

615.22: 616.124 - 005.8(043.3)

ТЧ 7

АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ

На правах рукописи

Для служебного пользования

экз. №

ТИШКИН

Владимир Сергеевич

КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ
СРЕДСТВ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ В КОМБИНИРОВАННОЙ
ТЕРАПИИ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

14.00.25 - фармакология

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

1990

МОСКВА

Работа выполнена в Запорожском медицинском институте
Министерства здравоохранения УССР

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор В.В. Дунаев

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор Л.Д. Лукьянова

доктор медицинских наук, профессор Ю.Б. Белоусов

доктор медицинских наук, профессор Е.Г. Изжмов

Ведущее учреждение:

Всесоюзный научно-исследовательский химико-фармацевтический
институт им. С.Орджоникидзе

Защита состоится " 20 " июня 1990 г. в _____ час.
на заседании Специализированного Совета (Д 001.25.01) при
Научно-исследовательском институте Фармакологии АМН СССР
(Москва, ул.Балтийская, 8)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Научно-иссле-
довательского института Фармакологии АМН СССР.

Автореферат разослан " _____ " _____ 1990 г.

Ученый секретарь
Специализированного Совета
доктор медицинских наук

А.Н. Чворский

Актуальность проблемы. Ишемическая болезнь сердца – одна из наиболее актуальных проблем современной медицины. Широкая распространенность, высокий уровень заболеваемости, смертности и инвалидизации населения развитых стран диктуют настоятельную необходимость совершенствования мер профилактики и лечения ИБС (Е.И.Чазов, 1980; Ю.П.Лисицин, 1982, 1987; В.К.Овчаров, В.А.Быстрова, 1982; Е.В.Кокурина, В.И.Метелица, 1988; И.К.Шхвацабая, Н.В.Каверина, В.И.Метелица, 1978; Gillum R.E., 1984; J.Stamler, 1985).

В настоящее время накоплен огромный фактический материал по этиологии, патогенезу, клинике и оценке эффективности существующих методов терапии ИБС (Е.И.Чазов, 1980; Ф.З.Меерсон, 1984; Н.К.Фуркало, В.В.Братусь, Р.А.Фролькис, 1986; Л.И.Ольбинская, П.Ф.Литвицкий, 1986; Л.Х.Опи, 1988; L.D.Hills, E.Braunwald, 1977; L.Opie, 1980; J.T.Willerson, L.M.Buja, 1980, 1981).

При его оценке становится очевидным, что в арсенале врачей имеется достаточное количество высокоэффективных средств воздействия на основное звено патогенеза ИБС – дисбаланс между поставкой и потребностью миокарда в кислороде – путем увеличения объемной скорости коронарного кровотока и торможения сократительной функции сердца (нитраты, бета-блокаторы, антагонисты кальция и др.).

В соответствии с современными представлениями о патогенезе ИБС одним из наиболее важных его звеньев является нарушение метаболизма миокарда. Однако набор средств коррекции обменных нарушений в миокарде ограничивается глюкозо-инсулино-калиевой смесью, рибоксином, панангином, ретаболилом и некоторыми другими.

Сформированным с начала 60-х годов научным направлением исследований молекулярных механизмов гипоксических состояний и путей коррекции доказывается возможность формирования активной резистентности клеток к дефициту кислорода путем коррекции метаболизма, создаются теоретические основы ме-

81 Н-041635

ОБЯЗАТЕЛЬНЫЙ
ЭКСПЛИЦИТ

ЗАПОРЯДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
БИБЛИОТЕКА

таболической терапии (М.Н.Кондрашова, 1972, 1976, 1989; Л.Д.Лукьянова, 1989; В.В.Гацура, 1984; Ю.Г.Бобков с соавт., 1984; В.М.Виноградов с соавт., 1981; Л.В.Пастушенков, 1989). При этом подчеркивается перспективность принципа подражания естественным компенсаторным метаболическим путям и считается, что это направление должно быть основным содержанием терапии ИБС (Ф.З.Меерсон, 1984).

В настоящее время проводятся активные изыскания средств метаболической защиты миокарда, создаются соответствующие препараты - фосфокреатин (В.А.Сакс с соавт., 1975-1989), гексозофосфат (В.В.Личугин, С.А.Сумин, В.В.Гацура, 1980), амтизол (Л.В.Пастушенков с соавт., 1985). Клиническими испытаниями выявлена высокая эффективность противоишемического действия фосфокреатина (М.В.Самаренко, 1986; А.П.Голиков с соавт., 1987). В практической кардиологии разрабатываются новые методы терапии острого инфаркта миокарда по принципу интенсивной коррекции метаболизма (Л.А.Лещинский с соавт., 1986).

Вместе с тем, в теоретическом плане еще не ясна роль нарушений отдельных лимитирующих звеньев энергетического обмена и компенсаторных метаболических путей в формировании ишемического повреждения миокарда (М.Н.Кондрашова, 1989; Л.Д.Лукьянова, 1989; Л.Х.Опи, 1988). Наличие таких сведений позволяет определить приоритетные направления коррекции метаболизма ишемизированного миокарда. Очевидна необходимость поиска и создания новых средств метаболической защиты миокарда на основе природных соединений и их синтетических аналогов (Ф.З.Меерсон, 1984).

В практической кардиологии еще не определены принципы метаболической терапии, регламентирующие научно-обоснованный выбор препаратов, режим дозирования, рациональное комбинирование. Учитывая многокомпонентность патогенеза ИБС, комбинирование препаратов является существенным резервом повышения терапии (Л.Д.Лукьянова, 1989)

Цель и задачи исследования. В целях повышения эффективности терапии ИБС определить пути направленной коррекции метаболизма ишемизированного миокарда, разработать принципы рационального комбинирования и дифференцированного назначения препаратов, влияющих на обменные процессы, осуществить поиск новых средств метаболической защиты миокарда.

Поставленная цель определила следующие задачи:

1. В экспериментах с ишемией миокарда провести сравнительную оценку степени нарушения отдельных лимитирующих звеньев обмена и роли компенсаторных метаболических путей в формировании активной резистентности сердечной мышцы к дефициту кислорода.

2. Изучить в эксперименте противоишемическое действие широкого набора препаратов, влияющих на метаболизм и их эффекты в отношении обменных процессов в ишемизированном миокарде.

3. На основе результатов фармако-биохимических исследований ишемизированного миокарда разработать комбинации средств метаболической коррекции и провести клинико-экспериментальную оценку их эффективности при ИБС.

4. Путем корреляционного анализа биохимических показателей выявить адекватные критерии оценки состояния отдельных метаболических путей для их использования в клинической практике с целью дифференцированного выбора коррегирующих медикаментозных средств.

5. Осуществить направленный поиск новых кардиопротекторов с метаболическим типом действия среди природных соединений и их синтетических аналогов.

Научная новизна. В работе применена оригинальная методология фармако-биохимических исследований ишемии миокарда, позволявшая выявить новые факты о механизмах его биохимической адаптации. Впервые дана сравнительная оценка противоишемических эффектов средств, влияющих на метаболизм, получены новые данные о механизмах их защитного действия. Предложены оригинальные субст-

ратно-коферментные комплексы, существенно повышающие эффективность терапии ИБС. Разработаны не описанные в литературе критерии ишемического повреждения миокарда. Выявлены новые химические соединения, обладающие выраженной антигипоксической и кардиопротективной активностью.

Теоретическое значение. Показана роль пентозо-фосфатного шунта и малат-аспартатного челночного механизма транспорта восстановительных эквивалентов в сохранении структурно-функциональной целостности кардиомиоцитов при ишемии. Выявлена взаимосвязь ишемических нарушений биоэнергетического обмена, процессов биосинтеза белка и активации перекисного окисления липидов в миокарде, сыворотке крови и эритроцитах. Показана терапевтическая ценность корректирующей терапии по принципу субстратной индукции компенсаторно активируемых при ишемии метаболических путей. Получены данные о фармако-биохимических механизмах противоишемического действия экзогенных субстратов окисления, коферментов, антигипооксидантов, аминокислотных и анаболических препаратов. Выявлено наличие выраженного кардиопротективного эффекта у синтетических аналогов предшественников синтеза гуанилатов - производных 1,2,4-триазолов.

Практическая ценность. Предложены оригинальные субстратно-коферментные комплексы, повышающие эффективность терапии острого мелкоочагового инфаркта миокарда и прогрессирующей стенокардии. Предложены доступные биохимические тесты для практического использования их с целью дифференцированного выбора средств метаболической коррекции. Сформулированы новые принципы корректирующей метаболизм миокарда терапии при острой ишемии. Выявлено наличие выраженных противоишемических свойств среди разрешенных к применению по другим показаниям препаратов (пиридоксальфосфат, флави-нат, α -глицерофосфат, глутаминовая кислота). ^(Поучито) Дано экспериментальное обоснование целесообразности проведения клинических испытаний

новых инъекционных форм пикамилаона, карнитина хлорида и тиотриазолина, рекомендованных в качестве средств метаболической защиты миокарда при ИБС.

Внедрение результатов исследования в практику. Теоретические положения внедрены в учебный процесс Запорожского, Киевского, Одесского, Крымского медицинских институтов. Принципы метаболической коррекции при некрозе миокарда, критерии оценки ишемического повреждения миокарда и состояния патофизиохимических процессов, оригинальные комбинации препаратов для лечения ИБС опубликованы в виде методических рекомендаций, информационного письма МЗ УССР, отраслевых республиканских рацпредложений МЗ УССР и используются в работе кардиологических отделений республики. Получено 9 авторских свидетельств и 6 положительных решений ГК СССР по делам открытий и изобретений на новые соединения, обладающие антигипоксической и кардиопротекторной активностью. Результаты доклинических исследований новых препаратов карнитина хлорида, пикамилаона и тиотриазолина, рекомендованных в качестве средств метаболической защиты миокарда при ИБС представлены на рассмотрение Фармакологического комитета при МЗ СССР.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: У съезде фармакологов УССР, Запорожье, 1985; У Всесоюзном биохимическом съезде, Киев, 1986; У и УІ Всесоюзных конференциях по биохимии мышц, Теляви, 1985, Тбилиси, 1989; Всесоюзной конференции "Актуальные проблемы профилактики, диагностики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний", М., 1986; XXIII Всесоюзной конференции по спортивной медицине, М., 1987; Республиканской конференции "Применение ферментов в медицине", Симферополь, 1987; XV съезде Всесоюзного физиологического общества, Кишинев, 1987; I Всесоюзной конференции "Фармакологическая коррекция гипоксических состояний", М., 1988; УІ Всесоюзном съезде фармакологов, Ташкент, 1988; I съезде гериатров, Тбилиси, 1988; Все-

союзной конференции "Стресс и иммунитет (психонейроиммунология)", Ростов-на-Дону, 1989; Республиканской научно-практической конференции "Синтез, фармакология и клинические аспекты психотропных и сердечно-сосудистых средств", Волгоград, 1989; IV Всесоюзном съезде патофизиологов, Кишинев, 1989; VI Всесоюзной конференции по биохимии мышц, Тбилиси, 1989; Всесоюзной конференции "Оценка фармакологической активности химических соединений, принципы и подходы", Купавна, 1989; Всесоюзном совещании "Транспорт кислорода и антиоксидантные системы", Гродно, 1989; I4 Международном симпозиуме по клинической фармакологии (ГДР), Берлин, 1989.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 29 работ, получено 9 авторских свидетельств и 6 положительных решений ГК СССР по делам изобретений и открытий на новые химические соединения, обладающие антигипоксической и кардиопротекторной активностью.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 405 страницах машинописи и состоит из 7 глав, заключения, выводов; 86 таблиц, 37 рисунков, указателя литературы, включающего 268 источников отечественной литературы и 242 - зарубежной.

Положения, выносимые на защиту.

1. Процессы биохимической адаптации миокарда при ишемическом повреждении носят фазный характер и определяются своеобразным изменением реакций гликолиза, пентозо-фосфатного цикла, цикла трикарбоновых кислот и дыхательной цепи.

2. В механизмах компенсации энергопродукции при ишемии миокарда важное значение имеет активация процессов транспорта протонов к электронно-транспортной цепи, среди которых существенную роль играет малат-аспартатный механизм.

3. В процессах биохимической дезадаптации сердечной мышцы при ишемии имеет значение дефицит свободных аминокислот - глутаминовой кислоты, метионина, треонина.

4. Корреляционная связь между изменениями метаболизма в сердечной мышце и эритроцитах может быть использована для целенаправленного выбора средств коррегирующей терапии.

5. Среди метаболитотропных средств наиболее выраженной противоишемической активностью обладают субстраты и коферменты, участвующие в реакциях пентозо-фосфатного цикла, ФАД-зависимого депротонирования; малат-аспартатного механизма транспорта протонов, активации и транспорта свободных жирных кислот.

6. Направленная активация гликолиза, пентозо-фосфатного цикла, малат-аспартатного механизма субстратно-коферментными комплексами, содержащими глюкозу, инсулин, панангин, рибоксин, глутаминовую кислоту, пиридоксальфосфат существенно повышает эффективность терапии мелкоочагового инфаркта миокарда и прогрессирующей стенокардии.

