

ОРИГІНАЛЬНІ СТАТТІ

УДК 577.35+612146

Р.Б. СТРУТИНСЬКИЙ

ОСНОВНІ КАРДІОПРОТЕКТОРНІ ЕФЕКТИ НОВОГО ВІТЧИЗНЯНОГО ФТОРВМІСНОГО АКТИВАТОРА $K_{AT\Phi}$ КАНАЛІВ – ПРЕПАРАТУ ФЛОКАЛІН

В експериментах на анестезированных собаках с воспроизведением экспериментальной ишемии (90 мин) и реперфузии (180 мин) показано кардиопротекторное влияние внутрижелудочного введения лекарственной формы нового фторсодержащего активатора АТФ-чувствительных калиевых каналов флокалина, в дозе $2,2 \pm 0,2$ мг/кг, которая в условиях физиологической нормы минимально влияла на показатели кардиогемодинамики. С нашей точки зрения, к положительным влияниям флокалина, которые могут содействовать его кардиопротекторным эффектам, можно отнести предотвращение реперфузионного повышения общего периферического сопротивления и сопротивления коронарных сосудов сердца, относительное сохранение показателей сократимости миокарда в период реперфузии. Флокалин имеет антиокислительные свойства, уменьшает образование свободных радикалов, лейкотриенов и тромбоксанов, уменьшает активность фермента iNOS и увеличивает активность sNOS. Все вышеперечисленные свойства флокалина приводят к уменьшению размера области инфаркта миокарда после ишемии-реперфузии по сравнению с контролем на 42,5%.

ВСТУП

Одним із основних ендогенних механізмів кардіопротекції при ішемії і інфаркті міокарда є система АТФ-залежних калієвих ($K_{AT\Phi}$) каналів – сарколемальних і мітохондріальних, відкритих відповідно А.Нота [1] і І.Іноуе [2]. Їх загальною характеристикою і основним механізмом протекції є швидка реакція на зниження енергетичного потенціалу (рівня АТФ) в кардіоміоциті – невідворотній наслідок порушення кровообігу серця. Ступінь антиішемічного захисту міокарда та інших типів тканин залежить від типу активованих $K_{AT\Phi}$ каналів: сарколемальної та мітохондріальної мембран кардіоміоцитів, гладеньком'язових та ендотеліальних клітин судин [3,4]. Звичайно закриті при нормальному рівні АТФ, при ішемії міокарду плазматичні канали кардіоміоциту відкриваються, що призводить до гіперполяризації та послідовно до скорочення потенціалу дії, тривалості плато потенціалу дії, зменшення входу кальцію в саркоплазму, гальмування метаболічних процесів в клітині, і відповідно до зменшення її потреби в кисні та економії енергетичних матеріалів, що дуже важливо в умовах дефіциту кровопостачання серця. Поряд з цим, гальмування входу кальцію повинно зменшувати активність катаболітичних ферментів, що, з одного боку, може попереджати деградацію фосфоліпідів мембран (мембраностабілізуюча дія), а з другого боку - зменшувати утворення патогенних в умовах ішемії міокарда ейкозаноїдів, зокрема - лейкотриєнів. Основний захисний кардіопротекторний механізм активації сарколемальних $K_{AT\Phi}$ каналів гладеньком'язових та ендотеліальних клітин судин полягає в розширенні коронарних судин та відповідно в збільшенні кровопостачання та притоку кисню та енергоресурсів до потребуючих цього тканин при гіпоксії та підтриманні нормального коронарного кровотоку під час реперфузії ішемізованого міокарду. Механізми протекторної дії мітохондріальних каналів менше відомі, проте вони також досить ефективні та полягають в пригніченні входу кальцію в матрикс мітохондрії та, відповідно, запобіганні перенавантаженню мітохондрії ним, та послідовно до попередження відкриття мітохондріальної транспортної пори, апоптозу та некрозу, до зменшення вільнорадикальних процесів [5].

Як виявилось, відкривати $K_{AT\Phi}$ каналів можливо і фармакологічним шляхом за допомогою активаторів цих каналів, а їх екзогенна активація призводить до реалізації потужних кардіопротекторних механізмів (передішемічне введення активаторів $K_{AT\Phi}$ каналів може імітувати феномен ішемічного прекодиціювання та отримало назву фармакологічного

прекондиціювання [6]) і зменшення патологічних проявів при гострому порушенні коронарного кровообігу [7]. Разом з цим, використання відомих активаторів K_{ATP} каналів в клініці може викликати певні ускладнення, зокрема, порушення ритму серця і навіть фібриляцію шлуночків та пригнічення продукції інсуліну [8]. Це стимулювало розробку нових, більш специфічних та менш токсичних активаторів K_{ATP} каналів, зокрема фторвмісних [9,10]. При цьому треба враховувати, що за хімічними та фармакологічними властивостями фторвмісні аналоги можуть мати ряд переваг порівняно з їх водневими аналогами: зменшення токсичності та збільшення стабільності лікарського засобу; збільшення протиокислювальної стійкості молекули, зменшує її метаболізм в організмі, і відповідно, збільшує тривалість дії; суттєво вища ліпофільність збільшує розчинність в ліпідах та біодоступність в організмі людини [9].

