

УДК 616.131:616.12-008.331.1]-021.6-085
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-14-22>

Фармакологические эффекты нового стимулятора растворимой гуанилатциклазы при экспериментальной легочной артериальной гипертензии

Быков В.В.^{1,2}, Быкова А.В.², Станкевич С.А.², Алиев О.И.³, Сидехменова А.В.³, Дунаева О.И.³, Хазанов В.А.², Венгеровский А.И.¹, Удут В.В.³

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² ООО «Инновационные Фармакологические Разработки» (ООО «Ифар»)
Россия, 634021, г. Томск, ул. Елизаровых 79/4

³ Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины (НИИФирМ)
им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ)
Российской академии наук
Россия, 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – изучить влияние GRS на сократительную активность правого желудочка сердца, вазодилатирующую функцию эндотелия и гистологические изменения в легких и сердце на модели легочной гипертензии, вызванной введением монокроталина у крыс.

Материалы и методы. У самцов крыс линии Wistar воспроизводили легочную артериальную гипертензию (ЛАГ) однократным подкожным введением монокроталина в дозе 60 мг/кг. Начиная с 15-х сут после моделирования ЛАГ крысам в течение 14 сут вводили в желудок соединение GRS в дозе 10 мг/кг или риоцигуат в дозе 1 мг/кг. После последнего введения веществ измеряли давление крови в правом желудочке сердца, массу правого желудочка, оценивали вазодилатирующую функцию эндотелия и изучали гистологическое строение легких и сердца.

Результаты. Через 28 сут после введения монокроталина у крыс развивалась модель ЛАГ: повышались максимальное давление крови в правом желудочке сердца и отношение массы стенки правого желудочка к массе сердца. Соединение GRS при курсовом введении уменьшало максимальное давление крови в правом желудочке сердца, не оказывало статистически значимого влияния на его сократительную активность, улучшало вазодилатирующую функцию эндотелия, нормализовало системное артериальное давление. Риоцигуат оказывал гипотензивный эффект и не устранял дисфункцию эндотелия при экспериментальной легочной артериальной гипертензии.

Заключение. Стимуляторы растворимой гуанилатциклазы, производное индолинона GRS и риоцигуат снижают давление крови в правом желудочке сердца, соединение GRS устраняет проявления эндотелиальной дисфункции у животных с моделью ЛАГ.

Ключевые слова: модель легочной артериальной гипертензии, стимуляторы растворимой гуанилатциклазы, производное индолинона GRS, риоцигуат

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке АО «Органика» и фонда «Сколково» (соглашение № Г 38/20 от 17.11.2020).

✉ Быков Владимир Валерьевич, preclin5_dep@iphar.ru

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальными этическими комитетами СибГМУ (протокол № 5378 от 24.10.2016), ООО «Ифар» (протокол № 113/2019 от 28.09.2021) и НИИФиРМ Томского НИМЦ (протокол № 185092021 от 11.10.2021).

Для цитирования: Быков В.В., Быкова А.В., Станкевич С.А., Алиев О.И., Сидехменова А.В., Дунаева О.И., Хазанов В.А., Венгеровский А.И., Удут В.В. Фармакологические эффекты нового стимулятора растворимой гуанилатциклазы при экспериментальной легочной артериальной гипертензии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):14–22. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-14-22>.

Pharmacological effects of a new soluble guanylate cyclase stimulator in experimental pulmonary arterial hypertension

Bykov V.V.^{1,2}, Bykova A.V.², Stankevich S.A.², Aliev O.I.³, Sidekhmenova A.V.³, Dunaeva O.I.³, Khazanov V.A.², Vengerovskii A.I.¹, Udut V.V.³

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Innovative Pharmacology Research LLC (IPHAR LLC)

79/4, Elizarovykh Str., Tomsk, 634021, Russian Federation

³ Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences (RAS)

3, Lenina Av., Tomsk, 634028, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the effect of an indolinone derivative (2-[2-[(5RS)-5-(hydroxymethyl)-3-methyl-1,3-oxazolidine-2-yliden]-2-cyanoethylidene]-1H-indole-3(2H)-one (codename – GRS) on right ventricular contractility, endothelial vasodilator function, and histologic changes in the lungs and heart in a rat model of monocrotaline-induced pulmonary hypertension.

Materials and methods. Pulmonary arterial hypertension (PAH) was induced in Wistar rats by a single subcutaneous administration of monocrotaline at a dose of 60 mg / kg. Starting from day 15 after PAH induction, the rats received either GRS at a dose of 10 mg / kg or riociguat at a dose of 1 mg / kg orally once a day. Blood pressure in the right ventricle, right ventricular weight, endothelial vasodilator function, and the histologic structure of the lungs and heart were studied after the last administration of test substances.

Results. Twenty-eight days after monocrotaline administration, the rats developed PAH, as shown by the increase in the maximal blood pressure in the right ventricle and the right ventricular weight / total heart weight ratio. GRS after multiple administration reduced the maximal blood pressure in the right ventricle, had no significant effect on its contractility, improved endothelial vasodilator function, and normalized blood pressure. Riociguat had a hypotensive effect and did not alleviate endothelial dysfunction in experimental PAH.

