

## ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ АКТИВАТОРАМИ АТФ-ЗАВИСИМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ НА СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В ИШЕМИЗИРОВАННОЙ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ

**И.М. КОЛЕСНИК**<sup>1</sup>

**М.В. ПОКРОВСКИЙ**<sup>2</sup>

**В.А. ЛАЗАРЕНКО**<sup>3</sup>

**Д.А. ЕФРЕМЕНКОВА**<sup>2</sup>

**Т.Г. ПОКРОВСКАЯ**<sup>2</sup>

**С.В. ХОДОВ**<sup>3</sup>

**К.С. ТРОФИМОВ**<sup>2</sup>

**М.М. ПАПУАШВИЛИ**<sup>2</sup>

<sup>1)</sup> Курская горбольница № 2

<sup>2)</sup> Белгородский государственный национальный исследовательский университет

<sup>3)</sup> Курский государственный медицинский университет

e-mail: kolesnik\_inga@mail.ru

В статье представлены результаты изучения влияния фармакологического preconditionирования никорандилом и миноксидилом на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной мышце голени крысы, в сравнении с эффектом дистантного ишемического preconditionирования. Исследована роль индуцибельной NO-синтазы в их механизме.

Ключевые слова: preconditionирование, никорандил, миноксидил, ишемия, индуцибельная NO-синтаза.

**Введение.** Эффективность применения preconditionирования для защиты органов и тканей от ишемических повреждений в последние годы не вызывает сомнений. Наиболее перспективным с клинической точки зрения является фармакологическое preconditionирование. Метод лишен потенциальной опасности ишемических эпизодов [7]. Кроме того, фармакологические препараты можно точно дозировать, что позволяет управлять продолжительностью периода толерантности к ишемии [1, 5]. Применение средств, имитирующих ишемическое preconditionирование, кажется многообещающим. Арсенал их широк. АТФ-зависимые калиевые каналы принято рассматривать эффекторным звеном феномена preconditionирования. Возможность их активации фармакологическими средствами достаточно изучена. Исследования привели к разработке перспективных методов борьбы с ишемическими повреждениями сердца и головного мозга [1, 4, 7]. Но предполагаемый механизм preconditionирования указывает на возможность его универсального использования в хирургии для защиты органов и тканей в условиях нарушения кровообращения.

В нашем исследовании проведена оценка влияния дистантного ишемического preconditionирования и фармакологического preconditionирования открывателями АТФ-зависимых калиевых каналов на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной скелетной мышце крысы. В качестве исследуемых препаратов рассматривались никорандил и миноксидил. Такой выбор обусловлен тем, что никорандил помимо способности активировать АТФ-зависимые калиевые каналы является донатором оксида азота (NO).

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на разнополых крысах линии Wistar массой 250-300 г. Каждая группа формировалась не менее чем из десяти животных.

Ишемию скелетной мышцы моделировали на правой голени крысы оперативным удалением бедренной, подколенной, передней и задней большеберцовых артерий. Состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной мышце оценивали при помощи оборудования производства компании Biopac systems: полиграфа MP100 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии LDF100C и инвазивного игольчатого датчика TSD144. Регистрация и обработка результатов лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) производилась с помощью программы AcqKnowledge версии 3.9.1, значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕ) [3].

Дистантное ишемическое preconditionирование (ДИП) проводили 10-минутным пережатием левой бедренной артерии, с последующей 30-минут-



ной реперфузией непосредственно перед моделированием патологии, затем каждые 46 часов первые семь суток эксперимента [2, 3].

Никорандил вводили внутривенно в суточной дозе 1,3 мг/кг в два приема накануне операции (первые сутки эксперимента) с последующим повтором через 46 часов первые семь суток эксперимента.

Миноксидил вводили внутривенно в суточной дозе 0,5 мг/кг по той же схеме.

Блокаду индуцибельной NO-синтазы (iNOS) проводили внутривенным введением амингуанидина в дозе 100 мг/кг за 30 минут до проведения дистантного или фармакологического прекондиционирования.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel версии 10.0 при помощи средств пакета анализа. «Описательная статистика» применялась для нахождения среднего значения (M) показателей и ошибки среднего (m). «Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями» использовался для сравнения соответствующих показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними. Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Среднее значение уровня микроциркуляции в интактной мышце голени крыс составляет  $526 \pm 34$  ПЕ. Результат не имеет значимых отличий от результатов, полученных другими авторами, применявшими данную модель. После моделирования ишемии мышц голени уровень микроциркуляции в них резко снижается, восстановление его начинается лишь после 10 суток, однако до 90 суток остается достоверно ниже значения, зарегистрированного в группе интактных животных. Учитывая результаты, полученные при анализе возможности компенсаторного восстановления регионарного кровообращения в применяемой нами модели, а также литературные данные, как наиболее информативные расценены 28-е сутки, 21-е рассматривались как промежуточные.

