

Р.Б. Струтинський, А.В. Коцюрuba, О.П. Нещерет, А.М. Шиш, Р.А. Ровенець,
О.О. Мойбенко

Кардіопротекторні ефекти активації аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів в експериментах *in vivo*: вплив на біохімічні параметри крові за умов ішемії–реперфузії міокарда

В експериментах на анестезованих собаках з відтворенням експериментальної ішемії (90 хв) та реперфузії (180 хв) показано участь біохімічних процесів у кардіопротекторному ефекті доішемічної активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих (K_{ATP}) каналів за допомогою внутрішньовенного введення нового вітчизняного фторвмісного активатора цих каналів – флокаліну, в дозі 0,1 мг/кг, що практично не змінювала параметри гемодинаміки за умов нормоксії. Таким чином, проведене дослідження впливу флокаліну на зміни біохімічних показників артеріальної крові під час ішемії–реперфузії міокарда продемонстрували певні особливості розвитку ішемічно–реперфузійного синдрому в умовах стимуляції активності K_{ATP} -каналів. Аналіз біохімічних показників крові показав, що флокалін пригнічує вільнорадикальні реакції та має антиокиснювальні властивості: зменшує вміст H_2O_2 та NO_3^- (останнє може свідчити про зменшення утворення пероксинітритів), запобігає зниженню активності ферментів антиоксидантної системи каталази та супероксиддисмутази. Практично незмінний вміст у крові протягом усього експерименту низькомолекулярних нітрозотіолів і збільшення вмісту NO_2^- під час реперфузії можуть свідчити про підтримання системи оксиду азоту в належному стані та протекторний вплив флокаліну при ішемії–реперфузії міокарда. Той факт, що при доішемічному введенні флокаліну вміст в крові неорганічного фосфору та сечової кислоти під час ішемії–реперфузії практично не змінюється може говорити про запобігання повної деградації АТФ, а, отже, і утворення як супероксид-аніона за дії ксантиноксидази, так і пероксинітриту при взаємодії останнього з оксидом азоту. Всі вищеперераховані властивості флокаліну пов'язані з динамікою біохімічних показників артеріальної крові, разом зі змінами в гемодинаміці, сприяють зменшенню розміру зони інфаркту міокарда після ішемії–реперфузії порівняно з контролем на 37 %.

Ключові слова: K_{ATP} -канали, флокалін, ішемія–реперфузія, вільні радикали, система NO.

ВСТУП

Аденозинтрифосфатчутливі (K_{ATP}) канали є основною ланкою кардіопротекції при ішемії та реперфузії міокарда, а фармакологічні активатори цих каналів проявляють анти-ішемічні та спазмолітичні властивості [14]. Одним із самих нових, з потужними кардіопротекторними властивостями та досить низькою токсичністю, є вітчизняний фтор-

місний активатор цих каналів флокалін [7, 8, 11]. В експериментах *in vitro* та *in vivo* зі створенням фармакологічного прекодиціювання вже досить добре вивчено вплив флокаліну на зміну показників кардіогемодинаміки. З нашої точки зору до позитивних впливів флокаліну, що можуть сприяти його кардіопротекторним ефектам, можна віднести помірне зниження артеріального тиску, що послаблює навантаження на уражене

© Р.Б. Струтинський, А.В. Коцюрuba, О.П. Нещерет, А.М. Шиш, Р.А. Ровенець, О.О. Мойбенко

серце і сприяє збереженню серцевого викиду в перші години ішемії, запобігання підвищенню опору коронарних судин та відносне збереження показників скоротливості міокарда в період реперфузії. Одним із показників кардіопротекторної дії флокаліну є зменшення розміру зони інфаркту міокарда після ішемії–реперфузії при попередньому доішемичному внутрішньовенному введенні флокаліну порівняно з контролем на 37 % [7]. При цьому зміна біохімічних показників крові та міокарда під впливом флокаліну залишається практично не дослідженою.