В результаті попередніх досліджень ряду нових вітчизняних фторвмісних активаторів калієвих каналів, розроблених співробітниками Інституту органічної хімії НАН України під керівництвом проф. Л.М. Ягупольського, було встановлено, що одним із найбільш перспективних щодо створення лікарського засобу та введення в широку клінічну практику є флокалін.

Досліджуючи специфічну активність флокаліну, було встановлено, що він є досить потужним вазодилататором, розслаблює як аорту, так і периферичні судини, як в дослідах *in vitro*, так і *in vivo* [3,11-14]. Крім того, потужні вазодилаторні ефекти флокаліну в експериментах зі щурами з генетично детермінованою артеріальною гіпертензією дозволяють припустити можливість застосування флокаліну в медичній практиці, як перспективного гіпотензивного лікарського засобу [14]. Досить потужні, хоч і дещо зменшені порівняно з контролем, вазодилаторні властивості флокалін проявляв і в експериментах на тваринах зі стрептозотозин-викликаним цукровим діабетом [15]. Досліджуючи кардіопротекторні властивості флокаліну та інших вітчизняних та закордонних фармакологічних активаторів ATP -залежних калієвих каналів протягом останніх 15 років, ми виявили, що він є одним із найкращих кардіопротекторних та спазмолітичних сполук [13,16,17]. Одною із його вагомих переваг є значно менша токсичність, ніж у відомих активаторів K_{ATP} каналів – напівлетальна доза для білих щурів складає 2150 мг/кг проти 600 мг/кг у пінацидила – його закордонного водневого аналога. Флокалін відноситься до сполук III класу за класифікацією речовин за токсичністю, що відповідає малотоксичним сполукам [17,18]. Всі вищенаведені факти спонукали нас до більш глибокого вивчення властивостей флокаліну та створення на його основі нового лікарського засобу.

Метою даної роботи було дослідження кардіопротекторних ефектів нового вітчизняного фторвмісного активатора K_{ATP} каналів сарколемальної та мітохондріальної мембран - флокаліну в експериментах *in vivo* в дозах, що практично не змінюють показники кардіогемодинаміки.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліди виконувалися на безпородних собаках ($n=28$), вагою від 15 до 25 кг, під хлоралозо-уретановим наркозом (0,07 та 0,7 г/кг ваги, внутрішньовенно). В роботі використовувався метод ретроградної катетеризації аутоперфузії та прищільної емболізації гілки лівої коронарної артерії, який дозволяє відтворювати локальну ішемію-реперфузію міокарда без розкриття грудної порожнини і зі збереженням спонтанного дихання (детально метод описаний раніше [19]). Перфузія коронарних судин з постійним об'ємом крові давала можливість слідкувати за змінами судинного тону. Реєстрація гемодинамічних параметрів проводилася протягом всього досліду за допомогою полікардіографа "Mingograph-82", фірми Siemens-Elema (Швеція). Системний артеріальний тиск (САТ) та тиск у лівому шлуночку (ТЛШ) реєстрували електроманометром через катетер у аорті та порожнині шлуночка. Хвилинний об'єм крові визначали методом термодилуції [20]. Про зміни скоротливості міокарда лівого шлуночка судили за змінами першої похідної тиску у шлуночку (dP/dt) та індексу скоротливості міокарда (dP/dt_{max})/P.

Для визначення зміни біохімічних показників протягом експерименту провадився багаторазовий відбір артеріальної крові та після експерименту вилучались шматочки міокарда з трьох ділянок: інтактною, зони ризику та некротичної зони. Інтенсивність вільнорадикальних реакцій визначались за вмістом пероксиду водню, малонового діальдегіду (МДА) та дієнових кон'югатів за методами описаними в [21,22] відповідно. Для визначення активності NO-синтаз (Ca^{2+} -залежної та Ca^{2+} -незалежної) використовували комбінацію класичного методу [23] та сучасну його модифікацію [24]. Вміст ейкозаноїдів – LTC_4 та TxB_2 визначали за допомогою

радіоімунного методу, користуючись стандартними добірками реактивів фірми «Amersham» (Англія). Радіоактивність проб визначали на лічильнику фірми «Beckman» (Німеччина).

Після закінчення досліду планіметрично визначали площу інфаркту міокарда та площу “ризик”. Зону “ризик” виявляли шляхом забарвлення інтактних ділянок міокарда за допомогою введення 80-100 мл 1% розчину метиленового синього в аорту безпосередньо після вилучення серця із грудної порожнини при затягнутому турнікеті в місці оклюзії коронарної артерії. Виділений лівий шлуночок розрізали перпендикулярно його осі на блоки товщиною 0,5 см. Непошкоджений міокард забарвлювався у темносиній колір, а зона “ризик” залишалася незабарвленою. Після вимірювання площі зони “ризик” зразки фарбували нітросинім тетразолієм, який виявляє сумарну активність дегідрогеназ, при цьому некротичні ділянки залишались незабарвленими.

Провели дві серії експериментів – контрольну (n=12) і дослідну (n=16). В контрольній серії визначали показники при регіональній ішемії міокарда (90 хв) та наступній реперфузії (180 хв), в дослідній проводили таку ж ішемію-реперфузію на фоні внутрішлункового введення (за допомогою зонда) таблетки флокаліну в дозі 2,2 мг/кг за 60 хвилин до початку ішемії.