7. Триазолы - предшественники синтеза гуаниловых нуклеотидов, сочетающие в себе свойства анаболиков и антиоксидантов - перспективный для кардиологии класс соединений.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование состоит из двух разделов - экспериментального и клинического.

Экспериментальная часть выполнена на 2500 белых крысах линии Вистар массой 220-240 граммов и 60 беспородных кошках массой 2,7-3,3 кг, обоого пола.

Клинические исследования проводились в группах больных крупно- (39 человек) и мелко- (92 человека) -очаговым инфарктом миокарда, прогрессирующей стенокардией (46 человек), хронической ИБС с облитерирующим атеросклерозом артериальных сосудов нижних конечностей (61 человек).

У больных крупноочаговым инфарктом миокарда, леченных тради-

ционно (нитраты, бета-блокаторы, антагонисты кальция), исследовались в динамике (1, 5, 10, 20 сутки от начала заболевания) электрокардиографические показатели ишемии миокарда и биохимические показатели сыворотки крови и эритроцитов. Больные распределялись на группы с неосложненным (9 человек) и осложненным (30 человек - кардиогенный шок, отек легких, аритмии и др.) инфарктом миокарда.

В 5 группах больных мелкоочаговым инфарктом миокарда оценивалась терапевтическая эффективность лекарственных комбинаций, включающих наряду с традиционно назначаемыми препаратами (контрольная группа - 23 человека) средства метаболической коррекции: 1 - глюкозо-инсулин-калиевая смесь (23 больных); 2 - глюкозо-инсулиновая смесь (ГИС)+панангин+рибоксин (19 больных); 3 - ГИС + глутаминовая кислота+панангин (13 больных); 4 - ГИС+глутаминовая кислота+панангин+пиридоксальфосфат (15 человек). Препараты назначались в средних терапевтических дозах: ГИС, панангин, глутаминовая кислота, рибоксин - внутривенно капельно, пиридоксальфосфат внутримышечно 1 раз в день.

Исследования больных острым инфарктом миокарда выполнены на клинической базе (инфарктное отделение 5-й городской больницы) кафедры внутренних болезней -I (зав. проф. - Б.Н.Везбородько) Запорожского медицинского института совместно с А.П.Бондаренко и М.Н.Данильченко.

Оценка эффективности комбинированной терапии прогрессирующей стенокардии, включающей нитронг, ГИС, панангин и рибоксин проведена в 3-х группах больных: 1 - нитронг + рибоксин (12 больных); нитронг+ГИС (14 больных) - 2; 3 - нитронг + ГИС + рибоксин (20 больных). Препараты вводились в средних терапевтических дозах: ГИС и рибоксин - внутривенно, нитронг принимался внутрь. Эта часть работы выполнена на клинической базе (госпитальное отделение

ние ЗОКБ): кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии (зав. проф. - В.В. Дунаев) совместно с О.В. Крайдашенко и И.М. Белаем.

Исследования больных хронической ИБС и облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей проведены на базе (сосудистое отделение ЗОКБ) кафедры хирургических болезней - 2 (зав. проф. А.С. Никоненко) совместно с А.В. Губкой.

Экспериментальные исследования проводились с использованием общепринятых в настоящее время моделей ишемического повреждения миокарда - коронароокклюзионной и питуитрин-изадриновой (К.М. Резников с соавт., 1983). В целях изучения механизмов биохимической дезадаптации миокарда моделировались состояния, провоцирующие и отягощающие его ишемическое повреждение (факторы риска) - атеросклероз (S.Y.K. Jousufzai et al., 1976), артериальная гипертония (M.R. Ameringen - van et al., 1977), стресс (Л.А. Маликова, В.А. Арефолов, 1982), патологическое ожирение (гонадэктомия). Механизмы естественной биохимической адаптации миокарда изучались в опытах с экстремальными физическими нагрузками (Ю.Г. Бобков с соавт., 1984).

В работе использовались 3 группы методов исследования: 1 - методы оценки противоишемического действия препаратов; 2 - методы исследования метаболизма миокарда; 3 - методы исследования сократительной функции сердца.

Оценка степени ишемического повреждения миокарда осуществлялась с помощью биохимических, электрокардиографических и морфометрических методов.

В качестве биохимических критериев использовались - уровень активности кардиоспецифических изоэнзимов лактатдегидрогеназы (ЛДГ₁) и креатинфосфокиназы (МВ-КФК) выделяемых из сыворотки крови методом колоночной хроматографии на ДЕАЕ-сефадексах А-50 (Г.А. Яровая с соавт., 1982) с последующим определением активности фермен-

тов в элюате (H.U.Bergmeyer, 1974). В отдельных экспериментах определялся уровень миоглобина в крови с помощью набора реактивов "РИА-Миоглобин-¹²⁵I" (Радиопрепарат, Ташкент) методом радиоиммунологического анализа. Радиоиммунологические исследования проводились на кафедре биохимии (зав. проф. В.С.Якушев) Запорожского медицинского института.

В качестве электрокардиографического контроля эффективности противоишемического действия препаратов использовался метод ЭКГ-картирования (P.R.Maroko, 1972) с расчетом показателей суммарной степени отклонения сегмента S T от изолинии (ΣST) и количества таких отклонений в 35 грудных отведениях (NST). Этот принцип был использован и в экспериментах на животных с применением 2I грудного электрода и расчетом показателя ΣST , который тесно коррелировал с биохимическими критериями ишемии миокарда (уровень активности ЛДГ₁ и МВ-КФК в сыворотке крови).

Для определения размеров ишемического повреждения миокарда применялись дегидрогеназный тест (А.Н.Кудрин с соавт., 1978; I.T.Fallon, 1982) и метод визуализации зон ишемии с помощью люминесцентного красителя Тиофлавина Т (R.A.Kloner, E.Braunwald, 1980).

Метаболизм миокарда изучался с использованием общепринятых в современной биохимии методов, характеризующих состояние биоэнергетических процессов, обмена липидов, свободно-радикальных процессов, а также состояние обмена белков и свободных аминокислот.

Исследование содержания макроэргических фосфатов и метаболитов энергетического обмена проводилось с остановкой сердец кардиopleгическим раствором (охлажденный до 0°C 0,15 М раствор калия хлорида) и последующим замораживанием их в жидком азоте. При коронароокклюзии за 5 минут до забоя сердца перфузировались раствором красителя - трипанового синего - для визуализации зоны ишемии

(Ф.З.Меерсон, 1984). Ткань сердца подвергалась гомогенизации до консистенции порошка. В безбелковом перхлорном экстракте (0,6 М HClO_4)/экстракте (1:4)/, нейтрализованном 5 М K_2CO_3 определялось содержание АТФ (W.Lamprecht, I.Trautshold, 1965), креатинфосфата (H.U.Bergmeyer, 1974), глюкозы (D.Keitlin, E.Hartree, 1948), глюкозо-6-фосфата (Н.Д.Ещенко, 1982), диоксиацетонфосфата и α -глицерофосфата (Г.А.Кочетов, 1980), пирувата (R.Czok, W.Lamprecht, 1970), лактата (H.J.Nohorst, 1970), малата (H.J.Nohorst, 70), изоцитрата (G.Siebert, 1965). Весь спектр адениловых нуклеотидов-АТФ, АДФ, АМФ - исследовался методом тонкослойной хроматографии на пластинках "Силуфол - ЧССР" (Н.В.Захарова, В.И.Рубин, 1980). В безбелковом экстракте измерялись уровень мочевины и аминного азота - суммы свободных аминокислот (В.Г.Колб, В.С.Камышников, 1982). В отдельной навеске ткани определялось содержание гликогена (В.А.Вилкова, 1982). Концентрация макроэргических фосфатов и метаболитов выражалась в мкмоль/г сырой ткани. По содержанию в ткани компонентов лактатдегидрогеназной реакции - пирувата и лактата - рассчитывался коэффициент восстановленности пиридиновых нуклеотидов НАД/НАДН (Н.А.Кревь, 1973), отражающего соотношение анаэробных гликолитических и окислительных процессов в миокарде.

Для определения активности ферментов ткань сердца гомогенизировалась на холоду в солевой изотонической среде (0,15 М KCl , T-O^0) с помощью стеклянного гомогенизатора в соотношении 1:40. После отделения ядер и неразрушенных клеток (1000 g) методом дифференциального центрифугирования (ВАК-25, ГДР - 14 000 g) выделялись цитоплазматическая и митохондриальная фракции. Мембраны митохондрий подвергались разрушению с помощью неионных детергентов тритона-X-100 или твина-80, а так же путем трехкратного замораживания и оттаивания. В митохондриальной и/или цитоплазматической фракциях определялась активность ферментов: гексокиназы, фосфофрукто-

киназы, фруктозо-1,6-дифосфата альдозазы (Г.А.Кочетов, 1980), лактатдегидрогеназы (H.U.Bergmeyer et al., 1965), транскетолазы (В.С.Асатиани, 1969), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Ф.Е.Путилина, С.Д.Зоидзе, 1982), НАД- и НАДФ-зависимых малатдегидрогеназ (Н.Д.Ещенко, Г.Г.Вольский, 1982), креатинфосфокиназы (H.U.Bergmeyer, 1974), цитохром-с-оксидазы (В.С.Асатиани, 1969). В цитоплазматической фракции исследовалась активность ферментов антиоксидантной защиты - супероксиддисмутазы (С.Чевори с соавт., 1985), каталазы (М.А.Королюк с соавт., 1988), глутатионредуктазы (Ф.Е.Путилина, 1982), глутатионпероксидазы (А.Р.Гаврилова, Н.Ф.Хмара, 1986), а так же ферментов обмена свободных аминокислот - аспартат- и аланин-аминотрансфераз (S.Reitman, S.Frankel, 1957). Активность ферментов выражалась в мкмоль(нмоль) субстрата или продукта реакции на мг белка в мин. (час). В цитоплазматической фракции исследовалось содержание конечных продуктов перекисного окисления липидов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой /малонового диальдегида/ (И.Д.Стальная, Т.Г.Гаришвили, 1977).

В полученном по Фолчу липидном экстракте из ткани сердца определялось содержание свободных жирных кислот (Г.П.Соколова, 1982), триглицеридов (В.Г.Колб, В.С.Камышников, 1982), α -токоферола (Н.К.Рудакова-Шилина, Н.Н.Матюхова, 1982) и диеновых конъюгатов ненасыщенных высших жирных кислот (промежуточных продуктов ПОЛ)/И.Д.Стальная, Т.Г.Гаришвили, 1977).

Аминокислотный анализ спиртовых экстрактов из замороженной в жидком азоте ткани сердца (свободные аминокислоты) и гидролизата той же ткани осуществлялся на анализаторе типа ААА 881 (Микротехна, Прага - ЧССР) в биохимической лаборатории ЦНИИПМЭЖ (зав. В.Н.Сухинин).

Скорость биосинтеза белка изучалась при введении животным растворов с мечеными радиоактивным тритием аминокислотами - ^3H -

глицином и ^3H -фенилаланином – за 60 минут до забоя из расчета 10 мбк/кг массы. Сердца подвергались гомогенизации, методом ультрацентрифугирования выделялся цитозоль (МММ- ВНР, 100000 g). Подготовка материала и радиометрия (Л.А.Остерман, 1983) проводилась на кафедре биохимии (зав. проф. – В.С.Якушев) ЗМИ. Скорость биосинтеза выражалась в имп/мин/мг белка.

Показатели центральной и периферической гемодинамики у больных исследовались методом радиокардиографии на базе радиологического диагностического центра ЗОКБ (зав. – Б.А.Шестопалов).

Кардиогемодинамические эффекты препаратов в эксперименте изучались на целостном организме (кошки) и на изолированном (по Лангендорфу) сердце крыс.

Для изучения прямых кардиотропных эффектов препаратов была смонтирована установка, позволяющая синхронно регистрировать функционально-биохимические параметры изолированного сердца: давление в левом желудочке, объемную скорость коронарной перфузии, потребление миокардом кислорода, степень ишемической деструкции миокарда (по активности ЛДГ в оттекающем перфузате). При этом рассчитывались интегральные показатели деятельности сердца – работа, коэффициент полезного действия (Л.Л.Орлов с соавт., 1987). Опыты с изолированным сердцем проведены совместно с В.Н.Фаворитовым.

Исследование кардиогемодинамических эффектов препаратов в условиях целостного организма проводилось на взрослых кошках, наркотизированных этиналом-натрия (35 мг/кг). Для измерения артериального давления и введения веществ катетеризировались бедренные артерия и вена. После левосторонней торакотомии выделялась восходящая часть дуги аорты, на которую фиксировался датчик электромагнитного расходомера крови (МГУ-1200 – "Нихон-Коден", Япония). В полость левого желудочка вводился катетер для регистрации давления и его первой и второй производных (dp/dt , $\frac{dp/dt}{P}$). Измерение

артериального и левожелудочкового давления производилось с помощью электрических манометров (Швеция-ФРГ). В качестве регистратора показателей использовался "Мингограф-82" (Швеция-ФРГ). На основе анализа кривых фазового кровотока в восходящей части дуги аорты, артериального и левожелудочкового давления рассчитывались показатели гемодинамики и работы сердца: среднее артериальное давление (В.Д.Карпман, 1982), частота сердечных сокращений, ударный объем сердца (по площади, ограниченной кривой сердечного выброса), минутный объем сердца, максимальная линейная скорость кровотока (по формуле Симонса), максимальное ускорение кровотока в аорте (отношение максимальной линейной скорости ко времени нарастания ее от нуля до пика), индекс энергетических затрат (ЧСС.САД/1000). Показатели центральной и периферической гемодинамики исследовались в отделе фармакологии сердечно-сосудистых средств (зав.проф. Н.В.Каверина) НИИ фармакологии АМН СССР совместно со старшим научным сотрудником С.А.Крыжановским.