Метою нашої роботи було дослідження змін біохімічних показників артеріальної крові при фармакологічному прекодиціюванні, викликаному внутрішньовенним введенням нового вітчизняного фторвмісного активатора K_{ATF} -каналів сарколемальної та мітохондріальної мембран – флокаліну в експериментах *in vivo* в дозах, що практично не змінюють гемодинаміку.

МЕТОДИКА

Досліди виконували на безпородних собаках, масою від 15 до 25 кг, під хлоралозоуретановим наркозом (0,07 та 0,7 г/кг, внутрішньовенно) за методом, описаним раніше [4, 7]. У роботі використовувався метод ретроградної катетеризації аутоперфузії та прицільної емболізації гілки лівої коронарної артерії, який дає змогу відтворити локальну ішемію–реперфузію міокарда без розкриття грудної порожнини і зі збереженням спонтанного дихання.

Для визначення біохімічних показників протягом експерименту багаторазово відбирали кров під час дослідження. Інтенсивність вільнорадикальних реакцій визначали за вмістом пероксиду водню [12] та за допомогою H_2O_2 -індукованої хемілюмінесценції (ХЛ) [5]. Реєстрацію здійснювали за допомогою “Хемілюмінографа ЕА-1”, а обробка кінетичних показників ХЛ та їх візуалізація – завдяки спеціально розроб-

леній комп’ютерній програмі. Для визначення вмісту малонового діальдегіду (МДА) до аліквот проб додавали 0,5 мл 1%-го розчину тіобарбітурової кислоти розведеної в 50ммоль/л NaOH і 0,5 мл 2,8%-го розчину трихлороцтової кислоти. Отриману суміш витримували 20 хв на киплячій водянній бані, охолоджували і визначали величину екстинції при 532 нм [6]. Стан антиоксидантної системи (АОС) оцінювали у гомогенатах сердець за показниками активності ключових ферментів антиоксидантного захисту. Активність супероксиддисмутази (СОД) досліджували за методом Чеварі [9]. Активність ферменту виражали в умовних одиницях, де 1 ум.од. відповідає 50 % блокування активності ферменту. Активність каталази вивчали за методом Королюк та співавт. [3]. Вміст нітрит-аніона (NO_2^-) визначали в безбілкових аліквотах гомогенатів серця і плазми крові в колориметричній реакції за допомогою реактиву Гріса методом Гріна [13], а вміст нітрат-аніона (NO_3^-) – бруциновим методом у безбілкових аліквотах за допомогою спектрофотометрії [10]. Вміст нітрозотіолів визначали за методом Saville [2], а сечової кислоти – в колориметричній реакції в аліквотах гомогенатів серця та плазми крові за допомогою добірки реактивів фірми «Філіст-Діагностика» (Дніпропетровськ). Наявність у розчині продуктів деградації АТФ та ГТФ – ксантину, інозину та гіпоксантину визначали спектрофотометрично за поглинанням безбілкових аліквот крові при $\lambda = 254$ нм. Вимірювання здійснювали на спектрофотометрі СФ-26 ЛОМО. Вміст білка визначали загальноживим методом Бредфорд з використанням барвника Cumassi G-250 (“Ferak”, Німеччина). Крім того визначали в пробах вміст неорганічного фосфату колориметричним методом Островського [1].

Було проведено дві серії експериментів – контрольну ($n = 11$) і дослідну ($n = 7$). В обох серіях визначали показники при регіональній ішемії міокарда (90 хв) та наступній

реперфузії (180 хв), але у дослідній на тлі внутрішньовенного введення 0,1 мг/кг активатора K_{ATP} -каналів флокаліну за 10 хв до початку ішемії.