В группе ложнопериоперированных животных среднее значение уровня микроциркуляции в мышцах правой голени составляет на 21-е сутки  $527 \pm 10$  ПЕ, на 28-е сутки –  $532 \pm 33$  ПЕ. На всех сроках результаты лазерной доплеровской флоуметрии не имеют достоверных отличий от показателей в группе интактных животных –  $526 \pm 34$  ПЕ ( $p = 0,19$ ;  $p = 0,43$  соответственно). При моделировании ишемии мышц голени уровень микроциркуляции на 21-е сутки  $322 \pm 7$  ПЕ, на 28-е  $361 \pm 8$  ПЕ, что достоверно ниже значения в интактной мышце ( $p < 0,05$ ).

При оценке уровня микроциркуляции в опытных группах было выявлено, что проведение дистантного ишемического прекондиционирования, введение никорандила и миноксидила способствуют эффективному и равнозначному повышению уровня регионарного кровотока в ишемизированной мышце голени крыс. Показатели ЛДФ в этих группах достоверно выше таковых в контрольной группе на соответствующем сроке – ДИП: 21-е сутки –  $450 \pm 8$  ПЕ ( $p < 0,05$ ), 28-е сутки –  $702 \pm 23$  ПЕ ( $p < 0,05$ ); никорандил: 21-е сутки –  $470 \pm 38$  ПЕ ( $p = 0,00065$ ), 28-е сутки –  $758 \pm 13$  ПЕ ( $p < 0,05$ ); миноксидил: 21-е сутки –  $428 \pm 20$  ПЕ ( $p = 0,00065$ ), 28-е сутки –  $830 \pm 35$  ПЕ ( $p < 0,05$ ). Уровень микроциркуляции во всех опытных группах на 21-е сутки приближается к показателям в группе интактных животных, а на 28-е сутки значительно выше. То есть можно говорить о том, что компенсаторное восстановление регионарного кровообращения в ишемизированных мышцах животных опытных групп произошло до 28-х суток эксперимента. В контрольной серии восстановление исходного значения наблюдается значительно позже (в срок до 3 месяцев).

В развитии ишемического прекондиционирования имеют значение две различные изоформы NO-синтаз: кальцийзависимая эндотелиальная (eNOS), участвующая в ранних фазах ИПК, и кальцийнезависимая индуцибельная (iNOS), генерирующая оксид азота поздней защиты. Авторы «гипотезы оксида азота» считают, что именно повышенная активность iNOS, регистрируемая через 24-72 ч после инициируемого ишемического эпизода, является ответственной за реализацию эффектов отсроченной фазы ИПК [4].

Введение амингуанидина привело к полной отмене полученного ранее эффекта дистантного ишемического прекондиционирования и фармакологического прекондиционирования миноксидилом. Показатели ЛДФ в данных опытных группах на 28 суток не имеют достоверных отличий от показателя в контрольной группе на этом сроке: ДИП + амингуанидин –  $341 \pm 7$  ПЕ ( $p = 0,14$ ); миноксидил + амингуанидин –  $324 \pm 14$  ПЕ ( $p = 0,03$ ). Однако блокада iNOS не отменила эффекта прекондиционирования никорандилом, а лишь уменьшила уровень микроциркуляции до значения, не имеющего достоверных отличий от такового в интактной мышце голени крысы  $545 \pm 26$  ПЕ.