Экспериментальная ишемия миокарда формировалась путем одномоментной перевязки (коронароокклюзионная модель) нисходящей ветви левой коронарной артерии на границе верхней и средней трети (кошки), а так же введением питуитрина и изадрина (коронарогенно-метаболическая модель) по схеме (крысы): питуитрин - 0,5 ЕД/кг - внутривенно, через 20 минут изадрин - 100 мг/кг - подкожно, спустя 6 часов инъекция изадрина повторялась и через 24 часа вводился оба препарата в тех же дозах. В опытах с изолированным сердцем крыс ишемия вызывалась снижением перфузионного давления на 50% и введением в перфузат питуитрина (1:50000) и изадрина (1:10000).

При проведении экспериментов на животных использовался стандартный объем выборки: для кошек - 8, крыс - 10.

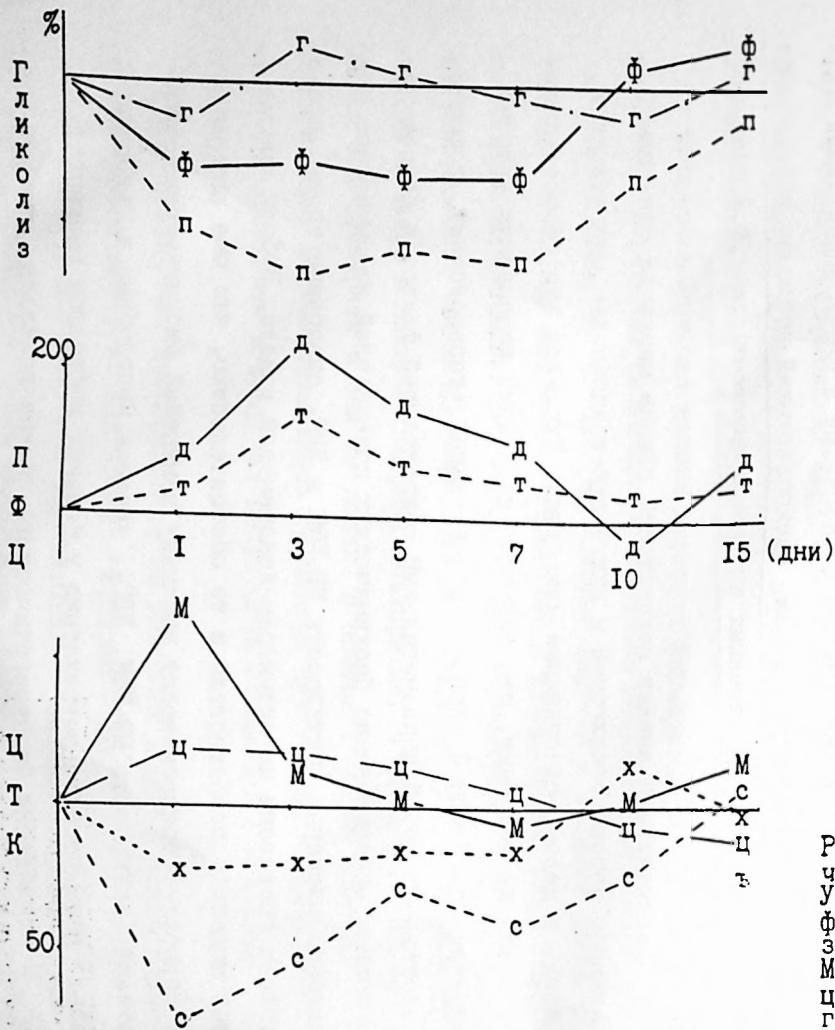
Результаты исследований обрабатывались методом вариационной статистики и корреляционного анализа на ЭВМ-СМ-4 (В.Ю.Урбах, 1977).

КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОБИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

В целях выяснения степени нарушения отдельных лимитирующих звеньев обмена и компенсаторных метаболических путей при ишемическом повреждении миокарда проведены исследования основных патобиохимических процессов (нарушение биоэнергетических процессов, протеинсинтеза, перекисного окисления липидов, лабильзация мембран) при условиях динамического наблюдения за их изменениями в процессе спонтанного выздоровления (3, 9, 27 час, 3, 5, 7, 10, 15 сутки) и единой экспериментальной постановки (одновременное определение показателей различных путей обмена в одном образце ткани). Эти условия позволяют выявить характер процессов естественной биохимической адаптации и "узкие" звенья метаболизма с целью определения направлений корректирующей терапии, предполагающей создание условий для функционирования естественных антиишемических систем (Ф.З.Меерсон, 1984).

Сравнительный анализ показателей обмена миокарда при ишемии, вызванной коронароокклюзией и питуитрин-изадрिनновым повреждением выявил, в целом, однозначные изменения. Учитывая это обстоятельство, а так же тот факт, что операция перевязки коронарных артерий сопряжена с обширной травматизацией тканей (торакотомия), которая представляет собой дополнительный повреждающий фактор и делает невозможным использование биохимических показателей ишемического повреждения миокарда (активность МВ-КФК и ЛДГ_I сыворотки крови) исследования проведены на питуитрин-изадринновой модели. Выбору именно этой модели способствовало и то обстоятельство, что она практически полностью воспроизводит динамику изменений биохимических показателей (активность МВ-КФК, ЛДГ_I, уровень миоглобина в сыворотке крови) ишемического повреждения у больных инфарктом миокарда.

Исследования биоэнергетического обмена показали, что при ишемии миокарда различные процессы продукции энергии изменяются неод-



Степень ишемии (МВ - КФК)		
Легкая	Средняя	Тяжелая
0,14±0,01	0,21±0,02	0,29±0,03

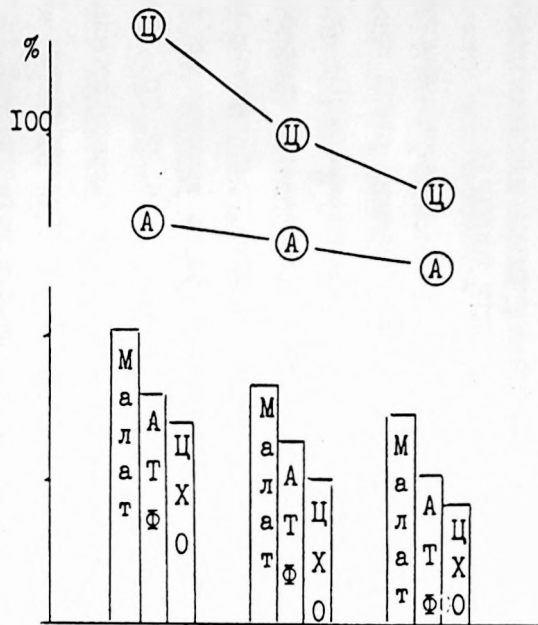


Рис. 1. Изменения показателей биоэнергетического обмена при ишемии миокарда. Условные обозначения: г - гексокиназа; ф - фосфофруктокиназа; п - пируват; д - глюкозо-6-Ф-дегидрогеназа; т - транскетоглаза; М - малат; ц - малатдегидрогеназа; х - ЦХО - цитохром-с-оксидаза; с - сукцинатдегидрогеназа; А - аспаратаминотрансфераза.

нозначно (рис. I.). Так начиная с I-х суток эксперимента происходит существенное угнетение гликолитических реакций с торможением активности ключевых ферментов – гексокиназы, гексозофосфатизомеразы, фруктозо-I,6-дифосфатаальдозазы. Наиболее значительно снижалась активность фосфофруктокиназы с отсутствием восстановления до 10-х суток при нормализации активности других гликолитических ферментов уже на 3-и сутки. Весьма характерным явился факт выраженной активации ферментов пентозо-фосфатного цикла – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и транскетолазы с максимумом на 3-и и нормализацией активности на 10-й день. Характер изменений показателей цикла трикарбоновых кислот и их выраженность свидетельствовали о наиболее существенном его угнетении в сравнении с другими путями продукции энергии. Причем блокировались участки цикла Кребса, контролируемые как цитратсинтетазой (снижение уровня изоцитрата на 85,6%), так и α -кетоглутаратдегидрогеназой (падение активности сукцинатдегидрогеназы на 78,2%). Обращает внимание стойкость изменений этих показателей, которые нормализовались лишь к 15 суткам эксперимента. При этом степень угнетения активности цитохром-с-оксидазы – ключевого фермента электронно-транспортной (дыхательной) цепи была явно меньшей (снижение на 30,5%). На фоне этих сдвигов происходит повышение тканевого уровня малата, а так же активности цитоплазматической НАД-зависимой малатдегидрогеназы, принимающих участие в функционировании малат-аспартатного челночного механизма транспорта восстановительных эквивалентов из цитозоля в митохондрии (Д. Мецлер, 1980).

В целях уточнения роли малатного шунта в механизмах компенсации энергопродукции проведен эксперимент с дифференциацией животных по степени ишемического повреждения миокарда. При этом установлено, что по мере углубления ишемии наряду со снижением уровня

прироста концентрации малата, активности НАД-зависимой малатдегидрогеназы и аспартатамиотрансферазы митохондрий с высокой степенью статистической достоверности корреляции

ЗАПОРІЗЬКИЙ ІНТЕРНАЦІОНАЛІ
 АТЕДІКАСІОНАЛІ
 МЕДИКАСІОНАЛІ
 УНІВЕРСИТЕТ
 БІБЛІОТЕКА

8/Н-041635

этих явлений.

Таким образом, острая ишемия вызывает в миокарде глубокое угнетение цикла трикарбоновых кислот, блокирование гликолиза на уровне фосфофруктокиназы при удовлетворительном функционировании дыхательной цепи и выраженной активации пентозо-фосфатного цикла и малатного шунта. При систематизации выявленных фактов справедливым было предположить, что угнетение гликолиза и цикла Кребса компенсируется активацией как пентозного цикла, шунтирующего поток углеводов с образованием восстановительных эквивалентов, так и малат-аспартатного механизма, транспортирующего последние к субстратному участку электронно-транспортной цепи.

Весьма характерным для периода острой ишемии (1-3 сутки) является накопление в миокарде липидов - свободных жирных кислот и триглицеридов. Причем периоды повышения их концентрации (3 и 27 час) совпадали с соответствующими изменениями уровня лактата и малата. Рост уровня лактата и липидов типичны для ишемии миокарда и объясняется угнетением окислительных процессов с торможением утилизации липидов (Ф.З.Меерсон, 1984; Л.Х.Опи, 1989). В целях выяснения характера взаимосвязи изменений уровня малата и липидов была изучена активность ферментов, принимающих участие в функционировании цикла "глюкоза - жирные кислоты" (Э.Ньюхолм, К.Старт, 1977) и обмене малата. При этом установлен параллелизм в изменениях уровня малата и активности НАД-зависимой малатдегидрогеназы митохондрий со статистически значимой связью этих явлений ($r = 0,720$; $p < 0,05$). Нормализация этих показателей была сопряжена с восстановлением активности НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы митохондрий, осуществляющей взаимопревращения малата и пирувата. Эти факты указывают на то, что основным источником возрастающих концентраций малата, вероятно, является оксалацетат. В связи с этим можно предположить, что компенсаторная активация малатного шунта сопряжена с торможением образования из углеводов ацетил-КоА (пируватдегидро-

геназная реакция), который при ишемии используется на синтез липидов (Ф.З.Меерсон, 1984). Таким образом, видимо, наращивание мощности малатного "челнока" при ишемии способствует не только продукции АТФ, но и торможению патологического синтеза липидов.

Исследованиями метаболизма миокарда при состояниях способствующих развитию ИБС (факторы риска – ожирение, атеросклероз, стресс) установлено, что эти патологические состояния вызывают угнетение ферментов цикла Кребса (особенно сукцинатдегидрогеназы), тканевого дыхания (цитохром-с-оксидазы), а так же активности аспартатамино-трансферазы, имеющей отношение к функционированию малатного пункта. Воспроизведение на этом фоне экспериментального инфаркта углубляет эти изменения. При этом отсутствует характерный для контрольных животных рост уровня малата в сердечной мышце. В условиях гипоксии при экстремальной физической нагрузке, когда отсутствуют патологический метаболический фон и нарушение функции коронарных сосудов, в ряду наиболее выраженных изменений метаболизма миокарда (гиперпродукция лактата, снижение уровня АТФ) выделяется факт значительного роста концентрации малата (на 285,0%), а так же активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Таким образом, эти факты, видимо, являются дополнительным свидетельством значительной роли малат-аспартатного механизма и пентозо-фосфатного цикла в процессах естественной биохимической адаптации миокарда к условиям ишемии.