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

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Порушення цілісності або функцій клітинних мембран відіграють суттєву роль у патогенезі серцево-судинних захворювань, а процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) є одним з універсальних механізмів пошкодження за умов будь-якої патології. Участь вільнорадикальних процесів у патогенезі ішемічних та реперфузійних пошкоджень серця нині не викликає сумнівів. Згідно з сучасними уявленнями перекисні процеси, що відбуваються у ліпідних структурах клітинних мембран, сприяють порушенню їх цілісності, призводячи іноді до незворотних пошкоджень кардіоцитів. У наших дослідях виявлено, що ішемія–реперфузія у собак викликає збільшення утворення вільних радикалів кисню, про що свідчить значна інтенсифікація хемілюмінесценції, збільшення продукції і пулів пероксиду водню (H_2O_2), а також кінцевого продукту ПОЛ, а саме – вмісту МДА (рис. 1,а). Таке посилення процесів ПОЛ супроводжується одночасним зниженням антиоксидантного потенціалу (рис. 1,б,в), а саме пригніченням активності ключових ферментів антиоксидантної системи (АОС) організму каталази та супероксиддисмутази (СОД).

У наших дослідях флокалін істотно знижував як інтенсивність ПОЛ, так і попереджував зменшення активності ферментів АОС каталази та СОД (див. рис. 1,а,б,в). Слід відмітити, що введення флокаліну зменшує вміст H_2O_2 у крові тварин уже

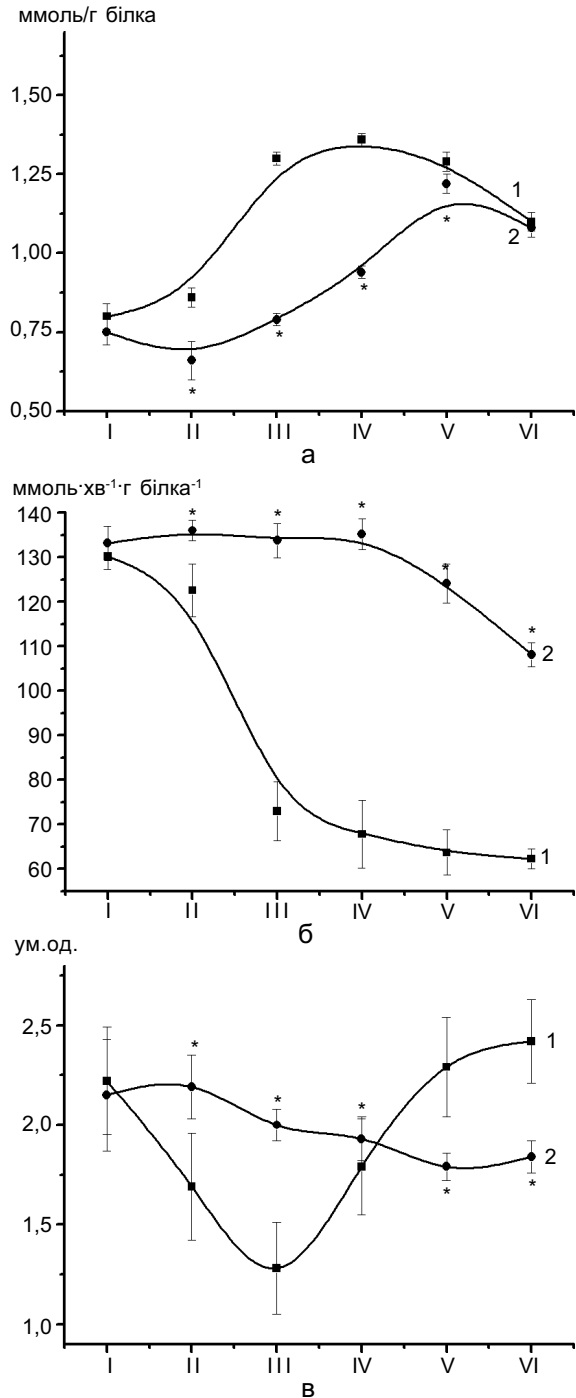


Рис.1. Вплив флокаліну на вміст малонового діальдегіду (а), активність каталази (б) та супероксиддисмутази (в) у плазмі крові собак у різні періоди ішемії–реперфузії міокарда у контрольній групі – ішемія–реперфузія (1) та ішемії–реперфузії після введення флокаліну (2); I – вихідні показники (нормоксія); II і III 1 і 90 хв ішемії відповідно, IV–VI – 60, 120 і 180 хв реперфузії відповідно. * $P < 0,05$