Отримані результати обробляли математично методом варіаційної статистики за допомогою комп’ютерної програми Origin 7.0. Достовірність результатів визначали за t-критерієм Стьюдента. Значення $P < 0,05$ розглядали як статистично достовірні.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В попередніх *in vitro* та *in vivo* дослідженнях виявлено, що субстанція нового вітчизняного фтормісного активатора $K_{AT\Phi}$ каналів – флокаліна має чіткі дозозалежні вазодилаторні та кардіопротекторні якості: зменшує перфузійний тиск в коронарних судинах, системний артеріальний тиск (САТ) та розмір інфаркту міокарду порівняно з контролем на 37% [13,17]. При цьому, кардіопротекторні дози активаторів $K_{AT\Phi}$ каналів, що використовують з метою відтворення захисного антиішемічного механізму - фармакологічного прекодиціювання, практично не впливають на функцію серця [13,17]. В даній роботі, досліджуючи кардіопротекторні ефекти нової лікарської форми (таблетки) флокаліну, ми застосовували дозу $2,2 \pm 0,2$ мг/кг, яка при внутрішлунковому введенні за умов фізіологічної норми мала мінімальний вплив на показники кардіогемодинаміки (дивіться таблицю).

Як свідчать дані експериментів, що наведені в табл.1, при інтрашлунковому введенні таблетки флокаліну в дозі $2,2 \pm 0,2$ мг/кг достовірно відрізняються від вихідного рівня тільки такі показники гемодинаміки як перфузійний тиск в коронарних судинах (зменшується на $5,43\% \pm 2,23\%$, $P < 0,05$, n=16), САТ (зменшується на $8,91\% \pm 3,44\%$, $P < 0,05$, n=16) та тиск у лівому шлуночку (зменшується на $8,21\% \pm 3,5\%$, $P < 0,05$, n=16). В той же час, відбувається незначне зниження практично всіх показників кардіогемодинаміки. Разом з цим, слід відмітити, що якщо зниження показників опору у судинах та частоти серцевих скорочень (ЧСС) є наслідком гіперполяризації плазматичної мембрани гладеньком’язових клітин судин та кардіоміоцитів відповідно, то незначне зниження показників скоротливої активності міокарду відповідає припущенню щодо одного з можливих механізмів розвитку кардіопротекції при активації $K_{AT\Phi}$ каналів за гіпоксичних умов – пригнічення метаболічних процесів в кардіоміоцитах, оптимізації роботи серця та зменшення використання енергетичного потенціалу міокарду (відбувається зниження використання АТФ та відповідно, його збереження) внаслідок зменшення входу кальцію в цитоплазму клітини, що є захисним механізмом у відповідь на зменшення притоку кисню та енергоресурсів при гіпоксії та може частково запобігати значним пошкодженням міокарду при ішемії [4].

Аналіз результатів кардіогемодинаміки під час відтворення експериментальної гострої ішемії-реперфузії (контрольні експерименти) показав, що ішемія практично не впливає на перфузійний тиск в коронарних судинах та загальний периферичний опір. Незначним чином зменшуються такі показники, як системний артеріальний тиск, максимальна швидкість наростання тиску у лівому шлуночку – dP/dt_{max} , мінімальна швидкість зниження тиску у порожнині лівого шлуночка - dP/dt_{min} та ЧСС. Дещо сильнішого зниження зазнає тиск у лівому шлуночку – на $14,37\% \pm 1,23\%$ (90 хв ішемії, $P < 0,05$, n=12) та особливо хвилинний об’єм крові (ХОК) - на $28,63\% \pm 3,44\%$ (60 хв ішемії, $P < 0,05$, n=12). Під час реперфузії тиск в коронарних судинах та загальний периферичний опір судин значно зростає, особливо на другу і третю годину реперфузії. Продовжує дещо зменшуватись тиск у лівому шлуночку, скоротлива функція міокарда та ХОК. Практично незмінними залишаються САТ та ЧСС.

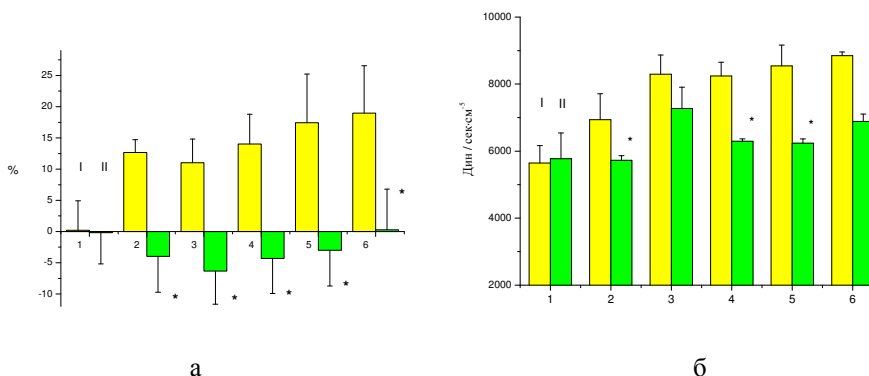
Таблиця 1. Зміна показників кардіогемодинаміки у анестезованих собак протягом 1 години після інтравенного введення лікарської форми (таблетки) флокаліну в дозі $2,2 \pm 0,2$ мг/кг, ($M \pm m$, $n=16$).