Изучением динамики изменений обмена белка установлен факт выраженного торможения скорости протеинсинтеза (включение ^3H -глицина в структурные белки миокарда) в I-3 сутки, что совпадало с периодом максимального падения уровня макроэргов. Аминокислотным анализом ткани сердца в этот период выявлено наличие дефицита глутаминовой кислоты как в свободной, так и в белковосвязанной формах, а так же треонина в свободной и метионина в связанной форме. Вероятно взаимосвязь нарушений биоэнергетического обмена и протеинсинтеза обусловлена формированием дисбаланса свободных аминокис-

лот, которые используются в процессах энергопродукции путем включения в "анаэробные реакции" (П.Хочачка, Д.Сомеро, 1988; Л.Х.Опи, 1989), а так же в реакции малатного шунта (глутамат, аспартат).

Исследованием динамики изменений показателей перекисного окисления липидов установлено, что периоды его активации (1-3 сутки и 7-10 день), проявляющиеся накоплением в сердечной мышце промежуточных (диеновых конъюгатов) и конечных (малонового диальдегида) продуктов, связаны с падением активности антиоксидантных ферментов - супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, а так же тканевого уровня α -токоферола. Примечательно, что активация перекисного окисления липидов и угнетение антиоксидантной системы совпадает по времени с периодами максимального падения уровня АТФ и креатинфосфата в сердечной мышце.

Оценивая результаты патобиохимических исследований представляется возможным констатировать, что центральную роль в патогенезе ИБС играют нарушения биоэнергетического обмена, которые определяют торможение биосинтеза белка, активацию перекисного окисления липидов, лабильзацию мембран и другие механизмы, приводящие к нарушению структурно-функциональной целостности кардиомиоцитов при ишемии. Результаты сравнительной оценки степени нарушения отдельных путей биоэнергетического обмена и роли компенсаторных механизмов в процессах биохимической адаптации позволяют определить следующие направления корригирующей метаболизм ишемизированного миокарда терапии: поддержание функционирования гликолиза и цикла Кребса легко реализуемыми субстратами, создание условий для компенсаторной активации пентозо-фосфатного цикла и малат-аспартатного челночного механизма, устранение дисбаланса свободных аминокислот, активация процессов транспорта и утилизации свободных жирных кислот, как основных источников энергии в миокарде.

Учитывая положение о том, что не существует какого-либо одного фактора или специфической их комбинации, которые могут быть определены как причина гибели кардиомиоцитов при ишемии (Ф.З.Меерсон, 1984; В.Е.Sobel, 1976), определенную перспективу повышения эффективности терапии ИБС представляет дифференцированный выбор препаратов с учетом патобиохимического варианта и фазы протекания заболевания у конкретного больного (Л.Д.Лукиянова, 1989). Для практического применения этого принципа необходимы адекватные критерии оценки состояния отдельных биохимических процессов в миокарде. В целях выявления соответствующих критериев проведен корреляционный анализ биохимических показателей сердечной мышцы, сыворотки крови и эритроцитов у экспериментальных животных и больных инфарктом миокарда. Так установлена взаимосвязь между изменениями уровня АТФ в сердечной мышце и эритроцитах ($r = 0,934$; $p < 0,01$), между уровнем АТФ и активностью глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах ($r = 0,863$; $p < 0,05$), что, очевидно, позволяет по соответствующим показателям обмена эритроцита оценивать уровень энергетической обеспеченности миокарда и интенсивность адаптивных изменений процессов энергопродукции. На основе анализа данных электрокардиографического картирования и показателей перекисного окисления липидов у больных с осложненным и неосложненным инфарктом миокарда представилось возможным сделать вывод о том, что параллельное определение уровня диеновых конъюгатов в сыворотке и активности глутатионредуктазы в эритроцитах дает объективную информацию о состоянии антиоксидантной системы. Выявлена статистически достоверная связь между скоростью биосинтеза белка в миокарде и показателем соотношения уровней общего белка и мочевины в сыворотке крови. Установлено, что последний коррелирует с ЭКГ-показателем ишемии (ΣST) у больных инфарктом миокарда.

Таким образом, простые биохимические показатели могут быть использованы для выбора средств метаболической коррекции.

ФАРМАКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СРЕДСТВ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

Расширение представлений о фармако-биохимических механизмах противоишемического действия антиангинальных средств создает основу для определения условий их оптимального применения и рационального комбинирования со средствами метаболической коррекции в терапии ИБС. В этой связи проведены исследования эффектов препаратов из групп нитратов, бета-блокаторов и антагонистов кальция, а также широкого набора средств, влияющих на обменные процессы (метаболиты, витамины, коферменты, антигипооксиданты, анаболические и аминокислотные препараты) на основные патофизиологические процессы (нарушение биоэнергетического метаболизма, протеинсинтеза, лабильности мембран лизосом, активацию перекисного окисления липидов) в ишемизированном миокарде.

Исследуемые вещества вводились в лечебно-профилактическом режиме, т.е. параллельно с формированием питуитрин-изадринного повреждения миокарда, трижды в сутки с использованием различных путей введения - внутрибрюшинного (в/б), перорального (п/о) и подкожного (п/к). Изучение метаболических эффектов проводилось на фоне противоишемического эффекта препаратов, контролируемого объективными электрокардиографическими (ΣST) и биохимическими критериями (активность МВ-КФК и ЛДГ₁ сыворотки крови). Выбор доз осуществлялся на основе литературных данных и результатов предварительных исследований зависимости "доза-эффект". Для интегральной оценки противоишемического действия веществ использовался условный индекс эффективности, представляющий собой сумму процентов снижения показателей ишемии миокарда (ΣST , МВ-КФК, ЛДГ₁) в сравнении с контрольной группой. Корректность этого показателя подтверждается тем обстоятельством, что все показатели отражают один патологический процесс (ишемическое повреждение миокарда), а так же тем фактом, что в опытах с дифференциацией степени ише-

мии выявлена статистически достоверная корреляция между этими показателями: ΣST и ЛДГ_I ($r=0,975$; $p<0,05$), ΣST и МВ-КФК ($r=0,946$, $p<0,05$).

В результате исследования влияния основных средств терапии ИБС из групп нитратов (нитронга, суस्ताка), антагонистов кальция (изоптина, финоптина), бета-блокаторов (анаприлина, обзидана) установлено, что препараты оказывая существенный противоишемический эффект ликвидируют далеко не все и не в полном объеме патобиохимические процессы в ишемизированном миокарде. Это обстоятельство обуславливает наличие существенных резервов для повышения эффективности терапии ИБС путем комбинирования основных средств с препаратами метаболической коррекции.

Вещества, влияющие на обмен веществ изучались в два этапа. На первом этапе оценивалось их противоишемическое действие, на втором - исследовалось влияние на метаболизм ишемизированного миокарда.

Экзогенные метаболиты проявляли выраженный противоишемический эффект. Так условный индекс эффективности α -глицерофосфата (200 мг/кг - в/б) составил 142,4, малата калия (150 мг/кг - в/б) - 141,1, глюкозо-6-фосфата (250 мг/кг - в/б) - 139,6, о-кетоглутарата (150 мг/кг - в/б) - 125,3. Значительный кардиопротективный эффект проявляли и аминокислоты - глутаминовая кислота (150 мг/кг - в/б) и метионин (200 мг/кг - в/б), индекс эффективности которых был равен соответственно 129,0 и 122,2. Известно, что α -глицерофосфат и глюкозо-6-фосфат легко реализуются пентозо-фосфатным циклом как субстраты окисления, малат, α -кетоглутарат являются веществами-компонентами малат-аспаратной транспортной системы и прямо или косвенно (анаплеротические реакции) участвуют в функционировании цикла Кребса. α -Глицерофосфат, к тому же, способен поставлять протоны к дыхательной цепи из цитозоля в составе α -глицерофосфатной челночной системы. Однако,

последняя для сердечной мышцы не имеет существенного значения (Mc J.F.Ginnis, De J.Vellis, 1979). Экзогенный ацетат натрия (200 мг/кг - в/б) был менее эффективен (43,9), чем соединения содержащие остаток уксусной кислоты - дипромоний (диизопропиламмония дихлорацетат; 50 мг/кг - в/б) и ацефен (диметиламиноэтилового эфира п-хлорфеноксисуксусной кислоты гидрохлорид; 100 мг/кг - п/о), индекс эффективности которых составил соответственно 106,7 и 132,1. Это, вероятно связано с различными свойствами проникать через мембраны, либо с наличием самостоятельных фармакологических эффектов у фрагментов молекул. Так, например, галогенизированные производные ацетата способны активировать пируватдегидрогеназный комплекс (S.Whitehouse et al., 1974). Таким образом, вещества прямо или косвенно участвующие в обмене на участке входа в цикл Кребса оказывают сравнительно меньшее по эффективности кардиопротективное действие. Об этом же видимо говорит и тот факт, что лактат натрия (200 мг/кг - в/б), ценный источник энергии для сердечной мышцы, не оказывает при ишемии защитного действия. Сукцинат натрия (100 мг/кг - в/б) оказывал незначительное протективное действие (54,0), что, вероятно, связано с тем, что активность сукцинатдегидрогеназы существенно снижена и окисление субстрата при этом затруднено. Весьма интересен факт значительного противоишемического действия у экзогенного цитруллина (100 мг/кг - в/б) /96,7/, промежуточного продукта орнитинового цикла мочевины, что подчеркивает важность компенсаторного усиления мочевинообразования с нейтрализацией избыточного аммиака (О.И.Писаренко с соавт., 1980).

При анализе противоишемической активности витаминов и коферментов видно, что наибольшей эффективностью обладают флавионат (I мг/кг - в/б - I35,2), пиридоксальфосфат (10 мг/кг - п/к - I31,3), коэнзим А (10 мг/кг - в/б - I28,6), карнитин (100 мг/кг - в/б - III,9) и кокарбоксилаза (100 мг/кг - в/б - 96,8). Принимая во внимание биологическую роль этих соединений,

становится очевидным, что наиболее эффективна коррекция ФАД-зависимого участка дыхательной цепи (флавинат), трансаминазных реакций, обеспечивающих анаплеротические реакции и функционирование малатного шунта (пиридоксальфосфат), процессов активации (коэнзим А) и транспорта свободных жирных кислот в митохондрии (карнитин). Относительно низкую эффективность (16,8-44,0) проявляют витамины, входящие в состав пируватдегидрогеназного комплекса (липоевая кислота, пантотенат кальция), обеспечивающего поставку углеводов в цикл трикарбоновых кислот. Практически неэффективны витамины с анаболической направленностью действия (15,8,27,6) - кобамамид (1 мг/кг - в/б), фолинат кальция (2,5 мг/кг - в/б).

Следует отметить, что введение стероидных и нестероидных а н а б о л и к о в в острый период ишемии так же малоэффективно. Индекс эффективности ретаболила (5 мг/кг - п/к) составил 41,7, метилурацила (20 мг/кг - п/о) - 69,8, оротата калия (35 мг/кг - п/о) - 23,5, рибоксина (100 мг/кг - в/б) - 55,4, а пентоксил (10 мг/кг - п/о) углублял ишемическое повреждение миокарда. Видимо дополнительная активация протеинсинтетических процессов в острый период ишемии патогенетически неоправдана, поскольку эти процессы энергозависимы и требуют до 10% фондов макроэргов (Н.К.Фуркало с соавт., 1986).

Относительно низкий противоишемический эффект проявляют и а н т и о к с и д а н т ы (57,1 - 62,6) - α-токоферол (50 мг/кг - п/к), дибунол (50 мг/кг - п/к) и аскорбиновая кислота (200 мг/кг - в/б).

А н т и г и п о к с а н т ы оказывали неоднозначное по выраженности кардиопротективное действие. Так индекс эффективности ГАМК (200 мг/кг - в/б) составил 57,1, ее производного - ГОМК (200 мг/кг - в/б) - 78,5, циклического аналога пирацетама (200 мг/кг - в/б) - 83,2. Более эффективными оказались синтетические производные ГАМК - никотиноил-ГАМК или пикамилон (100 мг/кг - в/б)

и ГАМК-аскорбинат кальция (200 мг/кг - в/б), их индекс эффективности составил 135,2 и 126,4. Значительный противоишемический эффект проявлял опытный препарат (157,1) - валирацил (200 мг/кг-п/к), представляющий собой суммарный экстракт из валерианы чесночностной и обладающий способностью повышать содержание в тканях эндогенной ГАМК (В.В.Дунаев и др., 1987, С.Д.Тржецинский и др., 1988).