Conclusion. The indolinone derivative GRS and riociguat, both soluble guanylate cyclase stimulators, lowered blood pressure in the right ventricle. GRS also alleviated endothelial dysfunction in animals with experimental PAH.

Keywords: pulmonary arterial hypertension model, soluble guanylate cyclase stimulators, indolinone derivative GRS, riociguat

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The work was carried out with the financial support of JSC Organika and the Skolkovo Foundation (Grant Agreement No. Г 38/20 of 17.11.2020).

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 5378 of 24.10.2016), IPHAR LLC (Protocol No. 113/2019 of 28.09.2021), and the Bioethics Committee at Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMC (Protocol No. 185092021 of 11.10.2021).

For citation: Bykov V.V., Bykova A.V., Stankevich S.A., Aliev O.I., Sidekhmenova A.V., Dunaeva O.I., Khazanov V.A., Vengerovskii A.I., Udut V.V. Pharmacological effects of a new soluble guanylate cyclase stimulator in experimental pulmonary arterial hypertension. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):14–22. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-14-22>.

ВВЕДЕНИЕ

При легочной артериальной гипертензии (ЛАГ) среднее давление в малом круге кровообращения повышается до ≥ 25 мм рт. ст., в легочной артерии возникает гиперплазия эндотелия и гладкомышечных клеток, в легких формируются периваскулярные воспалительные инфильтраты и фиброз, развивается гипертрофия правого желудочка сердца [1].

Одним из пусковых механизмов развития ЛАГ является дисфункция эндотелия сосудов легких с уменьшением продукции сосудорасширяющих и антитромботических факторов – оксида азота (NO) и простаглицина [2]. При дефиците NO нарушаются активация растворимой гуанилатциклазы (pГЦ) гладких мышц сосудов и биосинтез вторичного мессенджера – циклического 3',5'гуанозинмонофосфата (цГМФ) [3, 4]. Для лечения ЛАГ и хронической тромбоземболической легочной гипертензии у людей старше 18 лет применяют независимый от NO стимулятор pГЦ риоцигуат. Он увеличивает чувствительность гема pГЦ к низким концентрациям NO за счет стабилизации связи NO–pГЦ и повышает продукцию цГМФ. Этот циклический нуклеотид активирует кальцийзависимую АТФазу саркоплазматического ретикулаума гладких мышц сосудов, что сопровождается депонированием ионов кальция, расширением сосудов легких, улучшением легочного кровотока и функций легких [5].

Новое производное индолинона 2-[2-[(5RS)-5-(гидроксиметил)-3-метил-1,3-оксазолидин-2-илиден]-2-цианоэтилиден]-1H-индол-3(2H)-она (шифр – GRS) повышает активность pГЦ без участия NO, оказывает антиагрегантное действие, уменьшает только повышенное артериальное давление и восстанавливает функции эндотелия при их нарушении [6, 7].

Цель исследования – изучить влияние GRS на сократительную активность правого желудочка сердца, вазодилатирующую функцию эндотелия и гистологические изменения в легких и сердце на модели легочной гипертензии, вызванной введением монокроталина у крыс.

В работе исследовано влияние соединения GRS на давление крови в правом желудочке сердца, функции эндотелия, гистологическое строение легких и сердца при модели ЛАГ, вызванной у крыс введением монокроталина – пирролизидинового алкалоида

кроталирии нарядной. Образующийся в печени его активный метаболит монокроталинпиррол активизирует чувствительный к кальцию внеклеточный рецептор эндотелия легочных сосудов, связывается с ДНК, останавливает деление клеток, повышает проницаемость мембран, вызывает апоптоз эндотелия легочных сосудов и альвеолоцитов [8–10]. В качестве препарата сравнения использовали риоцигуат.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 60 самцах крыс линии Wistar массой тела 250–320 г, полученных из отдела экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ Томского НИМЦ. Крыс размещали по 5–8 особей в стандартных пластиковых клетках фирмы VELAZ (Чехия) при температуре воздуха 20–23 °С, влажности не более 50%, объеме воздухообмена (вытяжка : приток) 8 : 10, световом режиме (день : ночь) 1 : 1. Содержание животных и уход за ними осуществляли в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Директива 2010/63/EU). Исследование проведено с соблюдением принципов и правил надлежащей лабораторной практики, одобрено этическими комитетами Сибирского государственного медицинского университета (протокол № 5378 от 24.10.2016), ООО «Ифар» (протокол № 113/2019 от 28.09.2021) и НИИФиРМ Томского НИМЦ (протокол № 185092021 от 11.10.2021).

Крыс разделяли на четыре группы: группа 1 – интактные животные ($n = 12$), группы 2–4 – животные с моделью ЛАГ ($n = 16$ в каждой группе), из них животные контрольной группы 2 не получали исследуемые вещества, животные группы 3 получали соединение GRS, животным группы 4 вводили препарат сравнения риоцигуат (Selleckchem, США).