Показник	Вихідний рівень	Час від введення флокаліну, хв			
		15	30	45	60
Коронарний перфузійний тиск, мм.рт.ст., %	182,02±11,3	176,38±11,9 -3,1±1,31 *	176,14±13,94 -3,23±3,33	177,5±14,77 -2,48±3,74	172,13±11,39 -5,43±2,23 *
Системний артеріальний тиск, мм.рт.ст., %	145,06±7,04	139,2±6,6 -4,04±1,7	133,6±7,06 -7,9±2,96	134,9±6,6 -7±3,41	132,13±6,39 -8,91±3,44 *
Тиск у лівому шлуночку, мм.рт.ст., %	172,87±7,38	167,01±6,08 -3,39±3,31	163,07±7,17 -5,67±3,77	161,65±6,75 -6,49±4,29	158,68±7,86 -8,21±3,5 *
Перша похідна тиску у лівому шлуночку (dP/dt_{max}), мм.рт.ст./с, %	2714,2±176	2673,6±147 -1,49±2,26	2538,7±161,3 -6,47±3,54	2502,6±182 -7,78±3,81	2466,4±177 -9,13±3,21
Перша похідна тиску у лівому шлуночку (dP/dt_{min}), мм.рт.ст./с, %	2331,6±134	2265,9±147,2 -2,82±2,87	2156,9±133,8 -7,49±3,06	2152,6±129 -7,67±3,2	2184,6±157,9 -6,3±3,29
Індекс скоротливості міокарда, $л/с^{-1} \cdot м^2$, %	42,58±2,58	41,66±2,67 -2,16±1,03	41,03±2,93 -3,64±1,22	41,03±2,95 -3,64±1,28	39,55±2,56 -7,59±1,54
Хвилиний об'єм крові, л/хв, %	1,81±0,34	-	1,68±0,44 -7,18±6,5	-	1,84±0,47 +1,66±8,9
Загальний периферичний опір судин, $дин/с \cdot см^{-5}$, %	5405±648	-	5349±472 -1,04±8,04	-	5079±548 -6,03±8,5
Частота серцевих скорочень, $уд \cdot хв^{-1}$, %	177±9,55	175±7,84 -1,13±1,31	169±8,15 -4,52±2,49	169,5±7,09 -4,24±3,13	169,5±7,58 -4,24±2,81

Примітка: * $P < 0,05$ порівняно з вихідними даними

В серії експериментів з флокаліном ($2,2 \pm 0,2$ мг/кг) виявлено, що такі показники, як системний артеріальний тиск, систолічний тиск в порожнині лівого шлуночка, швидкість розслаблення лівого шлуночка (dP/dt_{min}) і ЧСС практично не відрізняються в експериментах з попереднім введенням флокаліну та в контролі (ішемії-реперфузії без флокаліну). Щодо інших показників кардіогемодинаміки (перфузійний тиск в коронарних судинах та загальний периферичний опір, ХОК та такі показники скоротливої активності міокарду як швидкість скорочення (dP/dt_{max}) міокарду та серцевий індекс), то флокалін запобігає їх значним змінам при ішемії-реперфузії міокарду.

Рис.1. Вплив флокаліну на перфузійний тиск в коронарних судинах (а) та на загальний периферичний опір судин (б) за умов експериментальної ішемії-реперфузії міокарда у контрольній (ішемія-реперфузія) групі (I) та при ішемії-реперфузії після введення флокаліну (II), де 1- 90 хв ішемії (для рис.а) та вихідний рівень (для рис.б), 2-6- відповідно 10, 30, 60, 120 та 180 хв реперфузії, * - $P < 0,05$ по відношенню до контролю.

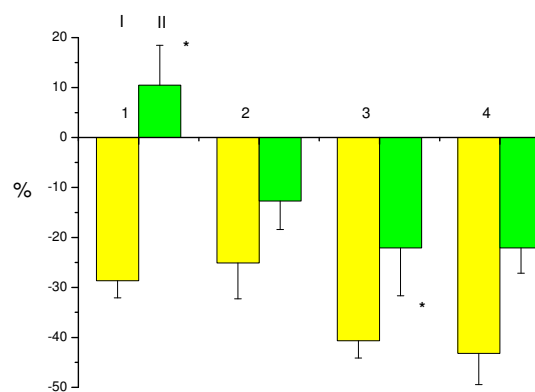


Особливу увагу привертає відсутність вазоконстрикції коронарних судин під час реперфузії ішемізованого серця при попередньому введенні флокаліну (рис.1а). Слід зауважити, що коронарний перфузійний тиск під час реперфузії в експериментах з попереднім введенням флокаліну навпаки, є дещо зменшеним, а під кінець ішемії (90 хв) та реперфузії (180 хв) практично не відрізняється від вихідного рівня ($181,75 \pm 17,41$ мм рт.ст.) та складає у середньому $181,43 \pm 25,86$ мм рт.ст. і $182,22 \pm 15,15$ мм рт.ст. ($n=8$) відповідно. Тоді як в контрольній групі коронарний перфузійний тиск під час реперфузії значно зростає і на кінець реперфузії (180 хв) збільшувався на $18,99 \pm 7,57\%$ ($P < 0,05$, $n=12$).