В результате исследования механизмов противоишемического действия веществ, влияющих на обменные процессы представилось возможным выявить некоторые общие закономерности. Так метаболиты (малат, α -кетоглутарат, α -глицерофосфат), аминокислоты (глутамат), витамины и коферменты (карнитин, коэнзим-А, пиридоксальфосфат), участвующие в процессах биоэнергетического обмена наиболее эффективно сохраняли углеводные резервы, активность ферментов окислительного метаболизма, клеточные фонды макроэргов, стимулировали адаптивный протеинсинтез, тормозили перекисное окисление липидов. ГАМК и ее производные способствовали сохранению активности ферментов окислительного метаболизма (сукцинатдегидрогеназы, цитохром-с-оксидазы), но не вызывали роста АТФ. Анаболикам присуще выраженное активирующее влияние в отношении пентозного цикла, но они не повышали производительности процессов энергопродукции и не развивали специфического эффекта (активации протеинсинтеза). Антиоксиданты (α -токоферол, дибунол) не оказывали существенного влияния на биоэнергетические процессы, не наблюдалось при их введении и выраженного антирадикального эффекта.

Таким образом, сравнительный анализ эффективности противоишемического действия экзогенных веществ, влияющих на метаболизм показывает, что коррекция нарушений биоэнергетических процессов в наиболее значительной степени способствует сохранению структурно-функциональной целостности миокарда при острой ишемии, нежели воздействие на протеинсинтетические и свободно-радикальные процессы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ИБС

Многокомпонентность ишемических нарушений метаболизма миокарда определяет перспективность повышения эффективности терапии ИБС путем рационального комбинирования препаратов, предполагающего расширение спектра их противоишемического действия (Л.Д. Лукьянова, 1989).

Исследованиями патобиохимических процессов в ишемизированном миокарде и сравнительным анализом эффективности противоишемического действия экзогенных метаболитов и коферментов установлено, что наиболее результативной является коррекция биоэнергетического обмена в направлениях: активации пентозо-фосфатного цикла, малат-аспартатного механизма транспорта восстановительных эквивалентов из цитозоля в митохондрии, ФАД- и пиридоксаль-зависимых ферментов, процессов ацетилирования и транспорта свободных жирных кислот к местам их окисления.

Эти положения легли в основу формирования комбинаций препаратов, эффективность противоишемического действия которых испытана в эксперименте и клинике.

При испытании сочетаний веществ-компонентов малат-аспартатной челночной системы выяснилось, что противоишемический эффект комбинаций возрастает по мере увеличения таких компонентов (рис. 2.). Так при введении малата и глутамата (дозы веществ при комбинировании снижались в 1,5-2 раза) условный индекс эффективности противоишемического действия был равен 104,5, при сочетании аспартата, глутамата и пиридоксальфосфата - 169,5. Максимальный эффект наблюдался при введении комбинации - аспартат, α -кетоглутарат, малат, глутамат (180,6). Эти комбинации существенно повышали продуктивность биоэнергетических процессов, на что указывает более высокий при их введении тканевой уровень креатинфосфата.

Довольно выраженное потенцирование противоишемического дейст-

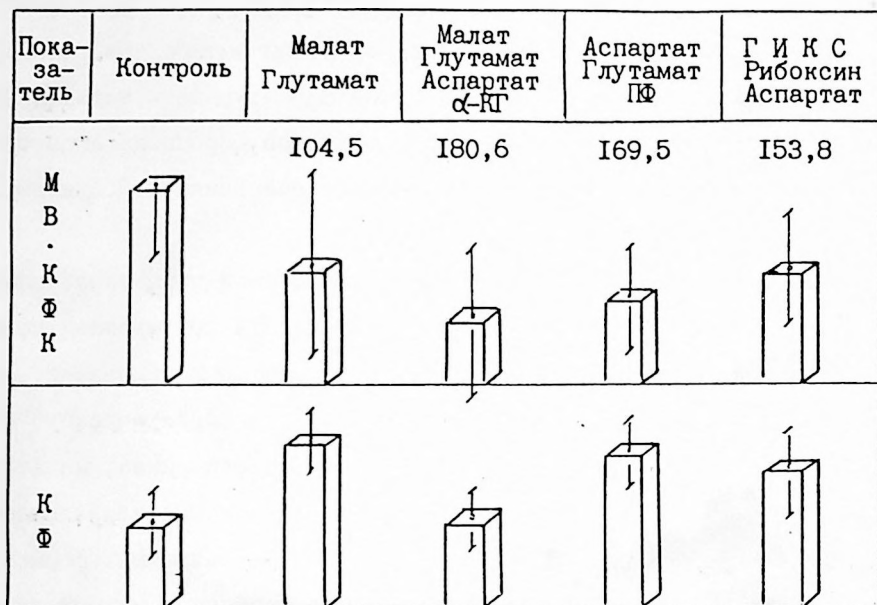


Рис. 2. Влияние метаболических комплексов на активность МВ-КФК в крови и содержание креатинфосфата (КФ) в сердечной мышце при экспериментальном инфаркте миокарда.

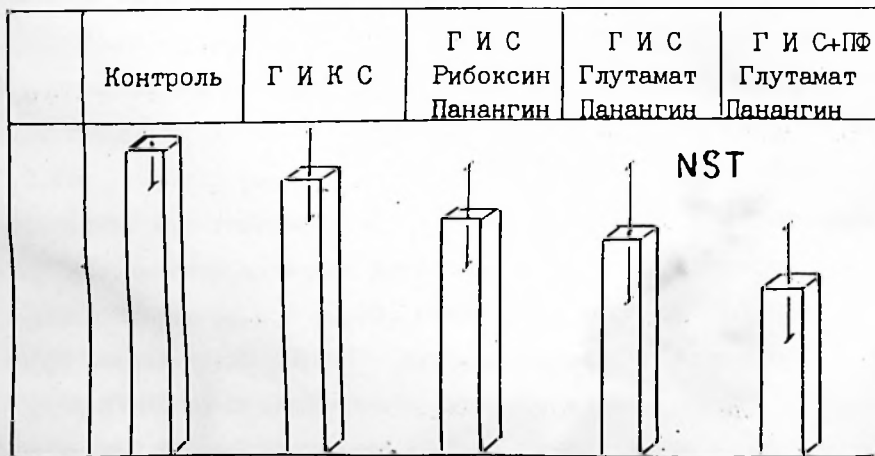


Рис. 3. Влияние метаболических комплексов на ЭКГ-показатель ишемического повреждения у больных мелкоочаговым инфарктом миокарда (10 день заболевания).

вия наблюдалось при комбинированной коррекции баланса свободных аминокислот. Так глутамат и метионин при изолированном назначении определяли суммарное снижение показателей ишемии соответственно на 129,0 и 122,2%, при совместном – на 164,1%. Преимущество направленной регуляции обмена аминокислот подтверждается и тем, что аминокислотно-полипептидный препарат солкосерил оказался малоэффективным.

Выявленная при фармако-биохимических исследованиях способность рибоксина активировать пентозный цикл с истощением запасов гликогена послужила посылкой к формированию комбинации – глюкозо-инсулиновая смесь (ГИС), рибоксин, панангин, предполагающей одновременное воздействие на гликолиз, пентозный и малатный шунты. Если при раздельном назначении компонентов этой комбинации индекс эффективности для ГИС составил 19,0, рибоксина – 55,4, панангина – 89,6, то при сочетанном – 153,8. Следует отметить, что клиницисты на базе собственных исследований пришли к выводу о том, что анаболики более эффективны при сочетании с аминокислотными препаратами (Л.В. Анисимова, 1986).

При воздействии на участок "входа" в цикл Кребса сочетанным назначением активатора пируватдегидрогеназы дипромония и предшественника синтеза коэнзима А пантотената кальция не выявлено потенцирующего эффекта, что вероятно, связано с торможением при ишемии потока углеводов в цитратный цикл.

Одновременное введение веществ, участвующих в активации свободных жирных кислот (тиокиназная реакция) и транспорте их ацильных остатков (карнитиновый механизм) в митохондрии сопровождается взаимным усилением противоишемического эффекта. Так карнитин определял снижение показателей ишемии на 111,9%, коэнзим А на 128,6, а сочетанное их введение на 168,6%.

Клинические испытания наиболее эффективных метаболических комплексов, содержащих разрешенные к применению препараты, проведены

в группах больных прогрессирующей стенокардией и мелкоочаговым инфарктом миокарда.

Эффективность противоишемического действия комбинаций у больных стенокардией оценивалась с помощью общеклинических тестов (ЭКГ, учет частоты и интенсивности ангинозных приступов, суточной потребности в таблетках нитроглицерина) и радиокардиографических показателей сократительной функции сердца. Установлено, что ГИС и панангин определяли противоишемическое действие лишь в виде тенденции, рибоксин в чистом виде не оказывал положительного терапевтического действия. Сочетанное применение ГИС, панангина и рибоксина сопровождалось статистически существенным снижением суточной потребности в нитроглицерине и ростом основных кардиогемодинамических показателей (ударный объем, систолический индекс).

Метаболическая терапия, назначаемая больным мелкоочаговым инфарктом миокарда (с I дня заболевания) существенно ускоряла темп снижения показателей ишемии в сравнении с группой больных, получавших лишь антиангинальные препараты. Так на 10-е сутки показатель *NST* (по данным ЭКГ в 35 грудных отведениях) был ниже в сравнении с I днем: в контрольной группе на 16,7%, при назначении ГИС на 22,7%, ГИС+рибоксина+панангина на 37,5%, ГИС+глутамата+панангина на 42,9%, ГИС+глутамата+панангина+пиридоксальфосфата на 54,6%. (рис.3).

Таким образом, результаты экспериментально-клинических исследований эффективности противоишемического действия субстратно-коферментных комплексов убеждают в целесообразности их широкого применения и проведения исследований по созданию новых средств метаболической защиты миокарда, в частности карнитина, малата, пикамилона, коэнзима А. Вместе с тем эти результаты подтверждают справедливость положений о том, что одновременным воздействием на коронарогенный и метаболический компоненты патогенеза ИБС достигается более высокий уровень полезного результата.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ КАРДИОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ
СРЕДИ НОВЫХ АЗОТИСТЫХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Широко применяющиеся в настоящее время препараты с принципиально новым механизмом действия, предполагающим вмешательство в биохимические процессы обеспечивающие кровоснабжение и сократительную функцию сердца, получены в рядах азотистых гетероциклических соединений (Н.В.Каверина с соавт., 1980).

Открытие антигипоксической и антиоксидантной активности у новых азотистых гетероциклических соединений ряда 1,2,4-триазола, аминохиназолина и ксантина (В.В.Дунаев с соавт., 1987; И.А.Мазур с соавт., 1987; В.С.Тишкин с соавт., 1988; В.Р.Стец с соавт., 1988), синтезированных на кафедрах фармацевтической (зав.проф. И.А.Мазур) и органической (зав. проф. Б.А.Прийменко) химии Запорожского медицинского института, предопределило проведение испытаний этих веществ на предмет противоишемического действия. Выбору именно этих соединений способствовало и то обстоятельство, что они наряду с антигипоксической активностью обладают гепатопротекторными и ранозаживляющими свойствами (В.Р.Стец, 1989), предполагающими преимущественно метаболический механизм биологического действия. По результатам изучения ЛД₅₀ большинство исследованных соединений относится к классу малотоксичных. Очевидно высокий уровень биологической активности и низкая токсичность определяются сродством этих соединений к предшественникам синтеза гуанилатов (триазолы) и аденилатов (ксантины), играющих значительную роль в регуляции обменных процессов.

В результате предварительных испытаний новых производных ксантина на предмет антигипоксической активности (бег на третбане в анаэробном режиме) выявлены соединения, проявляющие значительный эффект (увеличение продолжительности бега на 155,9-361,0%). В опытах *in vitro* установлено (табл. I), что эти же соединения обладают антиоксидантным действием, превышающим эффект эталонного пре-

Таблица I.