Для моделирования ЛАГ крысам однократно вводили под кожу монокроталин (Sigma-Aldrich, США) в дозе 60 мг/кг. Монокроталин растворяли в 0,5 н HCl, затем pH доводили до 7,4 с помощью 0,5 н NaOH [11].

Производное индолинона GRS в дозе 10 мг/кг и риоцигуат в дозе 1 мг/кг в форме суспензии в 1%-й крахмальной слизи вводили в желудок 1 раз/сут ежедневно в течение 14 сут, начиная с 15-х сут после введения монокроталина. Доза соединения GRS

близка ED_{50} по антитромботической активности и была установлена в предварительно проведенных экспериментах [6]. Доза риоцигуата (1 мг/кг) близка верхней границе диапазона доз (0,03–3 мг/кг), в которых это лекарственное средство оказывает антигипертензивное действие. Интактные животные и крысы контрольной группы получали 1%-ю крахмальную слизь по той же схеме, что и исследуемые вещества.

На 28-е сут после моделирования ЛАГ у половины крыс каждой группы измеряли давление крови в правом желудочке сердца, его массу и изучали гистологическое строение легких и правого желудочка. У другой половины животных исследовали изменение артериального давления в ответ на введение эндотелий-зависимых и эндотелий-независимых вазодилататоров.

Давление крови в правом желудочке измеряли с помощью высокоскоростной системы сбора и анализа данных MP150 (BiopacSystems Inc., США) и блока для регистрации давления с микродатчиком TSD282 (OpSens, Канада). Крысам под ингаляционным наркозом изофлураном через яремную вену вводили в правый желудочек сердца микродатчик давления. Данные записывали и обрабатывали на компьютере с помощью программы AcqKnowledge 4.2 для MP150 (Biopac, США). Определяли максимальное (P_{max}) и минимальное (P_{min}) давление крови в правом желудочке сердца в мм рт. ст. и максимальную скорость изменения давления на протяжении одного цикла сокращения сердца (dP/dt_{max}) в мм рт. ст./с, рассчитывали сократительный индекс (CI, 1/с).

Крыс после регистрации давления крови в правом желудочке сердца выводили из эксперимента в камеру, заполненной углекислым газом. Определяли массу сердца и стенки правого желудочка. Степень гипертрофии правого желудочка рассчитывали в мг/мг как отношение массы стенки правого желудочка к массе сердца (МПЖ/МС).

Для оценки функционального состояния эндотелия крысам под наркозом изофлураном в правую сонную артерию имплантировали катетер с целью регистрации артериального давления. Фармакологические агенты вливали в правую бедренную вену в виде болюса. Среднее артериальное давление (САД) регистрировали непрерывно с помощью высокоскоростной системы сбора и обработки данных MP150, блока усиления DA100C и датчика TSD104A (программное обеспечение Acqknowledge 4.2.0, США). Эндотелий-зависимое расширение сосудов регистрировали по снижению САД в ответ на внутривенное введение ацетилхолина хлорида (АХ) в дозе 5 мкг/кг [12], эндотелий-независимое – как реакцию

САД на вливание нитропрусида натрия дигидрата (НП) в дозе 10 мкг/кг [13]. Степень расширения сосудов оценивали по площади треугольника над кривой восстановления САД при введении АХ или НП, при этом меньший катет представляет собой величину снижения САД (Δ САД) в ответ на введение сосудорасширяющего средства (мм рт. ст.), больший – время восстановления САД после проведения пробы (с). Вычисляли коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) как отношение площади треугольника над кривой восстановления САД после введения НП к площади треугольника над соответствующей кривой после введения АХ [14].

Ткани легких и правого желудочка сердца исследовали гистологически на депарафинированных срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. Гистологические препараты просматривали с помощью светооптического микроскопа Axio Lab A1 (Carl Zeiss, Германия) при $\times 50$ и фотографировали с использованием программы ZEN (Carl Zeiss, Германия).

Результаты обрабатывали статистически с помощью программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft, США). Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего значения. Для множественного сравнения применяли критерий Краскела – Уоллиса, для межгруппового – критерий Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В правом желудочке сердца интактных животных P_{max} составляло $24,0 \pm 2,9$ мм рт. ст., P_{min} $-3,3 \pm 1,1$ мм рт. ст. Показатели dP/dt_{max} и CI были равны, соответственно, $53,7 \pm 4,4$ мм рт. ст./с и 596 ± 76 1/с (табл. 1). Эти значения не отличаются от нормальных [15, 16].

Через 4 нед после введения монокроталина (контроль) P_{max} в правом желудочке сердца крыс возрастало в 1,5 раза, что свидетельствует о развитии модели ЛАГ. P_{min} снижалось в 1,7 раза по сравнению с давлением крови у интактных животных. Показатель dP/dt_{max} повышался в 1,8 раза ($p < 0,05$). Сократительный индекс CI регистрировался таким же, как у интактных крыс. Данные факты указывают на компенсаторное усиление сердечных сокращений.