Слід зауважити, що якщо в контрольних експериментах, починаючи з 30 хв ішемії, починає зростати такий важливий показник, як загальний периферичний опір судин, то активація K_{ATF} каналів за допомогою флокаліну суттєво пригнічує це підвищення. Загальний периферичний опір судин в експериментах з флокаліном є знизеним порівняно з контрольними даними практично по ходу всього експерименту та особливо під час реперфузії (рис.1б), що зменшує навантаження на ішемізоване серце і таким чином, запобігає більш глобальним пошкодженням міокарда під час ішемії та реперфузії.

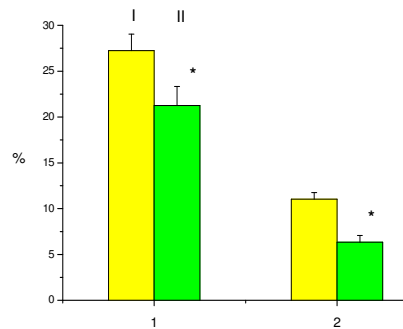
Встановлено, що оклюзія коронарної артерії призводить до прогресивного падіння ХОК, який зменшується під час ішемії та продовжує знижуватись під час реперфузії, та є зменшеним на 60 хв ішемії та 180 хв реперфузії на $28,64 \pm 4,8\%$ ($P < 0,05$, $n=12$) та $44,72 \pm 6,21\%$ ($P < 0,05$, $n=12$) відповідно. В експериментах з попереднім введенням флокаліну на протязі всього експерименту він є дещо збільшеним ніж в контролі та значно кращим був на 60 хв ішемії та протягом першої та другої години реперфузії (рис.2). Дещо менших змін в експериментах з флокаліном зазнають і такі показники скоротливої активності міокарда як швидкість (dP/dt_{max}) та індекс скорочення міокарда

Рис.2. Вплив флокаліну на хвилинний об'єм крові за умов експериментальної ішемії-реперфузії міокарда у контрольній (ішемія-реперфузія) групі (I) та при ішемії-реперфузії після введення флокаліну (II), де 1- 60 хв ішемії, 2-4- відповідно 10, 60 та 120 хв реперфузії, * - $P < 0,05$ по відношенню до контролю



Розрахунок величин ішемічного ураження серця показує, що після експериментальної гострої ішемії-реперфузії у собак відношення площі зони некрозу до площі зони ризику становить у середньому $27,25 \pm 1,8\%$ ($P < 0,05$, $n=7$), а площі зони некрозу по відношенню до площі лівого шлуночка $11,05 \pm 0,72\%$ ($P < 0,05$, $n=7$) (рис.3). В експериментах з доішемічним введенням лікарської форми флокаліну виявилось, що відношення площі зони некрозу до площі зони ризику становить у середньому $21,26 \pm 2,07\%$ ($P < 0,05$, $n=5$), тобто зменшується на $21,98\%$. Вірогідно зменшується і відношення площі зони некрозу до площі лівого шлуночка і складає у середньому $6,345 \pm 0,73\%$ ($P < 0,05$, $n=5$) (рис.5), а отже, у порівнянні з контрольними даними ($11,05\%$), розмір некротичної ділянки серця, а отже і зони інфаркту міокарду при дії флокаліну зменшується на $42,53\%$.

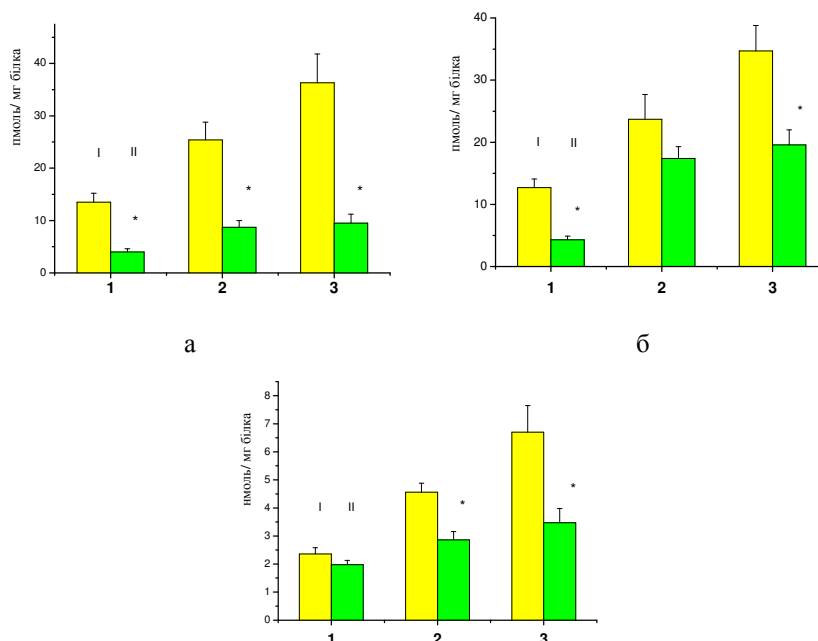
Рис. 3. Дія флокаліну на розміри зон уражень серця після ішемії-реперфузії міокарда у собак *in vivo* у контрольній (ішемія-реперфузія) групі (I) та при ішемії-реперфузії після введення флокаліну (II), 1- зона некрозу/зона ризику (%), 2- зона некрозу/площа лівого шлуночка (%), - $P < 0,05$ по відношенню до контролю.



