якушевой. –Рязань: ОТСиОП РязГМУ, 2018. – 118 с. - С.76.
12. Мирошкина И.А. К механизму кардиопротективного действия фабомотизола гидрохлорида. II научная конференция молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии». Материалы конференции. Москва, 28–29 октября 2021 г. С. 25.
13. Мирошкина И.А. Сигма-1 рецепторы как биомишень для создания оригинальных кардиотропных лекарственных средств. II научная конференция молодых ученых с

международным участием «Актуальные исследования в фармакологии». Материалы конференции. Москва, 28–29 октября 2021 г. С. 140.

Патент

1. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Ионова Е.О., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Барчуков В.В., Мирошкина И.А., Сорокина А.В., Кожевникова Л.М., Дурнев А.Д., Середенин С.Б. Трансляционная модель хронической сердечной недостаточности: способ и критерии оценки формирования. Патент на изобретение 2744681 С1, 15.03.2021. Заявка № 2018126602 от 19.07.2018.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АКМП – алкогольная кардиомиопатия

БСК – болезни системы кровообращения

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМ – инфаркт миокарда

КМ – кардиомиоциты

ЛЖ – левый желудочек сердца

ЛО – ложноперированные животные

мРНК – матричная РНК

ОКС – острый коронарный синдром

ПЖ – правый желудочек сердца

ПЦР - полимеразная цепная реакция

СПР – саркоплазматический ретикулум

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ANOVA - дисперсионный анализ ANalysis Of VAriance

AT1A-R - рецептор ангиотензина II подтипа AT1

CaM - кальмодулин

Ерас - exchange proteins directly activated by cAMP, регуляторные белки, напрямую активируемые циклическим аденозинмонофосфатом

IP3R2 - инозитол-трифосфатный рецептор 2-типа

eNOS - эндотелиальная синтаза оксида азота

p-FOX ингибитор - partial fatty acid oxidation inhibitor, ингибитор β -окисления жирных кислот

RyR2 – рианодиновый рецептор 2-типа

σ_1 -R - σ_1 -рецептор

V1A-R – рецептор к вазопрессину 1 типа