После курсового введения соединения GRS P_{max} в правом желудочке сердца составляло $42,6 \pm 3,1$ мм рт. ст. и было значительно ниже, чем при экспериментальной ЛАГ ($p < 0,05$), хотя полностью не нормализовалось. P_{min} составляло $-3,4 \pm 0,8$ мм рт. ст., было в 1,6 раза меньше давления в контроле и не отличалось от давления у интактных крыс. Показатели CI и dP/dt_{max} статистически значимо не отличались от показателей при модели ЛАГ.

Таблица 1

Влияние соединения GRS (10 мг/кг) и риоцигуата (1 мг/кг) на давление крови в правом желудочке сердца крыс с моделью ЛАГ, $M \pm m$				
Группа животных	P_{\max} , мм рт. ст.	P_{\min} , мм рт. ст.	СИ, 1/с	dP/dt_{\max} , мм рт. ст./с
Интактные крысы, $n = 6$	$24,0 \pm 2,3$	$-3,3 \pm 1,1$	$53,7 \pm 4,4$	596 ± 76
Крысы с моделью ЛАГ (контроль), $n = 8$	$54,3 \pm 3,2^*$	$-5,6 \pm 0,3^*$	$45,6 \pm 1,4$	$1\,082 \pm 62^*$
Крысы с моделью ЛАГ, получавшие:				
– соединение GRS, $n = 8$	$42,6 \pm 3,1^{*+}$	$-3,4 \pm 0,8^+$	$49,6 \pm 3,6$	$902 \pm 60^*$
– риоцигуат, $n = 8$	$42,1 \pm 4,0^{*+}$	$-3,0 \pm 1,5$	$45,8 \pm 1,5$	$930 \pm 72^*$

$p < 0,05$ по сравнению с показателем: * интактных животных, + контрольных животных.

При курсовом введении риоцигуата крысам с экспериментальной ЛАГ P_{\max} в правом желудочке сердца уменьшалось в 1,3 раза (до $42,1 \pm 4,0$ мм рт. ст.) по сравнению с давлением крови в контрольной группе ($p < 0,05$), но статистически значимо превышало давление у интактных животных. dP/dt_{\max} и СИ оставались такими же, как у крыс, получавших только монокроталин. Показатели P_{\max} , СИ и dP/dt_{\max} при введении соединения GRS и риоцигуата статистически значимо не различались ($p > 0,05$) (см. табл. 1).

Производное индолинона GRS и риоцигуат в равной степени снижали P_{\max} в правом желудочке сердца крыс с моделью ЛАГ. Соединение GRS также нормализовало P_{\min} .

У интактных животных индекс МПЖ/МС составлял $0,222 \pm 0,006$ мг/мг, у крыс с моделью ЛАГ он увеличивался в 1,5 раза ($p < 0,05$). Такие изменения свидетельствуют о гипертрофии правого желудочка, развившейся на фоне повышенного артериального давления в малом круге кровообращения. Под влиянием

соединения GRS и риоцигуата индекс МПЖ/МС оставался повышенным ($p > 0,05$) (табл. 2).

Таблица 2

Влияние соединения GRS (10 мг/кг) и риоцигуата (1 мг/кг) на отношение массы правого желудочка к массе сердца у крыс с моделью ЛАГ, $M \pm m$	
Группа животных	МПЖ/МС мг/мг
Интактные крысы, $n = 6$	$0,222 \pm 0,006$
Крысы с моделью ЛАГ (контроль), $n = 8$	$0,332 \pm 0,013^*$
Крысы с моделью ЛАГ, получавшие:	
– соединение GRS, $n = 8$	$0,306 \pm 0,020^*$
– риоцигуат, $n = 8$	$0,314 \pm 0,020^*$

* $p < 0,05$ по сравнению с показателем интактных животных.

У интактных крыс САД в ответ на введение АХ снижалось с 111 ± 4 до 42 ± 2 мм рт. ст., при экспериментальной ЛАГ – с 92 ± 3 до 34 ± 2 мм рт. ст. Такие изменения свидетельствуют об ослаблении реакции сосудов на эндотелийзависимый вазодилататор АХ ($p < 0,05$) (табл. 3).

Таблица 3

Влияние соединения GRS (10 мг/кг) и риоцигуата (1 мг/кг) на вазодилатирующую функцию эндотелия у крыс с моделью ЛАГ, $M \pm m$				
Группа животных	Ацетилхолина хлорид, 5 мг/кг			
	САД, мм рт. ст.	Δ САД, мм рт. ст.	Время восстановления САД, с	Площадь треугольника над кривой восстановления САД, мм рт. ст. с
Интактные крысы, $n = 6$	111 ± 4	42 ± 2	56 ± 11	$1\,121 \pm 151$
Крысы с моделью ЛАГ (контроль), $n = 8$	$92 \pm 3^*$	$34 \pm 2^*$	58 ± 6	993 ± 115
Крысы с моделью ЛАГ, получавшие:				
– соединение GRS, $n = 8$	102 ± 5	$41 \pm 3^{\#}$	$73 \pm 5^*$	$1\,489 \pm 151^+$
– риоцигуат, $n = 8$	$87 \pm 3^*$	$29 \pm 2^*$	$98 \pm 13^+$	$1\,467 \pm 228$

Здесь и в табл. 4: $p < 0,05$ по сравнению с показателем: * интактных животных; + контрольных животных; # животных, получавших риоцигуат.

