



УДК 615.22-008.331.1

## ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ

**О.А. СТАРОСЕЛЬЦЕВА<sup>2</sup>****С.А. АЛЕХИН<sup>2</sup>****В.А. САВВИН<sup>1</sup>****М.В. КОРОКИН<sup>1</sup>****С.В. МЯГЧЕНКО<sup>2</sup>****В.А. ФИЛИМОНОВ<sup>2</sup>****С.В. ЖУКОВ<sup>2</sup>****А.Н. КАПЛИН<sup>2</sup>****К.А. ЛЕБЕДЕВ<sup>2</sup>**

В результате исследования было показано, что феномен дистантного ишемического прекодиционирования оказывает выраженное эндотелиопротективное действие на модели L-NAME-индуцированного дефицита NO, что выразилось в преобладании эндотелийзависимого расслабления сосудов и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции. Сочетанное применение дистантного ишемического прекодиционирования с глибенкламидом позволило обнаружить нивелирование положительных эффектов прекодиционирования, что выразилось в повышении КЭД и отсутствии достижения целевых значений артериального давления.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, дистантное ишемическое прекодиционирование, глибенкламид.

<sup>1)</sup> Белгородский государственный национальный исследовательский университет

<sup>2)</sup> Курский государственный медицинский университет

e-mail: star.ks@inbox.ru

Эндотелиальная дисфункция рассматривается как сложный и многостадийный патофизиологический процесс, развивающийся при воздействии неблагоприятных факторов [7]. Ими являются: эндогенный блокатор синтеза оксида азота асимметричный диметиларгинин, гиперхолестеринемия, гипергомоцистеинемия, инсулинорезистентность, гипергликемия и др. Результаты проспективных исследований свидетельствуют, что эндотелиальная дисфункция периферических и коронарных сосудов является прогностическим фактором риска смерти от сердечно-сосудистых причин [9]. Она служит первым звеном в патофизиологии сердечно-сосудистого континуума, в основе которой лежит снижение синтеза оксида азота (NO). [1].

Данные ряда исследовательских работ подтверждают тот факт, что состояние, характеризующееся нарушенной функцией эндотелия, обратимо [3]. В последнее время ученые сосредоточились на понятии эндогенной защиты от ишемии, то есть прекодиционирования, и продемонстрировали, что эндотелиальная дисфункция могла быть полностью изменена ранней или отсроченной фазой прекодиционирования.

Изучение ЭД, состояния сосудистой стенки артерий у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, включая АГ, и поиск возможностей лечения ЭД являются важными клиническими задачами. В этой связи большой практический интерес представляет поиск оптимальных методик, способных, наряду с кардиопротективным и гипотензивным эффектами, уменьшать выраженность и способствовать обратному развитию эндотелиальной дисфункции. Одной из таких методик может служить дистантное ишемическое прекодиционирование.

Открытие дистантного прекодиционирования, суть которого состоит в том, что кратковременные эпизоды ишемии одного органа (нижней конечности) повышают устойчивость других органов к тяжелым ишемическим повреждениям, вызвало огромный интерес ученых всего мира [8].

В настоящее время продолжают исследования по изучению базовых механизмов дистантного ишемического прекодиционирования. Ведущую роль в них отводят активации АТФ-зависимых калиевых каналов. Дальнейшее разъяснение физиологической и патофизиологической роли К<sup>+</sup> АТФ-чувствительных каналов может привести к появлению новой терапевтической стратегии по улучшению качества жизни больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

**Целью настоящего исследования** явилось изучение механизмов эндотелиопротективного действия дистантного ишемического прекондиционирования на модели L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота.

**Материалы и методы.** Опыты проводили на самцах белых крыс линии Вистар массой 250±50 г. Для моделирования эндотелиальной дисфункции внутрибрюшинно вводился блокатор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) в дозе 25 мг/кг/сут в течение 7 дней.

На 8-й день от начала эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД). Болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в бедренную вену. Показатели гемодинамики – систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) – измеряют непрерывно посредством датчика и компьютерной программы “Віорас”. Помимо измерения АД проводили ряд функциональных тестов с последующей оценкой изменения параметров гемодинамики (САД, ДАД, ЧСС) в ответ на внутривенное введение раствора ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного (ЭЗВД) [3, 5], а также изменения параметров гемодинамики в ответ на внутривенное введение раствора нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного (ЭНВД) [4, 6].

Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции оценивали по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД), представляющему собой отношение площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение НП (ЭНВД) к площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение АХ (ЭЗВД) [4, 5].

Экспериментальные животные были разделены на группы (n=10): I– интактные; II– с введением L-NAME; III– с проведением на фоне L-NAME дистантного ишемического прекондиционирования однократно в сутки в течение 7 дней; IV– с осуществлением на фоне L-NAME комбинации проведения дистантного ишемического прекондиционирования и введения глибенкламида («Манинил» пр-ва BERLIN-CHEMIE/MENARINI в дозе 0,4 мг/кг внутрибрюшинно) однократно в сутки в течение 7 дней.