Фармакологическая активность новых производных ксантина

№ п/п	Шифр	Химическое название	:Актпроте-: :кторное : :действие : : % :	Антиок-: :сидант-: :ный эф-: :фект % :	Кардиопр-: :текторное : :действие : :(ЛД ₅₀ -%)
I.	ГС - 314	Третбутиламинная соль 7- α -метилфенацил-3-метилксантинил-8-тиоуксусной кислоты	327,0	-	отсутствует
2.	ГС - 323	Трис(оксиметил)аминометановая соль 1,3,8-триметил-2-фенил-имидазо [1,2-f] ксантинил-6-тиоацетата	302,0	-	отсутствует
3.	ГС - 324	Трис(оксиметил)аминометановая соль 7- α -метилфенацил-3-метилксантинил-8-тиоуксусной кислоты	361,0	25,2	28,6
4.	ГС - 316	Оксисукцинат 7- α -метилфенацил-8-пиперазино-3-метилксантина	207,7	10,2	отсутствует
5.	ГС - 357	1-Бензил-2-п-толил-6,8-диметилимидазо-[1,2-f] ксантинил-3-карбальдегид	155,9	10,0	отсутствует
6.	ГС - 359	Гидроксисукцинат 1-бензил-2,8-диметил-3-морфометилимидазо [1,2-f] ксантина	219,0	-	отсутствует
7.	ГС - 439	8- α -метилбензоил-метилтио-3-метилксантин	335,7	19,7	отсутствует
8.	СОП- 104	3-п-метоксифенил-8-метилтиазоло [3,2-f] ксантин	285,4	5,1	19,0
9.	ГС - 402	1-Бензил-2,3,8-триметилимидазо [1,2-f] ксантин	155,9	9,8	отсутствует
10.	ПКК- 148	2-хлорметил-6-Н-метилоксазолино [3,2-f] ксантин	158,5	-	отсутствует
II.		Аллопуринол	-	7,3	19,0

Фармакологическая активность новых производных ксантина

Таблица I. *Антишоковые мобилизаторы*

№ п/п	Шифр	Химическое название	Актпротекторное действие	Антиоксидантный эффект	Кардиотекторное действие
			%	%	(ЛД ₅₀ -%)
I.	ГС - 314	Третбутиламинная соль 7- α -метилфенацил-3-метилксантинил-8-тиоуксусной кислоты	327,0	-	отсутствует
2.	ГС - 323	Трис(оксиметил)аминометановая соль 1,3,8-триметил-2-фенил-имидазо [1,2-f] ксантинил-6-тиоацетата	302,0	-	отсутствует
3.	ГС - 324	Трис(оксиметил)аминометановая соль 7- α -метилфенацил-3-метилксантинил-8-тиоуксусной кислоты	361,0	25,2	28,6
4.	ГС - 316	Окисукцинат 7- α -метилфенацил-8-пиперазино-3-метилксантина	207,7	10,2	отсутствует
5.	ГС - 357	1-Бензил-2-п-толил-6,8-диметилимидазо-[1,2-f] ксантинил-3-карбальдегид	155,9	10,0	отсутствует
6.	ГС - 359	Гидроксисукцинат 1-бензил-2,8-диметил-3-морфометилимидазо [1,2-f] ксантина	219,0	-	отсутствует
7.	ГС - 439	8- α -метилбензоил-метилтио,3-метилксантин	335,7	19,7	отсутствует
8.	СОП- 104	3-п-метоксифенил-8-метилтиазоло [3,2-f] ксантин	285,4	5,1	19,0
9.	ГС - 402	1-Бензил-2,3,8-триметилимидазо [1,2-f] ксантин	155,9	9,8	отсутствует
10.	ПГК- 148	2-хлорметил-6-Н-метилоксазолино [3,2-f] ксантин	158,5	-	отсутствует
II.		Аллопуринол	-	7,3	19,0

общее структурное
ядро

кибронг - 47,4
абзедан - 47,4
изойтин - 67,3

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ КАРДИОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ
СРЕДИ НОВЫХ АЗОТИСТЫХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Широко применяющиеся в настоящее время препараты с принципиально новым механизмом действия, предполагающим вмешательство в биохимические процессы обеспечивающие кровоснабжение и сократительную функцию сердца, получены в рядах азотистых гетероциклических соединений (Н.В.Каверина с соавт., 1980).

Открытие антигипоксической и антиоксидантной активности у новых азотистых гетероциклических соединений ряда 1,2,4-триазола, аминохиназолина и ксантина (В.В.Дунаев с соавт., 1987; И.А.Мазур с соавт., 1987; В.С.Тишкин с соавт., 1988; В.Р.Стец с соавт., 1988), синтезированных на кафедрах фармацевтической (зав.проф. И.А.Мазур) и органической (зав. проф. Б.А.Прийменко) химии Запорожского медицинского института, предопределило проведение испытаний этих веществ на предмет противоишемического действия. Выбору именно этих соединений способствовало и то обстоятельство, что они наряду с антигипоксической активностью обладают гепатопротекторными и ранозаживляющими свойствами (В.Р.Стец, 1989), предполагающими преимущественно метаболический механизм биологического действия. По результатам изучения ЛД₅₀ большинство исследованных соединений относится к классу малотоксичных. Очевидно высокий уровень биологической активности и низкая токсичность определяются сродством этих соединений к предшественникам синтеза гуанилатов (триазолы) и аденилатов (ксантины), играющих значительную роль в регуляции обменных процессов.

В результате предварительных испытаний новых производных ксантина на предмет антигипоксической активности (бег на третбане в анаэробном режиме) выявлены соединения, проявляющие значительный эффект (увеличение продолжительности бега на 155,9-361,0%). В опытах *in vitro* установлено (табл. I), что эти же соединения обладают антиоксидантным действием, превышающим эффект эталонного пре-

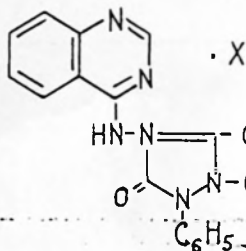
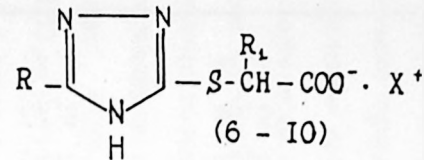
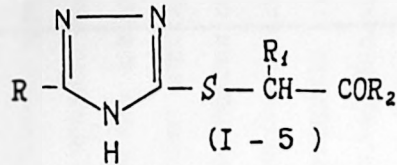


Таблица 2.
Химическая структура и противоопухолевая активность
новых производных аминохиназолина

№	Шифр	X	LD ₅₀	Противоопухолевая активность (снижение показателей в % к контролю)		
				Σ ST	МВ-КФК	Σ %
1.	МС-206	НСI	292 (280 - 300)	55,7	65,7	121,4
2.	МС-500	Малат	564 (470 - 670)	59,7	43,8	113,5
3.	МС-434а	Сукцинат	372 (260 - 540)	62,9	34,3	97,2
4.	МС-466	Малеинат	410 (330 - 500)	59,7	68,6	130,3
5.	МС-438	Цитрат	372 (260 - 540)	43,5	75,2	118,8
6.	МС-435	Салицилат	315 (450 - 590)	74,2	39,4	113,6
7.	МС-443а	Никотинат	1020 (790 - 1370)	62,1	34,3	120,5
	Изоптин			67,3	48,5	115,8
	Обзидан			72,7	47,4	119,8

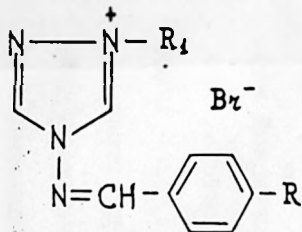
Таблица 3.

Химическая структура и противошлемические свойства
S-замещенных 1,2,4-триазолил-5-тионов



№ п/п	Шифр	R	R ₁	R ₂	X	Противошлемическое действие (снижение показателей в % к контролю)			
						ΣST	ЛД ₅₀	МВ-КФК	Σ%
I.	ЛЕ - I3I	CH ₃	C ₂ H ₅	OH	-	30,3	4I,5	6,7	78,5
2.	ЛЕ - I34	CH ₃	C ₄ H ₉ -H	OH	-	3,8	46,3	33,3	83,4
3.	Е - 84I4	CH ₃	H	OC ₄ H ₉ -	-	40,5	30,3	6,7	77,5
4.	ЛЕ - 226	CH ₃	C ₂ H ₅	OC ₃ H ₇ -	-	22,3	33,3	4I,2	96,8
5.	ЛЕ - I64	CH ₃	C ₄ H ₉ -H	OC ₄ H ₉ -	-	63,2	3I,2	0	94,6
6.	ЛЕ - I74	CH ₃	C ₂ H ₅	NHNH ₂	-	57,2	39,4	58,8	I55,4
7.	Е - 8252	CH ₃	H	-	Морфолиний	50,5	42,8	44,5	I37,8
8.	ЛЕ - I52	CH ₃	C ₂ H ₅	-	Морфолиний	55,1	27,9	33,3	I16,3
9.	ЛЕ - I4I	CH ₃	C ₂ H ₅	-	Na	4,9	4I,2	I3,3	59,4
10.	ЛЕ - I50	CH ₃	C ₄ H ₉ -H	-	Моноэтанол- аммоний	I5,1	38,4	I3,3	66,8
II.	Рибоксин					26,0	2I,6	26,7	74,3

Таблица 4.



Химическая структура и противоопухолевая активность
четвертичных солей I-R-4-бензилиденамино-1,2,4-триазолия

№ п/п:	Шифр	R	R I	Противоопухолевая активность (снижение показателей в % к контролю)			
				Σ ST	ЛД ₅₀	МВ-КФК	Σ %
1.	ЖЕ - 9I	(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₂ COOH	42,7	+56,2	+80,0	+93,5 к 2
2.	ЖЕ - 79	H	CH ₂ CH ₂ CH ₂ COOH	51,8	23,9	64,7	140,4 2
3.	ЖЕ - 8I	OCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ COOH	74,6	63,4	46,7	184,7 2
4.	ЖЕ - 87	Cl	CH ₂ CH ₂ CH ₂ COOH	47,6	39,9	33,3	120,8 2
5.	ЖЕ - 86)	(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ COOH	64,9	45,4	20,0	130,3 2
6.	ЖЕ - II0	(CH ₃) ₂	C ₄ H ₉ -H CH ₂ -COOH	36,2	1,8	+53,3	+15,3 к 2
7.	АЕ- 280	OCH ₃	(CH ₂) ₅ CH ₃	+78,8	+10,6	25,0	+64,4 к 2
8.	АЕ- 345	(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₆ CH ₃	18,2	+ 6,4	25,0	36,8 к 2
9.	АЕ- 34I	OCH ₃	(CH ₂) ₇ CH ₃	66,7	41,8	41,7	150,2 2
10.	АЕ- 347	(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₈ CH ₃	+72,1	+105,2	20,8	+156,2 к 2
11.	АЕ- 40I	(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	84,3	49,3	50,0	183,6 2
12.	Обздан			72,7	47,4	58,8	178,9

Стандарт

35

парата из класса ксантинов – аллопуринола. Однако введение производных ксантина в лечебно–профилактическом режиме при формировании питуитрин–изадринового инфаркта миокарда в большинстве случаев усугубляло его развитие (исключая вещества с шифром ГС–324 и СОП–104). Этот факт, вероятно, связан с тем, что испытанные ксантины являются антигипоксантами мобилизующего типа действия (Ю.Г. Бобков с соавт., 1986). В данном случае не выявлено параллелизма в выраженности антигипооксидантного и кардиопротективного действия.

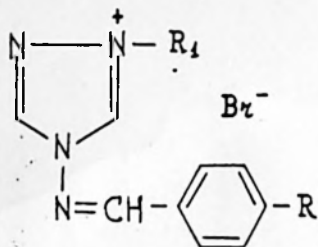
Производные аминохиназолина проявляют значительный противоишемический эффект (табл. 2), конкурирующий по выраженности с эталонными препаратами из групп бета–блокаторов (обзидан) и антагонистов кальция (изоптин). Исследованием механизма действия этих соединений установлено, что они обладают мощным кардиодепрессивным эффектом с торможением внутрисердечной проводимости вплоть до полного атриовентрикулярного блока. Такая характеристика аминохиназолинов предопределила прекращение дальнейших исследований.

Испытанием противоишемического действия S–замещенных 1,2,4–триазолил–5–тионов (табл. 3) и четвертичных солей 1–R–4–бензилиденамино–1,2,4–триазолия (табл. 4) выявлены соединения конкурирующие по эффективности с бета–блокатором обзиданом (ЖЕ–81, АЕ–401) и превышающие эффект эталонного средства метаболической коррекции рибоксина (ЛЕ–174, Е–8252, ЛЕ–152). Следует отметить, что среднеэффективные дозы веществ находятся в диапазоне 1/50 – 1/100 ДД₅₀, т.е. они имеют большую широту терапевтического действия.

Таким образом, высокая эффективность противоишемического действия, низкий уровень токсичности, большая широта терапевтического действия позволяют считать производные 1,2,4–триазола перспективным для кардиологии классом соединений. При анализе фармакологических, физико–химических и фармацевтических свойств испытанных триазолов стало очевидным, что наиболее целесообразно начать их доклинические исследования с соединений Е–8252 и АЕ–401.

Таблица 4.

Химическая структура и противошემическая активность
четвертичных солей I-R-4-бензилиденамино-1,2,4-триаэолия



№ : п/п.	Шифр	R	R I	Противошემическая активность (снижение показателей в % к контролю)			
				Σ ST	ЛДГ _I	МВ-КФК	Σ %
1.	ЖЕ - 9I	(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₂ COOH	42,7	+56,2	+80,0	+93,5
2.	ЖЕ - 79	H	CH ₂ CH ₂ CH ₂ COOH	5I,8	23,9	64,7	I40,4
3.	ЖЕ - 8I	OCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ COOH	74,6	63,4	46,7	I84,7
4.	ЖЕ - 87	CI	CH ₂ CH ₂ CH ₂ COOH	47,6	39,9	33,3	I20,8
5.	ЖЕ - 86	(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ COOH	64,9	45,4	20,0	I30,3
6.	ЖЕ - II0	(CH ₃) ₂	C ₄ H ₉ -H CH ₂ -COOH	36,2	I,8	+53,3	+I5,3
7.	АЕ- 280	OCH ₃	(CH ₆) ₆ CH ₃	+78,8	+I0,6	25,0	+64,4
8.	АЕ- 345	(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₆ CH ₃	I8,2	+ 6,4	25,0	36,8
9.	АЕ- 34I	OCH ₃	(CH ₂) ₇ CH ₃	66,7	4I,8	4I,7	I50,2
IO.	АЕ- 347	(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₈ CH ₃	+72,I	+I05,2	20,8	+I56,2
II.	АЕ- 40I	(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	84,3	49,3	50,0	I83,6
I2.	Обзидан			72,7	47,4	58,8	I78,9

парата из класса ксантинов – аллопуринола. Однако введение производных ксантина в лечебно-профилактическом режиме при формировании питуитрин-изадринового инфаркта миокарда в большинстве случаев усугубляло его развитие (исключая вещества с шифром ГС-324 и СОП-104). Этот факт, вероятно, связан с тем, что испытанные ксантины являются антигипоксантами мобилизующего типа действия (Ю.Г. Бобков с соавт., 1986). В данном случае не выявлено параллелизма в выраженности антигипооксидантного и кардиопротективного действия.