Уменьшение САД в большом круге кровообращения при ЛАГ, вызванной введением монокроталина, отмечается в большинстве исследований [17]. Этот эффект обусловлен снижением сердечного выброса, а также гипоксемией, вызывающей расширение сосудов [18]. Кроме того, при ЛАГ уменьшается

активность ангиотензинпревращающего фермента в легких, что нарушает продукцию ангиотензина II с ослаблением его сосудосуживающего действия [19]. Менее выраженная реакция САД на введение АХ у крыс с моделью ЛАГ подтверждает развитие дисфункции сосудистого эндотелия.

САД и Δ САД у крыс, получавших соединение GRS, были выше значений, регистрируемых при модели ЛАГ, и не отличались от показателей интактных животных. При введении риоцигуата САД и Δ САД оставались такими же, как при модели ЛАГ. Более выраженное чем у риоцигуата влияние соединения GRS на показатель Δ САД при введении АХ, вероятно, обусловлено его способностью увеличивать продукцию NO в эндотелии.

Риоцигуат значительно удлинял время восстановления САД как после введения АХ, так и после введения НП. Соединение GRS замедляло восстановление САД после введения АХ, но в меньшей степени,

чем риоцигуат. Можно предположить, что риоцигуат сильнее стимулирует рГЦ, прочнее связывается с молекулами фермента или больше стабилизирует связь рГЦ–NO [20]. Доказательством эндотелийпротективного влияния соединения GRS служит большая площадь треугольника над кривой восстановления САД по сравнению с площадью после введения риоцигуата ($p < 0,05$).

В ответ на введение НП САД у интактных животных снижалось с 114 ± 4 до 51 ± 2 мм рт. ст. При модели ЛАГ реакция САД на НП ослаблялась ($p < 0,05$) (табл. 4). Это указывает на уменьшение чувствительности рГЦ к активирующему влиянию NO [20].

Таблица 4

Влияние соединения GRS (10 мг/кг) и риоцигуата (1 мг/кг) на эндотелиальную дисфункцию у крыс с моделью ЛАГ, $M \pm m$					
Группа животных	Нитропрусида натрия дигидрат, 10 мкг/кг				КЭД
	САД, мм рт. ст.	Δ САД, мм рт. ст.	Время восстановления САД, с	Площадь, треугольника над кривой восстановления САД, мм рт. ст. с	
Интактные крысы, $n = 6$	114 ± 4	51 ± 2	80 ± 11	$2\,000 \pm 244$	$1,80 \pm 0,06$
Крысы с моделью ЛАГ (контроль), $n = 8$	$97 \pm 2^*$	$44 \pm 1^*$	99 ± 7	$2\,169 \pm 158$	$2,36 \pm 0,27$
Крысы с моделью ЛАГ, получавшие:					
– соединение GRS, $n = 8$	103 ± 5	$45 \pm 4^{\#}$	$105 \pm 10^{\#}$	$2\,388 \pm 340$	$1,59 \pm 0,13^+$
– риоцигуат, $n = 8$	$88 \pm 4^{+}$	$31 \pm 2^{*+}$	$178 \pm 15^{*+}$	$2\,833 \pm 398$	$2,20 \pm 0,37$

Производное индолинона GRS при курсовом введении в дозе 10 мг/кг крысам с моделью ЛАГ не уменьшало САД ниже давления, регистрируемого у интактных животных. В этом эксперименте показатель Δ САД после введения НП не нормализовался, но и не становился меньше, чем у интактных животных. Соединение GRS обладает антигипертензивным действием, при этом не снижает нормальное артериальное давление и способствует сохранению его регуляции вследствие активации окисленной формы рГЦ. Коэффициент эндотелиальной дисфункции уменьшался по сравнению с показателем при модели ЛАГ (см. табл. 4).

Риоцигуат как вещество с гипотензивным эффектом [5] снижал САД и Δ САД в ответ на введение НП ($p < 0,05$). Вероятно, в условиях развившейся гипоксемии и эндотелиальной дисфункции часть молекул рГЦ утратила гем и перешла в окисленную форму, которую риоцигуат не стимулирует [20].

На гистологических препаратах выявлено, что в легких животных с моделью ЛАГ межальвеолярные перегородки значительно утолщались и были склерозированы. Альвеолы деформировались,

альвеолоциты 2-го типа и гладкие мышцы пролиферировали. В просвете альвеол разрасталась грануляционная ткань. В легочных артериях возникали гиперплазия клеток эндотелия и гипертрофия гладких мышц. Такие изменения в ткани легких соответствуют гистологической картине интерстициальной пневмонии (рис. 1). В миокарде правого желудочка сердца развивались очаговая гипертрофия кардиомиоцитов и интерстициальный продуктивный миокардит (рис. 2).