З метою визначення можливих механізмів кардіопротекторної дії флокаліну нами були проведені деякі прицільні біохімічні дослідження, результати яких виявились досить цікавими з точки зору визначення впливу флокаліну на перебіг патологічного процесу.

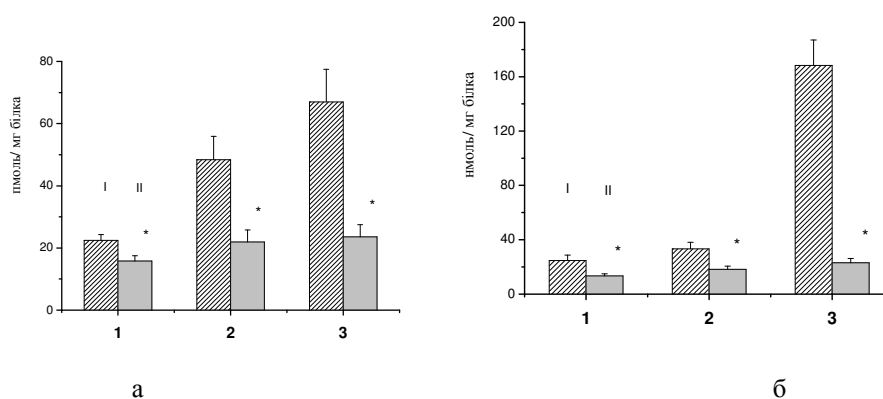
По-перше, було виявлено зменшення вмісту вільної арахідонової кислоти (рис. 4а), що свідчило про гальмування деградації фосфоліпідів клітинних мембран, можливо в результаті гальмування активності фосфоліпаз, зокрема фосфоліпази A_2 . Це тим більш вірогідно, що одним з механізмів дії K_{ATP} каналів є зменшення входу кальцію в клітину і вірогідне зменшення активності Са-залежних ферментів, зокрема фосфоліпази A_2 . Ці дані, які свідчать про мембраностабілізуючу дію флокаліну, збігаються з раніш описаними його ефектами, електронно-морфологічними даними, отриманими на ізольованому серці, які свідчили про корекцію порушень проникності мембран кардіоміоцитів в дослідях з флокаліном. Подальші підтверджуючі свідчення мембраностабілізуючої дії флокаліну отримані нами при визначенні активності ферментів ліпоксигенази та циклооксигенази.

Рис. 4. Вплив флокаліну на вміст LTC_4 (а), TxB_2 (б) та арахідонової кислоти (в) в різних зонах серця при ішемії-реперфузії міокарду; тут та на рис.6: I– контроль (ішемія-реперфузія), (II)- ішемії-реперфузії після введення флокаліну, 1 – інтактна зора, 2 – зона ризику, 3 – некротична зона; * - $P < 0,05$ по відношенню до контрольних (ішемія-реперфузія) значень.



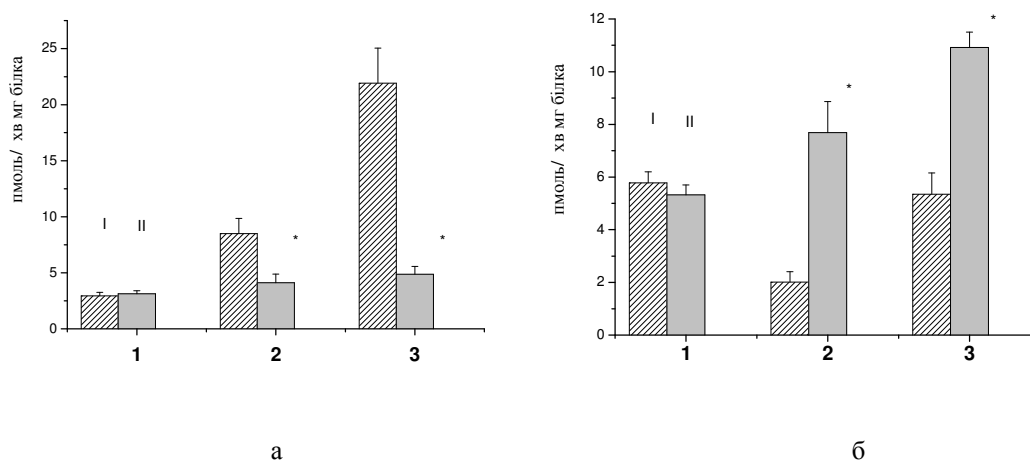
В дослідях з флокаліном спостерігалось значне, в декілька разів, зменшення продукції лейкотрієнів (LTC_4) та тромбоксанів (TxB_2) у всіх зонах міокарду: «інтактній», прилягаючій та інфарктній (рис. 4 б,в). Як відомо, ці ейкозаноїди мають коронароконстрикторну та аритмогенну дію, крім того, лейкотрієни є одним з найбільш потужних хемоатрактантів для нейтрофілів. Тобто, при гальмуванні продукції цих ейкозаноїдів слід чекати усунення констрикторних реакцій судин серця, що ми спостерігали в наших дослідях (рис. 1а), протидію порушенням ритму, що ми також спостерігали, та протидію антиоксидантним явищам, пов'язаними з акумуляцією нейтрофілів в вогнищі інфаркту.