Производные аминохиназолина проявляют значительный противоишемический эффект (табл. 2), конкурирующий по выраженности с эталонными препаратами из групп бета-блокаторов (обзидан) и антагонистов кальция (изоптин). Исследованием механизма действия этих соединений установлено, что они обладают мощным кардиодепрессивным эффектом с торможением внутрисердечной проводимости вплоть до полного атриовентрикулярного блока. Такая характеристика аминохиназолинов предопределила прекращение дальнейших исследований.

Испытанием противоишемического действия S-замещенных 1,2,4-триазолил-5-тионов (табл. 3) и четвертичных солей 1-R-4-бензилиденамино-1,2,4-триазолия (табл. 4) выявлены соединения конкурирующие по эффективности с бета-блокатором обзиданом (ЖЕ-81, АЕ-401) и превышающие эффект эталонного средства метаболической коррекции рибоксина (ЛЕ-174, Е-8252, ЛЕ-152). Следует отметить, что среднеэффективные дозы веществ находятся в диапазоне 1/50 – 1/100 ЛД₅₀, т.е. они имеют большую широту терапевтического действия.

Таким образом, высокая эффективность противоишемического действия, низкий уровень токсичности, большая широта терапевтического действия позволяют считать производные 1,2,4-триазола перспективным для кардиологии классом соединений. При анализе фармакологических, физико-химических и фармацевтических свойств испытанных триазолов стало очевидным, что наиболее целесообразно начать их доклинические исследования с соединений Е-8252 и АЕ-401.

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ, РЕКОМЕНДУЕМЫХ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ МИОКАРДА ПРИ ИБС.

Наличие выраженного противоишемического действия у карнитина хлорида, пикамилона и производного 1,2,4-триазола (E-8252) – тиотриазолина обусловило целесообразность создания на их основе инъекционных препаратов и проведения доклинических исследований. Карнитина хлорид (10%-5мл) и пикамилон (10%-2мл) разработаны в НПО "Витамины", тиотриазолин (2,5%-2мл) в Запорожском медицинском институте.

Доклинические исследования новых препаратов проводились в соответствии с методическими рекомендациями (Н.В.Каверина, Г.Г.Чичканов, 1982), утвержденными Фармакологическим комитетом МЗ СССР и включали изучение их влияния на размеры зон ишемии миокарда, центральную и периферическую гемодинамику в условиях нормы и экспериментальной патологии, а так же исследования механизмов противоишемического действия.

Сравнительная оценка противоишемического действия новых и эталонных препаратов, применяемых в качестве средств метаболической защиты миокарда (глюкозо-инсулин-калиевая смесь, оротат калия, рибоксин, α -токоферол, оксibuтират натрия) выявила преимущества в силе эффекта у исследуемых средств. Так суммарная степень снижения электрокардиографических (ΣST) и биохимических (активность МВ-КФК и ЛДГ₁) показателей ишемического повреждения при введении эталонных средств находилась в пределах 19,0-78,5%, при назначении карнитина хлорида этот показатель составил 111,9%, пикамилона 135,2%, тиотриазолина – 137,8%.

Исследованием влияния препаратов на размеры зон ишемии миокарда установлено, что карнитина хлорид ограничивает их на 24,3%, пикамилон на 38,5%, тиотриазолин на 42,2%, эталонное средство – анаприлин на 30,0%.

Таким образом, опытные образцы новых препаратов по выраженнос-

Таблица 5.

Влияние новых препаратов на размер зон ишемии миокарда

Препарат, доза	Размер зон ишемии в %		Ограничение зоны ишемии в %
	Контроль	Опыт	
Анаприлин 10 мг/кг	24,7 \pm 1,1	17,3 \pm 0,5 *	30,0
Карнитин-С1 50 мг/кг	19,3 \pm 1,3	14,6 \pm 1,0 *	24,3
Пикамилон 100 мг/кг	24,7 \pm 1,1	15,2 \pm 1,6 *	38,5
Тиотриазолин 50 мг/кг	21,9 \pm 3,6	12,3 \pm 0,5 *	42,2

Таблица 6.

Влияние новых препаратов на фонды макроэргических фосфатов и показатели внутриклеточного транспорта энергии в зоне ишемии миокарда

Препарат, группа	А Т Ф	К Ф	КФК - МХ	КФК - ЦТ
Интактная	2,570 \pm 0,105	6,932 \pm 0,335	0,750 \pm 0,038	1,977 \pm 0,077
Контрольная	1,001 \pm 0,190	1,077 \pm 0,149	0,384 \pm 0,035	1,912 \pm 0,222
Карнитин-С1	2,286* \pm 0,128	4,287* \pm 0,842	0,730* \pm 0,070	1,915 \pm 0,171
Пикамилон	1,912* \pm 0,284	3,340 \pm 1,087	0,588 \pm 0,123	1,719 \pm 0,215
Контрольная	2,366 \pm 0,142	1,790 \pm 0,173	0,707 \pm 0,077	0,922 \pm 0,011
Тиотриазолин	3,257* \pm 0,191	1,502 \pm 0,176	0,793 \pm 0,117	1,180 \pm 0,053
Изоптин	3,518* \pm 0,314	2,211 \pm 0,236	1,087* \pm 0,113	1,180 \pm 0,091

Примечание: * - статистическая достоверность различий между контролем и опытом ($p < 0,05$); КФК - креатинкиназа (мкМ/мг/мин), ЦТ - цитоплазмы, МХ - митохондрий; АТФ и КФ в мкМ/г.

ти противоишемического действия превосходили существующие средства метаболической коррекции и не уступали бета-блокаторам.

При исследовании кардиогемодинамических эффектов на анестезированных кошках и изолированных сердцах крыс линии Вистар в условиях нормы и экспериментальной патологии (коронароокклюзия, питуитрин-изадриновое повреждение) выявлено неоднозначное действие препаратов. Карнитина хлорид и тиотриазолин обладают выраженным кардиотоническим эффектом, особенно при ишемической патологии, что проявляется торможением угнетения основных показателей центральной и периферической гемодинамики (ударный и минутный объем, сократимость сердца, артериальное давление и др.). Пикамилон в отсутствие патологии снижает частоту и силу сердечных сокращений, а так же чувствительность миокарда к бета-адренергической стимуляции. При ишемии пикамилон стабилизирует кардиогемодинамические показатели на уровне, необходимом для обеспечения кровоснабжения жизненноважных органов.

Противоишемическое действие новых препаратов обеспечивается различными механизмами. Карнитина хлорид активирует процессы утилизации свободных жирных кислот с повышением продуктивности биоэнергетического обмена и ростом тканевого уровня АТФ. Тиотриазолин препятствует угнетению ферментов окислительного метаболизма, тормозит процессы перекисного окисления липидов, стимулирует адаптивный протеинсинтез в миокарде. Пикамилон снижает потребление миокардом кислорода, препятствует ишемическому угнетению ферментов цикла Кребса и антиоксидантной защиты.

Таким образом, при положительных результатах клинических испытаний инъекционных форм карнитина хлорида, пикамилона и тиотриазолина арсенал отечественных средств лечения ИБС будет пополнен новыми препаратами метаболической защиты миокарда, эффективно ограничивающими размеры зон ишемического повреждения и препятствующими развитию кардиогемодинамических нарушений.

ВЫВОДЫ

1. Ишемические нарушения метаболизма миокарда характеризуются фазностью и наличием взаимосвязи между изменениями процессов биоэнергетического обмена, биосинтеза белка и перекисного окисления липидов.

2. В механизмах биохимической дезадаптации миокарда при дефиците кислорода наиболее существенное значение имеют угнетение реакций гликолиза и цикла трикарбоновых кислот, нарушение утилизации свободных жирных кислот, формирование дисбаланса свободных аминокислот с дефицитом глутаминовой кислоты, треонина и метионина, торможение протеинсинтетических процессов и угнетение антиоксидантных ферментов.

3. В механизмах компенсации энергопродукции при ишемии миокарда существенное значение имеет активация пентозо-фосфатного цикла и процессов транспорта восстановительных эквивалентов к дыхательной цепи, среди которых значительную роль играет малат-аспартатный челночный механизм.

4. Наличие корреляционной связи между изменениями показателей обмена в миокарде, сыворотке крови и эритроцитах позволяет использовать эти показатели в клинике для оценки энергетического статуса миокарда (уровень АТФ в эритроцитах), интенсивности компенсаторных реакций энергопродукции (активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы эритроцитов), состояния антиоксидантной системы (активность глутатионредуктазы эритроцитов), соотношения катаболических и протеинсинтетических процессов (коэффициент общий белок/мочевина сыворотки крови).

5. Среди веществ, влияющих на метаболизм, наиболее выраженный противоишемический эффект оказывают субстраты и коферменты, участвующие в реакциях пентозо-фосфатного цикла, малат-аспартатного челночного механизма, процессах активации и внутриклеточного транспор-

та свободных жирных кислот.

6. Противоишемический эффект анаболических и антиоксидантных средств зависит от энергетической обеспеченности миокарда.

7. Назначение субстратно-коферментных комплексов, содержащих глюкозу, инсулин, панангин, рибоксин, глутаминовую кислоту и пиридоксальфосфат, определяет статистически существенное ускорение темпа ликвидации электрокардиографических и биохимических признаков ишемического повреждения миокарда у больных мелкоочаговым инфарктом и радиокардиографических показателей нарушения сократительной функции сердца у больных прогрессирующей стенокардией.

8. Наличие выраженного противоишемического действия, способности ограничивать зону ишемии и нормализовать гемодинамику обуславливают целесообразность проведения клинических испытаний новых инъекционных форм препаратов карнитина хлорида и пикамилона в качестве средств метаболической защиты в острый период инфаркта миокарда.

9. Высокий уровень противоишемического действия соединений ряда триазолов определяет перспективность поиска и создания на их основе кардиопротективных средств.

10. Выявленные противоишемические свойства, способность ограничивать размеры зон ишемии и стабилизировать кардиогемодинамические показатели обуславливают целесообразность проведения доклинических исследований бромида I-(2-фенилэтил)-4-(п-диметиламинобензилиденамино)-1,2,4-триазиолия и клинических испытаний терапевтических свойств морфолина 3-метил-1,2,4-триазиолил-5-тиоацетата при инфаркте миокарда.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Влияние эуфиллина на метаболические процессы в сыворотке крови и тканях при экспериментальной питуитриновой гипертензии / Дунаев В.В., Тишкин В.С., Самура Б.А., Думич В.И. // Фармакол. и токсикол.- 1983.- №5.- С.40-44.

2. А.с. II72229 СССР МКИ³ С 07 Д 473/06 А 61 К 31/52 Оксисукцинат 7- α -метилфенацил-8- Π -пиперазино-3-метилксантина, проявляющий антигипоксическую и актопротекторную активность / Тишкин В.С., Прийменко Б.А., Сейфулла Р.Д. и др.- 1985.- 7 с. (не подлежит опубликованию в открытой печати).

3. А.с. II90623 СССР МКИ³ С 07 Д 487/14 А 61 К 31/52 Трис(оксиметил)аминометановая соль 1,3,8-триметил-2-фенилимидазо(1,2-f)ксантинил-6-тиоуксусной кислоты, проявляющая актопротекторную активность / Прийменко Б.А., Тишкин В.С., Португалов С.Н. и др.- 1985.- 4 с. (не подлежит опубликованию в открытой печати).

4. А.с. I216967 МКИ³ СССР С 07 Д 473/06 А 61 К 31/52 Триметиламинометановая соль 7- α -метилфенацил-3-метилксантинил-8-тиоуксусной кислоты, проявляющая актопротекторную активность / Дунаев В.В., Прийменко Б.А., Тишкин В.С. и др.- 1985.- 4 с. (для служебного пользования).

5. Тишкин В.С., Никоненко Т.Н., Сырцов В.К. Морфо-функциональная характеристика новодринового и питуитрин-новодринового поражения миокарда // Тез. докл. У съезда фармакологов Украинской ССР.- Запорожье, 1985.- С.160-161.

6. Тишкин В.С., Милонова Н.П., Никоненко Т.Н. Динамика морфо-биохимических и электрокардиографических изменений, развивающихся после экспериментального коронарогенно-метаболического инфаркта миокарда у крыс // Нервные и гуморальные механизмы компенсации в условиях действия патогенных факторов: Тез. докл. науч. конф. Украинского респ. о-ва патофизиологов.- Запорожье, 1985.- С.135-135.