**Обсуждение.** В данном экспериментальном исследовании нами показано, что никорандил и миноксидил в применяемых дозах оказывают эффект, аналогичный дистантному ишемическому прекондиционированию на модели ишемии мышцы голени крысы, способствуя восстановлению микроциркуляции до 28 суток эксперимента. Мы применяли никорандил в суточной дозе 15 мг (в пересчете для человека), тогда как общепринятой является доза 40 мг в

сутки. Ishii et al., показали, что терапия никорандилом (15 мг/сут.) улучшала клинический прогноз у находящихся на гемодиализе коронарных пациентов после ангиопластики [6]. Эти данные позволяют предположить, что доза никорандила 15 мг/сут. обеспечивает адекватное открытие K-АТФ каналов и инициацию процесса прекондicionирования. Кроме того, в ряде исследований доказано, что применение препарата в такой дозе лишает его побочных эффектов [6]. Известно, что ежедневное прекондicionирование открывателями АТФ-зависимых калиевых каналов приводит к постепенной отмене эффекта. Учитывая то, что эффект прекондicionирования начинает ослабевать через 46 часов [1, 5], нами выбрана схема введения суточной дозы через соответствующий промежуток времени. Блокада iNOS аминоксидином полностью нивелировала полученный нами эффект дистантного ишемического прекондicionирования и миноксидила. В группе с применением никорандила полной отмены эффекта прекондicionирования не произошло, отмечено лишь небольшое его уменьшение, что возможно связано с нитратоподобным эффектом препарата.

**Выводы.** Фармакологическое прекондicionирование никорандилом и миноксидилом наряду с дистантным ишемическим прекондicionированием может рассматриваться как доступный универсальный инструмент профилактики и коррекции последствий локальной ишемии в хирургии. Причем препараты эффективны в минимальной дозе, не имеющей побочных эффектов, характерных для обычной дозы. Эффект прекондicionирования никорандилом на модели ишемии мышц голени крысы сохраняется при блокаде iNOS.

#### Литература

1. Бокерия, Л.А. Природа и клиническое значение «новых ишемических синдромов» / Л.А. Бокерия, И.Н. Чичерин. – М. : НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2007. – 302 с.
2. Влияние дистантного прекондicionирования на выживаемость ишемизированных тканей / И.М. Колесник, М.В. Покровский, В.А. Лазаренко и др. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2010. – Т. 3, № 3. – С. 214-217.
3. Колесник, И.М. Дистантное и фармакологическое прекондicionирование. Новые возможности применения в хирургии. LAP LAMBERT Academic Publishing, Saarbrücken, 2012. – 123 с.
4. Bolli, R. Causative role of oxyradicals in myocardial stunning: a proven hypothesis / R. Bolli // Basic. Res. Cardiol. – 1998. – Vol. 93. – P. 156-162.
5. Dirnagl, U. Preconditioning and tolerance against cerebral ischaemia from experimental strategies to clinical use / U. Dirnagl, K. Becker, A. Meisel // Lancet. – 2009. – Vol. 8, № 4. – P. 398-412.
6. Efficacy of oral nicorandil in patients with end-stage renal disease: A retrospective chart review after coronary angioplasty in Japanese patients receiving hemodialysis / H. Ishii, T Toriyama, T. Aoyama et al. // Clin Ther. – 2007. – Vol. 29. – P. 110-122.
7. Sommer, C. Ischemic preconditioning: posts ischemic structural changes in the brain / C. Sommer // J. Neuropathol. Exp. Neurol. – 2008. – Vol. 67. – P. 85-92.

## INFLUENCE OF PHARMACOLOGICAL PRECONDITIONING WITH ACTIVATORS OF ATP-DEPENDENT POTASSIUM CHANNELS ON THE MICROVASCULATURE CONDITION IN ISCHEMIC SKELETAL MUSCLE

**I.M. KOLESNIK**<sup>1</sup>  
**M.V. POKROVSKY**<sup>2</sup>  
**V.A. LASARENKO**<sup>3</sup>  
**D.A. EFREMKOVA**<sup>2</sup>  
**T.G. POKROVSKAYA**<sup>2</sup>  
**S.V. HODOV**<sup>3</sup>  
**K.S. TROFIMOV**<sup>2</sup>  
**M.M. PAPUASHVILI**<sup>2</sup>

<sup>1)</sup> *Kursk hospital №2*

<sup>2)</sup> *Belgorod state national research university*

<sup>3)</sup> *Kursk state medical university*

*e-mail: kolesnik\_inga@mail.ru*

The article presents the results of study of the influence of pharmacological preconditioning with nicorandil and minoxidil on the state of the microvasculature in the ischemic leg muscle of rats in comparison with distant ischemic preconditioning effect. The role of inducible NO-synthase in their mechanism was investigated.

Keywords: preconditioning, nicorandil, minoxidil, ischemia, inducible NO-synthase.