Рис. 5. Вплив флокаліну на вміст пероксиду водню (а) та малонового діальдегіду (б) в різних зонах серця при ішемії-реперфузії міокарду



Вимірювання кількості пероксиду водню та малонового діальдегіду в різних зонах ішемізованого серця повністю підтвердили це передбачення (рис. 5а,б.) Як видно з рис. 6, флокалін практично повністю усував підвищення H_2O_2 та малонового діальдегіду при ішемії-реперфузії міокарду.

Рис.6. Вплив флокаліну на активність ферментів iNOS (а) and eNOS за умов експериментальної ішемії-реперфузії міокарду у контрольній (ішемія-реперфузія) групі (I) та при ішемії-реперфузії після введення флокаліну (II), де 1- вихідний рівень, 2- 90 хв ішемії та 3- 180 хв реперфузії, * - $P < 0,05$ по відношенню до контролю



Поряд з цим виявився ще один можливий механізм кардіопротекторної дії флокаліну. Як видно з рис. 6, в дослідях з флокаліном значною мірою попереджуються зростання активності індуцибельної нітрооксид синтази в плазмі крові поряд з деяким підвищенням активності

ендотеліальної нітрооксид синтази. Це, безумовно, повинно сприяти розгортанню вазодилататорних реакцій судинного русла та попередженню тромбогенних реакцій.

ВИСНОВКИ

Проведене дослідження впливу флокаліну на зміни показників кардіогемодинаміки під час ішемії та реперфузії ішемізованого міокарду продемонстрували певні особливості розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому у анестезованих собак *in vivo* в умовах фармакологічного прекондичіювання, що було викликано за допомогою стимуляції активності АТФ-залежних калієвих каналів при інтрашлунковому введенні лікарської форми (таблетки) флокаліна в дозі $2,2 \pm 0,2$ мг/кг маси тіла тварини. З нашої точки зору до позитивних впливів флокаліну, що можуть сприяти його кардіопротекторним ефектам, можна віднести попередження реперфузійного підвищення загального периферичного опору та опору коронарних судин серця, відносне збереження показників скоротливості міокарда в період реперфузії, пригнічення вільнорадикальних реакцій та збільшення співвідношення активності ферментів eNOS/iNOS, зменшення вмісту арахідонової кислоти та утворення її ейкозаноїдних похідних - LTC₄ та TxB₂. Всі перераховані вище властивості флокаліну сприяють зменшенню розміру зони інфаркту міокарда після ішемії-реперфузії порівняно з контролем на 42,5%.