✓ 7. А.с. 1280855 СССР МКИ³ С 07 Д 473/06 А 61 К 31/52 Трис(оксиметил)аминометановая соль 7-*d*-метилфенацил-3-метилксантинил-8-тиоуксусной кислоты, проявляющая актопротекторную активность / Дунаев В.В., Прийменко Б.А., Тишкин В.С. и др. - 1986. - 2 с. (для служебного пользования).

8. Тишкин В.С., Милонова Н.П., Сливко С.Ф. Состояние липидного обмена у овариоэктомированных крыс различных возрастных групп // У Всесоюз. биохимический съезд: Тез. стендовых сообщений. - М., 1986. - Т.3. - С.139-139.

9. Влияние рибоксина на метаболизм сердечной мышцы / Тишкин В.С., Белай И.М., Евдокимов Е.И., Башкин И.Н. // Акт. проблемы профилактики, диагностики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний: Сб. науч. тр. - М., 1986. - С.62-62.

10. Биохимическая оценка процессов энергообеспечения и состояния гомеостаза в тканях организма животных подвергнутых дозированной физической нагрузке / Сейфулла Р.Д., Тишкин В.С., Белоус М.В. и др. // Биохимические критерии развития физических качеств: сб. науч. тр. - М., 1986. - С.170-181.

11. А.с. 1322658 СССР МКИ³ С 07 Д 487/14 А 61 К 31/52 Гидроксисукцинат 1-бензил-2,8-диметил-3-*N*-морфолинометилимидазо(1,2-*f*)ксантина, проявляющий антигипоксическую активность / Тишкин В.С., Гармаш С.Н., Прийменко Б.А. и др. - 1987. - 4 с. (для служебного пользования).

12. Тишкин В.С., Евдокимов Е.И., Фаворитов В.Н. Изменения содержания и активности креатинфосфокиназы в сыворотке крови при экспериментальном инфаркте миокарда и состояниях, способствующих его развитию // Применение ферментов в медицине: тез. докл. респ. науч. конф. - Симферополь, 1987. - С.71-72.

✓ 13. Роль отдельных путей клеточных биоэнергетических процессов в обеспечении физической работоспособности / Дунаев В.В., Тишкин В.С., Белай И.М. и др. // XV съезд Всесоюз. физиологического о-ва

им. И.П.Павлова: тез. науч. сообщений.- Кишинев, 1987.- Т.2.-С.11-12.

✓ 14. Биологическая активность суммы валепотриатов, выделенных из валерианы чесночникомлистной / Дунаев В.В., Тржецинский С.Д., Тишкин В.С. и др. // Фармакол. и токсикол.- 1987.- №6.- С.33-37.

✓ 15. Нейротропная активность суммы валепотриатов из валерианы чесночникомлистной / Тржецинский С.Д., Дунаев В.В., Тишкин В.С., Фурса Н.С. // Хим.-фармац. журн.- 1987.- №11.- С.1344-1348.

✓ 16. Зависимость между структурой и повышающим толерантность к физическим нагрузкам и гипоксии действием в ряду замещенных и аннелированных производных ксантинов / Дунаев В.В., Прийменко Б.А., Тишкин В.С. и др. // Научно-технический прогресс и оптимизация технологических процессов создания лекарственных препаратов: Тез.докл. Всесоюз. науч. конф.- Львов, 1987.- С.143-144.

17. Принципы метаболической коррекции при некрозе миокарда и регуляция энергетического обмена мозга ноотропилем с целью профилактики нарушений функции ЦНС у больных острым инфарктом миокарда: метод. рекомендации.- Запорожье, 1987.- 17 с. Авторы - Якушев В.С., Безбородько Б.Н.... Тишкин В.С. и др.

✓ 18. А.с. 1426052 СССР МКИ⁴ С 07 Д 498/14 А 61 К 31/52 2-Хлорметил-6-Н-8-метилоксазолино-(3,2-f)ксантин, проявляющий актопротекторную активность / Дунаев В.В., Тишкин В.С., Гармаш С.Н. и др.- 1988.- 2 с.(для служебного пользования).

✓ 19. Коррекция гипоксических нарушений метаболизма, вызываемых физической нагрузкой / Тишкин В.С., Дунаев В.В., Белаи И.М. и др.// Фармакологическая коррекция гипоксических состояний: Тез.докл. I Всесоюз. конф.- Ижевск, 1988.- С.124-125.

✓ 20. Возрастные особенности изменений биоэнергетического метаболизма сердца при экспериментальном инфаркте миокарда / Тишкин В.С. Дунаев В.В., Милонова Н.П. и др. // Тез. и реф. докл. I съезда геронтологов и гериатров УССР.- Киев, 1988.- С.258-258.

21. Роль средств метаболической коррекции в комбинированной терапии ишемической болезни сердца (ИБС) / Тишкин В.С., Милонова Н.П., Калинина Н.Н. и др. // Фармакология и научно-технический прогресс: Тез. докл. УІ Всесоюз. съезда фармакологов.- Ташкент, 1988.- С.371-372.

✓ 22. Влияние ноотропила и интермедиатов углеводно-энергетического обмена на устойчивость животных к гипоксии / Дунаев В.В., Стец В.Р., Башкин И.Н., Тишкин В.С. // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний: Тез. докл. I Всесоюз. конф.- Ижевск, 1988.- С.43-43.

✓ 23. Влияние солей яблочной кислоты на физическую работоспособность и ее восстановление после истощающей мышечной деятельности / Дунаев В.В., Тишкин В.С., Милонова Н.П. и др. // Фармакол. и токсикол.- 1988.- №3.- С.21-24.

✓ 24. А.с. 1499899 СССР МКл⁴ С 07 Д 487/14 А 61 К 31/52 I-Бензил-2,3,8-триметилимидазо(1,2-f)ксантин, повышающий общую физическую работоспособность в условиях анаэробного режима / Дунаев В.В., Тишкин В.С., Скульская Е.А. и др.- 1989.- 3 с. (для служебного пользования).

25. А.с. 1512095 СССР МКл⁴ С 07 Д 513/14 А 61 К 31/52 3-п-Метоксифенил-8-метилтиазоло(3,2-f)ксантин, повышающий общую физическую работоспособность в условиях анаэробного режима / Гармаш С.Н., Тишкин В.С., Скульская Е.А. и др. // - 1989.- 3 с. (для служебного пользования).

27. А.с. 1529688 СССР МКл⁴ С 07 Д 473/06 А 61 31/52 8-α-Метилбензоилметилтио-3-метилксантин, повышающий общую физическую работоспособность в условиях анаэробного режима / Тишкин В.С., Гармаш С.Н., Скульская Е.А. и др.- 1989.- 2 с. (для служебного пользования).

28. Положительное решение ГНТЭИ по заявке № 4435940/31-04 (086587) МКИ С 07 Д 473/06 А 61 К 31/52 7-α-Метилфенацил-8-N-

Н-диметиламино-3-метилксантина, повышающий общую физическую работоспособность в условиях анаэробного режима / Тишкин В.С., Гармаш С.Н., Скульская Е.А. и др. - (публикации не подлежат).

29. Положительное решение ГНТЭИ по заявке № 4379956/30-04/024I75 МК^И С 07 Д 487/14 А 6I К 3I/52 I-Бензил-2-п-толил-6,8-диметилимидазо(I,2-f)ксантинил-3-карбальдегид, повышающий общую физическую работоспособность в условиях анаэробного режима / Гармаш С.Н., Тишкин В.С., Скульская Е.А. и др. (публикации не подлежат).

30. Положительное решение ГНТЭИ по заявке № 4638888/04 МК^{И4} С 07 Д 239/94 А 6I К 3I/52 Никотинат 4-(I-фенил-2,3-диметилпиразолон-5-ил-4) аминохиназолина дигидрат и салицилат 4-(I-фенил-2,3-диметилпиразолон-5-ил-4) аминохиназолина, проявляющие кардиопротекторное и ранозаживляющее действие / Синяк Р.С., Коваленко С.И., Тишкин В.С. и др. (публикации не подлежат)

31. Положительное решение ГНТЭИ по заявке 46I77I0/30-04 МК^{И4} С 07 Д 239/94 А 6I К 3I/52 Малеинат 4-(I-фенил-2,3-диметилпиразолон-5-ил-4)-аминохиназолина, проявляющий кардиопротекторную активность / Синяк Р.С., Коваленко С.И. ... Тишкин В.С. и др. (публикации не подлежат).

32. Положительное решение ГНТЭИ по заявке № 463079I/04 МК^{И4} С 07 Д 239/94 А 6I К 3I/52 Цитрат 4(I-фенил-2,3-диметилпиразолон-5-ил-4)аминохиназолина гидрат, проявляющий кардиопротекторную активность / Синяк Р.С., Коваленко С.И. ... Тишкин В.С. и др. (публикации не подлежат).

33. Тишкин В.С., Евдокимов Е.И., Бондаренко А.П. Применение показателя соотношения активности Н- и М- изоформ лактатдегидрогеназы как критерия эффективности терапии инфаркта миокарда. - Киев, 1989. - 3 с. - (Информ. письмо/РЦНИИ, вып.2).

34. Губка А.В., Тишкин В.С. Липидный обмен и выбор метода реконструктивной операции у больных облитерирующим атеросклерозом

артерий нижних конечностей // Клинич. хирургия.- 1989.- №7.- С.18-20.

✓ 35. Сравнительная фармакологическая активность пикамилона и пирацетама в условиях моделирования ишемического и геморрагического повреждения головного мозга / Дунаев В.В., Башкин И.Н., Тишкин В.С. и др. // Пикамилон - новый цереброваскулярный и ноотропный препарат (результаты экспериментального и клинического изучения): Тез. Всесоюз. конф.- М., 1989.- Ч.1.- С.51-59.

✓ 36. Влияние эмоционально-болевого стресса на некоторые процессы обмена веществ в тканях мозга и сердца / Дунаев В.В., Башкин И.Н. ... Тишкин В.С. и др. // Стресс и иммунитет (психинейроиммунология): Тез. докл. Всесоюз. конф.- Л., 1989.- С.229-230.

✓ 37. Исследование антиангинальной активности соединений ряда триазолов / Тишкин В.С., Дунаев В.В., Кныш Е.Г. и др. // Синтез фармакология и клинические аспекты новых психотропных и сердечно-сосудистых средств: Тез. докл. межреспубл. научно-практ. конф.- Волгоград, 1989.- С.184-185.

38. Значение метаболической коррекции нарушений биоэнергетических процессов в ограничении ишемического повреждения миокарда // Тишкин В.С., Фаворитов В.Н., Беленичев И.Ф. и др. // IV Всесоюзн. съезд патофизиологов: Тез. докл.- М., 1989.- Т.3.- С.1039-1039.

✓ 39. Исследование аминокислотного обмена ишемизированного миокарда и оценка эффективности его коррекции / Тишкин В.С., Дунаев В.В., Фаворитов В.Н., Данильченко М.Н.- Запорожский мед. ин-т.- Запорожье, 1989.- 14 с.- (Рукопись деп. в Укр.НИИНТИ.- №2242-Ук89).

✓ 40. Тишкин В.С., Дунаев В.В., Беленичев И.Ф. Особенности метаболизма в сердечной мышце при экспериментальном атеросклерозе и инфаркте миокарда. Запорожский мед. ин-т.- Запорожье, 1989.- 8 с.- (Рукопись деп. в Укр.НИИНТИ 19.10.89.- №2243- Ук89).

✓ 41. К механизму действия рибоксина / Дунаев В.В., Тишкин В.С., Евдокимов Е.И., Белая И.М. // Фармакол. и токсикол.- 1989.- №6.-

С.56-58.

✓ 42. Белай И.М., Дунаев В.В., Тишкин В.С. Фармакологическая оценка метаболических эффектов ацефена, ноотропила и рибоксина // Фармакол. и токсикол.: Респ. межвед. сб.- Киев, 1988.- вып.23.- С.3-6.

43. Положительное решение ГНТЭИ по заявке 4686971/30-04 (062977) МКИ⁴ С 07 Д 249/12 А 61 К 31/41 Морфолиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5- α -тиомасляной кислоты, обладающий антиишемической активностью / Черковская Л.Г., Кныш Е.Г. ... Тишкин В.С. и др.- ИЗ.ИИ.89 (публикации не подлежит).

44. Стец В.Р., Тишкин В.С., Евдокимов Е.И. Эффективность хиназопирина, препарата Е и рибоксина при экспериментальном инфаркте миокарда // Врач. дело.- 1989.- №12.- С.13-14.

✓ 45. Влияние антигипоксантов на биоэнергетические процессы и перекисное окисление липидов в ишемизированном миокарде / Тишкин В.С., Дунаев В.В., Фаворитов В.Н. и др. // Фармакол. и токсикол.: Респ. межвед. сб.- Киев, 1990.- вып. 25.- С.35-40.

46. Tishkin V.S., Dunaev V.V. Pharmacobiochemical principles of rational use of metabolic correction agents in case of combined therapy of ischemic heart disease // Abstr. 14 th symposium clinical Pharmacology.- Berlin, 1989.- P. 29-30.

Т.И.И.И.