При введении соединения GRS и риоцигуата в легких крыс с моделью ЛАГ значительно уменьшалась толщина межальвеолярных перегородок, альвеолы расправлялись, характеризовались нормальной воздушностью. В альвеолах была менее выражена пролиферация альвеолоцитов 2-го типа и гладких мышц. Эндотелий и гладкие мышцы артерий легких не пролиферировали (см. рис. 1). При введении соединения GRS в миокарде уменьшалась воспалительная инфильтрация, но сохранялась гипертрофия кардиомиоцитов. Риоцигуат не влиял на нарушения в миокарде, возникшие при модели ЛАГ (рис. 2).

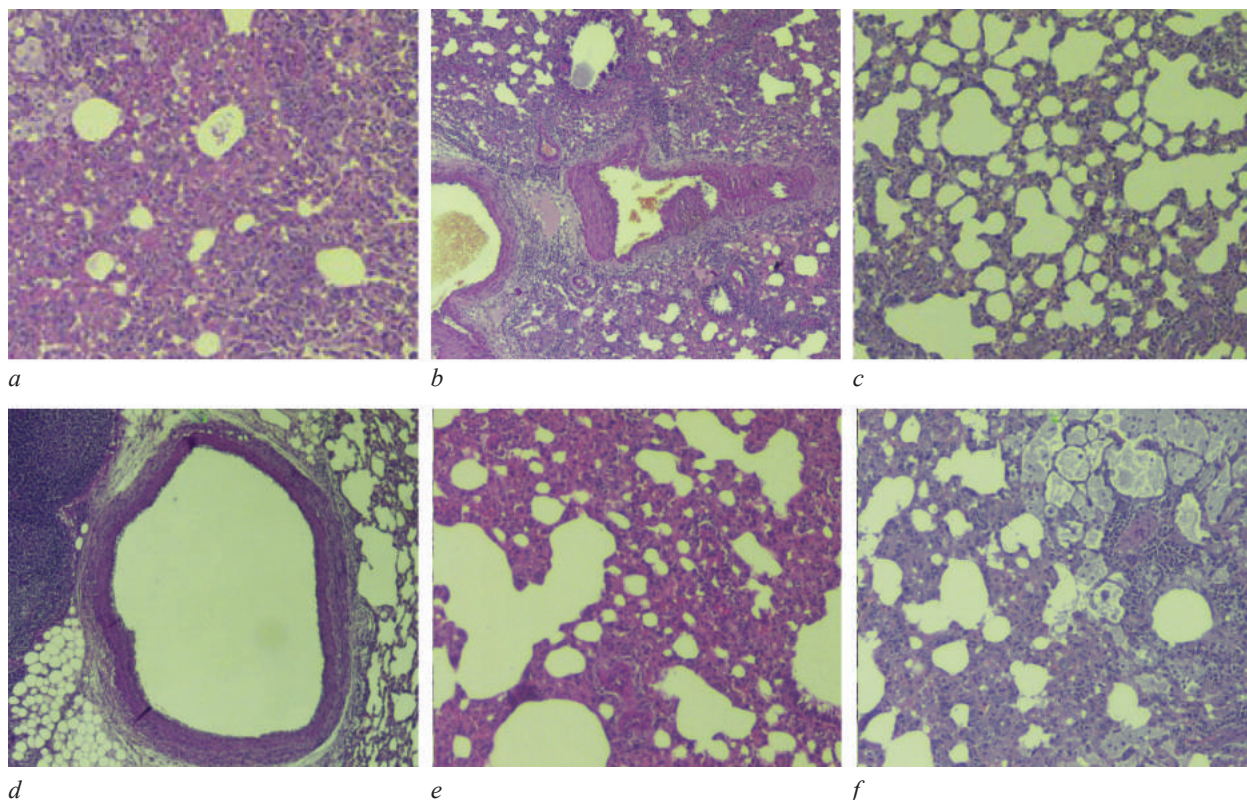


Рис. 1. Гистологические изменения в легких крыс с моделью ЛАГ (a, b) и введение соединения GRS в дозе 10 мг/кг (c, d) и риоцигуата в дозе 1 мг/кг (e, f). Здесь и на рис. 2: окраска гематоксилином и эозином, ×50