ЛІТЕРАТУРА

1. Noma A. ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle // Nature.- 1983.- Vol.305, №5930.- P.147-148.
2. Inoue I., Nagase H., Kishi K., Higuti T. ATP-sensitive K⁺ channels in the mitochondrial inner membrane // Nature.- 1991.- Vol.352, №6332.- P.244-247.
3. Струтинський Р.Б. Дослідження впливу нових активаторів АТФ-залежних калієвих каналів на функції серця та вазомоторні реакції в нормальних та патологічних умовах. – Авт. дис. – 2002. – 20 с.
4. Струтинський Р.Б., Пивовар С.Н., Мойбенко А.А. АТФ-зависимые калиевые каналы и их роль как центрального звена кардиопротекции при ишемии-реперфузии миокарда.- В кн.: Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца // Под ред. А.А. Мойбенко, В.Е. Досенко, А.Н. Пархоменко.- К.: Наукова думка.- 2008.- С. 206-252.
5. Миронова Г.Д., Качаева Е.В., Крилова И.Б. и др. Митохондриальный АТФ-зависимый калиевый канал. II. Роль канала в защите сердца от ишемии. // Вестник Российской АМН.- 2007;(2):44-50.
6. Wakahara N., Katoh H, Yaguchi Y, Uehara A, Satoh H, Terada H, Fujise Y, Hayashi H, Difference in the cardioprotective mechanisms between Ischemic preconditioning and pharmacological preconditioning by diazoxide in rat hearts // Circ J. -2004. – Vol.68. – P.156–162.
7. Jahandir A., Terzic A. K_{ATP} channel therapeutics at the bedside // J. Molecular and Cellular Cardiology. – 2005. – Vol. 39. – P. 99-112.
8. Bhatnagar A., Bolli R. Modulation of K_{ATP} channels to protect the ischemic myocardium: Clinical implications // Exp Clin Cardiol. - 1999. - Vol.4, №1.- P.20-22.
9. Yagupolskii L.M., Maletina I.I., Klebanov B.M. Fluorine-containing cardiovascular drugs R. Filler et al. Organofluorine compounds in medicinal chemistry and biomedical applications. - Amsterdam-London- New York-Tokyo: Elsevier Science Publishers B.V., 1993. - P. 73-99.
10. Yagupolskii L.M., Maletina I.I., Petko K.I., et al New fluorine-containing hypotensive preparations (Rev.). // J. Fluor. Chem.- 2001.- V.109, P. 87-94.
11. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Л.М. Дослідження вазомоторних ефектів нових фторвмістних синтетичних активаторів АТФ-залежних калієвих каналів. // Фізіол. журн.- 2000.- Т.46, №4.- С.17-23.
12. Струтинський Р.Б., Пивовар С.Н., Ровенець Р.А., Піскун О.В., Ягупольський Л.М., Мойбенко О.О. Вплив активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну на функціонування ізольованого серця // Фізіол. журн.- 2005.- Т.51, №6, С.18-24.
13. Струтинський Р.Б., Нещерет О.П., Тумановська Л.В., Ровенець Р.А., Мойбенко О.О. Кардіопротекторні ефекти флокаліну в експериментах *in vivo*: вплив на гемодинаміку та ураження міокарда за умов його ішемії-реперфузії // Фізіол. журн. – 2009. – Т.55, №5.-С.12-19.
14. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О. Моделювання активності АТФ-залежних калієвих каналів у аорті нормотензивних та гіпертензивних тварин. // Фізіол. журн.- 2000.- Т.46, №6.- С.54-60.
15. Струтинський Р.Б., О.О. Мойбенко, С.М. Пивовар, В.Е. Досенко, Л.М.Ягупольський. АТФ-чутливі калієві канали та зміни їх функціональної активності при стрептозоцин-викликаному цукровому діабеті // Фізіол. журн.- 2003.- Т.49, №6, С.22-31.
16. Струтинський Р.Б., Пивовар С.М., Тумановська Л.В., Мойбенко О.О. Кардіопротекторні ефекти флокаліну: відносна роль активації сарколемальних та мітохондріальних K_{ATP} каналів // Фізіол. журн. – 2008. – Т.54, №6.- С.15-23
17. Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Ягупольський Л.М., Мохорт М.А. Розробка та підготовка до впровадження нового вітчизняного кардіопротекторного препарату - фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів Флокалін // Наука та інновації.- 2006.- Т.2, №4.- С.114-119.
18. Клебанов Б.М., І.І.Малетіна, Л.М.Ягупольський та ін. Пат. 17071А Україна, МПК⁶ А 61 К 31/03. N-(1,2,2-триметилпропіл)-N'-ціано-N'-арилгуанідини з фторвмісними замісниками в ароматичному ядрі, які проявляють гіпотензивну та кардіотонічну дію - № 95041977; Заяв. 26.04.95; Опубл. 31.10.97.- Промислова власність.- 1997.- №5.- С. 3.1.76.
19. Мойбенко О.О., Юзків М.Я., Тумановська Л.В., Коцюруба А.В. Гостра ішемія-реперфузія міокарда: роль оксиду азоту // Фізіол. журн.- 2004.- Т.50, № 2, С.34-42.
20. Морозов М.А. Медицинская помощь при неотложных состояниях. - учеб. пособие. - СПб: Дидактика, 1995. -215с.
21. Conte D., Narindrasoras K. S., Sarkar B. In vivo and in vitro iron replaced zinc finger generates free radicals and causes DNA damage // Eur. J. Biochem.-1996.-271, №9. – P.5125-5130.
22. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В кн.: Совр. Методы в биохимии. Под ред. Ореховича В.Н. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-67.
23. Salter M., Knowles R.G., Moncada S. Widespread tissue distribution, species and changes in activity of Ca²⁺-dependent and Ca²⁺-independent nitric oxide synthases // FEBS Lett. - 1991. - 291, № 1. - P. 145-149.
24. Chin S.Y., Pandey K.N., Shi S.J. et al. Increased activity and expression of Ca²⁺-dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats // Amer. J. Physiol. - 1999. - 277, № 5. - P. 797-804.

R.B. STRUTYNSKYI

BASIC CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF NEW DOMESTIC FLUORINE-CONTAINING OPENER OF THE K_{ATP} CHANNELS - FLOKALIN

In experiments on the anaesthetized dogs with modeling of experimental ischemia (90min) and reperfusion (180min) the cardioprotective influence of intragastric introduction of medicinal form of new fluorine-containing opener of ATP-sensitive potassium channels flokalin was shown. Flokalin was introduced in a dose $2,2 \pm 0,2$ mg/kg, which in the conditions of physiological norm has a minimum influence on the parameters of cardiohemodynamic. In our opinion, by positive influences of flokalin, which are possibly related to cardioprotective action, there is a relative preservation of myocardium contractility, prevention of increase of general peripheral resistance and resistance of coronal vessels of heart in the period of reperfusion. Flokalin has the antioxidant properties, reduced production of free radical, leukotrienes, thromboxanes and activity iNOS, and increase activity cNOS. All protective properties of flokalin showed above result in diminishing of infarct size of myocardium after ischemia-reperfusion on 42,5% versus control experiments.

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України

Координати для спілкування: Струтинський Руслан Борисович – тел. 044-256-24-80; 097-691-75-38, e-mail strus@biph.kiev.ua , запасний - StrutynskyRB@nas.gov.ua

Дата поступлення: 25.12.2009 р.