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

**Результаты.** Влияние дистантного ишемического прекондиционирования и сочетания его с введением глибенкламида в дозе 0,4 мг/кг на исходные показатели артериального давления у наркотизированных крыс с моделированием L-NAME-индуцированной патологии представлены в таблице. Значение показателей САД и ДАД в группе интактных животных приняты целевыми значениями артериального давления. Обнаружено, что применение дистантного ишемического прекондиционирования предотвращает развитие выраженной гипертензии, и значения САД и ДАД достоверно не отличались от соответствующих значений интактных животных. Сочетанное применение дистантного ишемического прекондиционирования с глибенкламидом обнаружило нивелирование положительных эндотелиопротективных эффектов, и значения показателей артериального давления не достигали целевых уровней (табл.).

Результаты функциональных проб на эндотелийзависимое (ацетилхолин 40 мкг/кг в/в) и эндотелийнезависимое (нитропруссид 30 мг/кг в/в) расслабление сосудов у животных с L-NAME индуцированной патологией на фоне проведения дистантного ишемического прекондиционирования и сочетания его с глибенкламидом, позволили установить, что при сочетанном их применении коэффициент эндотелиальной дисфункции повышался, приближаясь к группе с введением L-NAME, и значение КЭД в данной группе составило  $3,7 \pm 0,3$ . КЭД в группе интактных животных составил  $1,1 \pm 0,1$ , в группе животных, получавших L-NAME –  $5,4 \pm 0,6$  (табл. 1).



Таблица

**Влияние дистантного ишемического на коэффициент эндотелиальной дисфункции при моделировании L-NAME (25 мг/кг внутрибрюшинно, однократно в течение 7 дней)-индуцированного дефицита оксида азота ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

Группы животных	Функциональная проба	САД, мм рт. ст.	ДАД, мм рт. ст.	Площадь сосудистой реакции, усл. ед.	КЭД
Интактные	Исходные	137,7 ± 3,7	101,9 ± 4,3		1,1 ± 0,1
	АХ	84,3 ± 4,5	38,7 ± 2,8	1268,0 ± 74,8	
	НП	83,0 ± 3,7	42,1 ± 4,4	1375,3 ± 93,7	
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	Исходные	190,3 ± 6,7*	145,0 ± 3,9*		5,4 ± 0,6*
	АХ	110,6 ± 5,2*	82,8 ± 6,6*	695,3 ± 87,6*	
	НП	88,7 ± 4,7	50,8 ± 4,2	3322,7 ± 116,7*	
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)+дистантное ишемическое прекондиционирование	Исходные	130,7 ± 7,8**	95,9 ± 6,7**		2,5 ± 0,3**
	АХ	88,9 ± 4,2**	41,6 ± 3,1**	1235,0 ± 110,7	
	НП	86,8 ± 5,9	35,8 ± 2,7**	2902,7 ± 243,5	
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)+дистантное ишемическое прекондиционирование + глибенкламид (0,4 мг/кг)	Исходные	169,5 ± 4,5**	132,6 ± 5,5**		3,7 ± 0,3**
	АХ	108,7 ± 3,6	61,9 ± 3,1**	799,6 ± 99,2	
	НП	102,6 ± 6,1**	57,3 ± 3,4	2747,7 ± 177,9	

Примечание: \* –  $p < 0,05$  в сравнении с интактными, \*\* –  $p < 0,05$  в сравнении с L-NAME, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции.

**Обсуждение результатов.** В настоящее время не существует препаратов для специфической коррекции эндотелиальной дисфункции, поэтому большую ценность представляют данные о свойствах различных кардиологических феноменов, в качестве дополнения к существующим методам лечения сердечно-сосудистых заболеваний и создания на их основе нового класса препаратов – эндотелиотропных аддитивов.

Дистантное ишемическое прекондиционирование обуславливается запуском каскадных реакций, ведущих к снижению уровня энергопотребления прекондиционированных тканей и активации молекулярных механизмов цитопротекции.

В исследованиях, проведенных в нашей лаборатории ранее, показано положительное влияние дистантного ишемического прекондиционирования на степень выживаемости ишемизированных тканей и неоваскулогенез [2]. Однако исследование эндотелиопротективной активности указанного феномена, как и исследование механизмов данных эффектов путем сочетанного применения его с глибенкламидом на выбранной модели эндотелиальной дисфункции не проводилось [4, 6].

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о защитном действии дистантного ишемического прекондиционирования, выражающемся в преобладании эндотелийзависимого расслабления сосудов и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции. Это обусловлено тем, что дистантное ишемическое прекондиционирование способствует открытию митохондриальных АТФ-зависимых калиевых каналов. Это действует как ведущий механизм в феномене прекондиционирования.