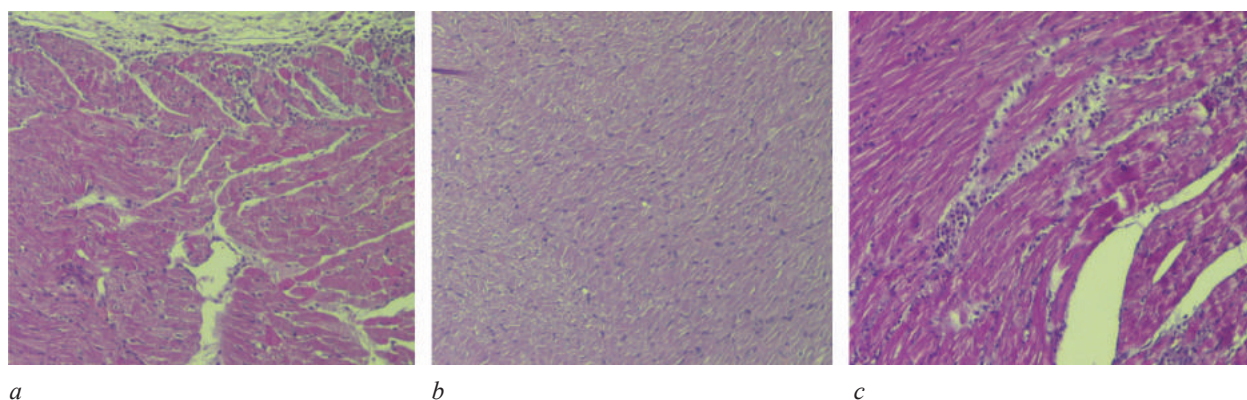


Рис. 2. Гистологические изменения в миокарде правого желудочка крыс с моделью ЛАГ(a) и введение соединения GRS в дозе 10 мг/кг (b) и риоцигуата в дозе 1 мг/кг (c)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема лечения ЛАГ до сих пор остается нерешенной [21]. Используемые для ее терапии блокаторы рецепторов эндотелина, блокаторы кальциевых каналов, препарат простаглицлина илопрост не оказывают эндотелийпротективного действия, могут снижать системное артериальное давление, вызывать кровотечения и другие побочные эффекты. Стимулятор рГЦ риоцигуат применяют как основное средство лечения ЛАГ, но он не устраняет эндотелиальную дисфунк-

цию, может вызывать тахикардию, артериальную гипотензию, анемию [22, 23]. При экспериментальной ЛАГ новое антитромботическое средство стимулятор рГЦ производное индолинона GRS не слабее известного средства терапии ЛАГ риоцигуата уменьшает давление крови в правом желудочке сердца, в отличие от риоцигуата устраняет дисфункцию эндотелия сосудов. Соединение GRS также препятствует ремоделированию сосудов легких.

Полученные данные указывают на перспективность изучения нового антитромботического сред-

ства производного индолинона GRS для профилактики и лечения ЛАГ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Humbert M., Guignabert C., Bonnet S., Dorfmüller P., Klinger J.R., Nicolls M.R. et al. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension: state of the art and research perspectives. *Eur. Respir. J.* 2019;53(1):1801887. DOI: 10.1183/13993003.01887-2018.
- Thenappan T., Ormiston M.L., Ryan J.J., Archer S.L. Pulmonary arterial hypertension: pathogenesis and clinical management. *BMJ.* 2018;360:j5492. DOI: 10.1136/bmj.j5492.
- Hamilos M., Petousis S., Parthenakis F. Interaction between platelets and endothelium: from pathophysiology to new therapeutic options. *Cardiovasc. Diagn. Ther.* 2018;8(5):568–580. DOI: 10.21037/cdt.2018.07.01.
- Makhoul S., Walter E., Pagel O., Walter U., Sickmann A., Gambaryan S. et al. Effects of the NO/soluble guanylate cyclase/cGMP system on the functions of human platelets. *Nitric Oxide.* 2018;76:71–80. DOI: 10.1016/j.niox.2018.03.008.
- Khaybullina D., Patel A., Zerilli T. Riociguat (adempas): a novel agent for the treatment of pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *P.T.* 2014;39(11):749–758.
- Быков В.В., Чернышева Г.А., Смольякова В.И., Серебров В.Ю., Хазанов В.А., Удут В.В. Антиагрегантная активность нового производного индолинона. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2019;82(7):10–13. DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-7-10-13.
- Bykov V.V., Smol'yakova V.I., Chernysheva G.A., Aliev O.I., Anishchenko A.M., Sidekhenova A.V. et al. Effects of a new antithrombotic drug GRS, a soluble guanylate cyclase stimulator, on endothelial dysfunction in rats with myocardial infarction. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2022;172(6):709–712. DOI: 10.1007/s10517-022-05461-y.
- Thomas H.C., Lamé M.W., Dunston S.K., Segall H.J., Wilson D.W. Monocrotaline pyrrole induces apoptosis in pulmonary artery endothelial cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1998;151(2):236–244. DOI: 10.1006/taap.1998.8458.
- Dumitrascu R., Koebrich S., Dony E., Weissmann N., Savai R., Pullamsetti S.S. et al. Characterization of a murine model of monocrotaline pyrrole-induced acute lung injury. *BMC Pulm. Med.* 2008;8:25. DOI: 10.1186/1471-2466-8-25.
- Xiao R., Su Y., Feng T., Sun M., Liu B., Zhang J. et al. monocrotaline induces endothelial injury and pulmonary hypertension by targeting the extracellular calcium-sensing receptor. *J. Am. Heart. Assoc.* 2017;6(4):e004865. DOI: 10.1161/JAHA.116.004865.
- Schermuly R.T., Kreisselmeier K.P., Ghofrani H.A., Yilmaz H., Butrous G., Ermert L. et al. Chronic sildenafil treatment inhibits monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 2004;169(1):39–45. DOI: 10.1164/rccm.200302-282OC.
- Сидехменова А.В., Алиев О.И., Анищенко А.М., Шама-наев А.Ю., Федорова Е.П., Плотников М.Б. Динамика показателей тромбоцитов, лейкоцитов и функциональ-ной активности эндотелия у молодых крыс линии SHR. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2015;30(3):61–50. DOI: 10.29001/2073-8552-2015-30-3-61-65.
- Галаган М.Е., Широколова А.В., Ванин А.Ф. Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо-и эндогенных источников. *Вопросы медицинской химии.* 1991;37(1):67–70.
- Покровский М.В., Кочкаров В.И., Покровская Т.Г., Гладченко М.П., Артюшкова Е.Б., Пашин Е.Н. и др. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при LNAME-индуцированной модели дефицита оксида азота в эксперименте. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2006;10:72–77.
- Hessel M.H., Steendijk P., den Adel B., Schutte C.I., van der Laarse A. Characterization of right ventricular function after monocrotaline-induced pulmonary hypertension in the intact rat. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2006;291(5):H2424–430. DOI: 10.1152/ajpheart.00369.2006.
- Prisco S.Z., Eklund M., Moutsoglou D.M., Prisco A.R., Khoruts A., Weir E.K. et al. Intermittent fasting enhances right ventricular function in preclinical pulmonary arterial hypertension. *J. Am. Heart. Assoc.* 2021;10(22):e022722. DOI: 10.1161/JAHA.121.022722.
- Sztuka K., Jasińska-Stroschein M. Animal models of pulmonary arterial hypertension: A systematic review and meta-analysis of data from 6126 animals. *Pharmacol. Res.* 2017;125(Pt B):201–214. DOI: 10.1016/j.phrs.2017.08.003.
- Авдеев С.Н., Барбараш О.Л., Баутин А.Е., Волков А.В., Веселова Т.Н., Галявич А.С., Гончарова Н.С. и др. Легочная гипертензия, в том числе хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал.* 2021;26(12):4683. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4683.
- Kay J.M., Keane P.M., Suyama K.L., Gauthier D. Angiotensin converting enzyme activity and evolution of pulmonary vascular disease in rats with monocrotaline pulmonary hypertension. *Thorax.* 1982;37(2):88–96. DOI: 10.1136/thx.37.2.88.
- Sandner P., Zimmer D.P., Milne G.T., Follmann M., Hobbs A., Stasch J.P. Soluble guanylate cyclase stimulators and activators. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2021;264:355–394. DOI: 10.1007/164_2018_197.
- Hoepfer M.M., Ghofrani H.A., Grünig E., Klose H., Olschewski H., Rosenkranz S. Pulmonary hypertension. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2017;114(5):73–84. DOI: 10.3238/arztebl.2017.0073.
- Klinger J.R., Elliott C.G., Levine D.J., Bossone E., Duvall L., Fagan K. et al. Therapy for pulmonary arterial hypertension in adults: update of the CHEST guideline and expert panel report. *Chest.* 2019;155(3):565–586. DOI: 10.1016/j.chest.2018.11.030.
- Ghofrani H.A., Grimminger F., Grünig E., Huang Y., Jansa P., Jing Z.C. et al. Predictors of long-term outcomes in patients treated with riociguat for pulmonary arterial hypertension: data from the PATENT-2 open-label, randomised, long-term extension trial. *Lancet Respir. Med.* 2016;4(5):361–771. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)30019-4.

Вклад авторов

Быков В.В., Быкова А.В. – разработка концепции и дизайна. Алиев О.И., Сидихменова А.В., Дунаева О.И. – выполнение экспериментальной части исследования, анализ и интерпретация данных. Хазанов В.А., Станкевич С.А. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Венгеровский А.И., Удут В.В. – утверждение рукописи для публикации.

Информация об авторах

Быков Владимир Валерьевич – канд. мед. наук, начальник отдела фармакологических исследований, ООО «Ифар»; ст. преподаватель, кафедра фармакологии, СибГМУ, г. Томск, preclin5_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5145-2184>

Быкова Арина Владимировна – канд. биол. наук, науч. сотрудник, отдел фармакологических исследований, ООО «Ифар», г. Томск, preclin7_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8495-8560>

Станкевич Сергей Александрович – канд. мед. наук, науч. руководитель доклинических исследований, ООО «Ифар», project_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1313-4967>

Алиев Олег Ибрагимович – д-р мед. наук, зав. лабораторией фармакологии кровообращения, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, oal67@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9788-1235>

Сидихменова Анастасия Витальевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория фармакологии кровообращения, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, sidehmenova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3171-667X>

Дунаева Ольга Ивановна – мл. науч. сотрудник, лаборатория фармакологии кровообращения, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, olgadunaeva24@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8697-2553>

Хазанов Вениамин Абрамович – д-р мед. наук, профессор, генеральный директор ООО «Ифар», gen_dir@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8833-785X>

Венгеровский Александр Исаакович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии СибГМУ, г. Томск, pharm-sibgmu@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5094-3742>

Удут Владимир Васильевич – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зам. директора по научной и лечебной работе, зав. лабораторией физиологии, молекулярной и клинической фармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, udutv@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3829-7132>

(✉) **Быков Владимир Валерьевич**, preclin5_dep@iphar.ru

Поступила в редакцию 17.06.2022;
одобрена после рецензирования 29.06.2022;
принята к публикации 08.09.2022