Сочетанное применение дистантного ишемического прекондиционирования и глибенкламида позволило обнаружить нивелирование положительных эндотелиопротективных эффектов данного феномена, выразившееся в повышении КЭД и недостижении целевых значений артериального давления; а также позволило раскрыть механизмы эндотелиопротективных свойств дистантного ишемического прекондиционирования. Отмеченный эффект сочетанного применения дистантного ишемического прекондиционирования и глибенкламида на функцию эндотелия связан с противоположными патогенетическими механизмами влияния на метаболизм оксида азота. Дистантное ишемическое прекондиционирование способствует активации АТФ-зависимых калиевых каналов, а глибенкламид является блокатором митохондриальных калиевых каналов.

Таким образом, выяснение конкретных механизмов, приводящих к возникновению эндотелиальной дисфункции, представляет не только теоретический, но и несомненный практический интерес. Рассмотренные выше аспекты этой проблемы могут служить основой для разработки новых профилактических и



терапевтических мероприятий, а также дать перспективу их использования в качестве дополнения к существующим методам лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

**Выводы:**

1. Длительное (в течение 7 дней) интубрюшинное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг вызывает у самцов крыс линии Вистар нарушение функции эндотелия сосудов, выражающееся в повышение значений артериального давления и коэффициента эндотелиальной дисфункции.

2. Дистантное ишемическое прекондиционирование обладает выраженным эндотелиопротективным действием, проявляющемся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции и значений артериального давления.

3. При сочетанном применении дистантного ишемического прекондиционирования и глибенкламида в дозе 0,4 мг/кг, обнаружено нивелирование положительных эндотелиопротективных эффектов дистантного прекондиционирования, выразившееся в отсутствии достижения целевых значений артериального давления и повышении коэффициента эндотелиальной дисфункции. Это раскрывает основной механизм эндотелиопротективного действия феномена в виде активации митохондриальных АТФ-зависимых калиевых каналов.

**Исследование выполнено при поддержке гранта Президента РФ № МК-905.2012.4.**

**Литература**

1. Бувальцев, В.И. Дисфункция эндотелия как новая концепция профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний / В.И. Бувальцев // *Международ. мед. журн.* – 2001. – № 3. – С. 9-14.

2. Возможности фармакологической коррекции хронической ишемии конечности в эксперименте / Е.Б. Артюшкова, Д.В. Пашков, М.В. Покровский и др. // *Эксперим. и клинич. фармакология.* – 2008. – Т. 71, № 3. – С. 23-25.

3. Коркушко, О.В. Эндотелиальная дисфункция / О.В. Коркушко, В.Ю. Лишневецкая // *Кровообіг та гемостаз.* – 2003. – № 2. – С. 4-15.

4. Метаболическая и антиоксидантная терапия L-NAME индуцированной эндотелиальной дисфункции / М.В. Покровский, Е.Б. Артюшкова, Т.Г. Покровская и др. // *Кубанский научный медицинский вестник.* – 2008. – № 3-4. – С. 73-78.

5. Новый взгляд на коррекцию эндотелиальной дисфункции / М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г. Покровская и др. // *Российский журнал иммунологии.* – 2006. – Т. 9. – С. 60-61.

6. Принципы фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции / М.В. Покровский, Е.Б. Артюшкова, Т.Г. Покровская и др. // *Кубанский научный медицинский вестник.* – 2007. – № 1-2. – С. 146-150.

7. Шестакова, М.В. Дисфункция эндотелия – причина или следствие метаболического синдрома? / М.В. Шестакова // *РМЖ.* – 2001. – № 9(2). – С. 88.

8. Hausenloy, D.J. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application / D.J. Hausenloy, D.M. Yellon // *Cardiovasc. Res.* – 2008. – Vol. 79. – P. 377-386.

9. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients / F. Perticone, R. Ceravolo, A. Pujia et al. // *Circulation.* – 2001. – Vol. 104. – P. 191-196.

**THE REMOTE ISCHAEMIC PRECONDITIONING ENDOTELIOPROTECTIVE EFFECTS**

**O.A. STAROSELTSEVA<sup>2</sup>**

**S.A. ALEHIN<sup>2</sup>**

**V.A. SAVVIN<sup>1</sup>**

**M.V. KOROKIN<sup>1</sup>**

**S.V. MYAGCHENKO<sup>2</sup>**

**V.A. FILIMONOV<sup>2</sup>**

**S.V. ZHUKOV<sup>2</sup>**

**A.N. KAPLIN<sup>2</sup>**

**K.A. LEBEDEV<sup>2</sup>**

As a result of research it has been shown, that remote ischaemic preconditioning render expressed endothelioprotective action on model of L-NAME-induced deficiency NO that was expressed in prevalence endothelium dependent relaxations of vessels and factor decrease endothelial dysfunction. Combined application of the remote ischaemic preconditioning end «Glibenklamid» has allowed to find out the depression of the preconditioning positive effects expressed in increase CED and absense of the achievement of target values of arterial pressure.

Keywords: endothelial dysfunction, remote ischaemic preconditioning, glibenklamid.

<sup>1)</sup> *Belgorod National Research University*

<sup>2)</sup> *Kursk State Medical University*

e-mail: star.ks@inbox.ru