перед ішемією – $(1,01 \pm 0,095)$ пмоль/мг білка за вихідних умов у порівнянні з $(0,77 \pm 0,095)$ пмоль/мг білка після введення флокаліну. Аналогічне зменшення вмісту H_2O_2 після введення флокаліну було зафіксовано протягом всієї ішемії та наступної реперфузії, проте починаючи з 3-ї години реперфузії він практично не відрізнявся від вихідних умов (рис. 2). Водночас у контролі (при моделюванні ішемії–реперфузії, без попереднього введення флокаліну) вміст H_2O_2 збільшувався під час ішемії та особливо протягом реперфузії.

Таким чином, попереднє введення флокаліну зменшує вміст H_2O_2 у крові тварин як під час ішемії (на 67,16 % на 60-й хвилині ішемії, $P < 0,05$), так і під час реперфузії (на 73,25 % на 60-й хвилині реперфузії, $P < 0,05$).

Активність каталази та СОД при передішемичному введенні флокаліну, на відміну від контролю, протягом усього експерименту, за виключенням останньої години реперфузії, не зазнавали вірогідних змін, що може свідчити про сприяння флокаліну збереженню балансу в системі ПОЛ–АОС. Підтвердження цьому можуть бути і

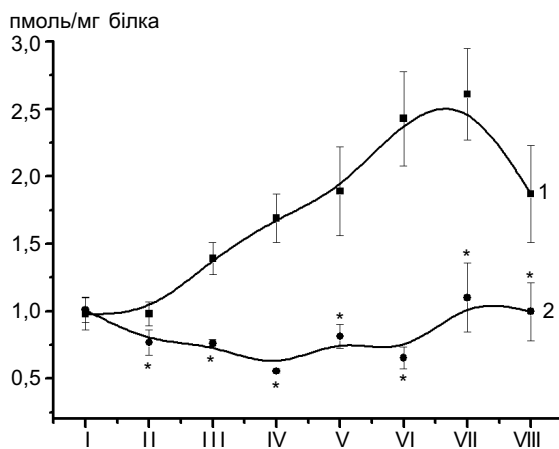


Рис. 2. Вплив флокаліну на зміни вмісту H_2O_2 у крові при ішемії–реперфузії міокарда у контрольній групі – ішемія–реперфузія (1) та ішемії–реперфузії після введення флокаліну (2); I – вихідні показники (нормоксія); II – вміст H_2O_2 при введенні флокаліну; III–V – 1, 60 і 90 хв ішемії відповідно, VI–VIII – 60, 120 і 180 хв реперфузії відповідно. * $P < 0,05$

дослідження індукованої хемолумінісценції (ХЛ) плазми крові у динаміці ішемії–реперфузії. В контрольних експериментах спостерігалось значне зростання ХЛ за усіма кінетичними показниками. На 90-ту хвилину ішемії загальна світлосума ХЛ за 5 хв реєстрації (Σ_5) та кінцеве значення інтенсивності випромінювання через 5 хв (I_5), за яким можна оцінювати швидкість затухання ХЛ та опосередковано стан АОС збільшувалися від вихідного рівня (нормоксії) відповідно у 2,4 та 1,57 рази ($P < 0,05$). Реперфузія призводила до ще більш інтенсивного посилення перекисних процесів. Так, на 60-й хвилині реперфузії приріст Σ_5 становив 170,2 % ($P < 0,05$), а на 120-й хвилині – 184,7 % ($P < 0,05$) від вихідного рівня, проте I_5 збільшувалося не так стрімко: на 60-й хвилині на 79,6 % ($P < 0,05$), а на 120-й хвилині на 84,9 % ($P < 0,05$) від вихідного рівня (табл. 1).

Таким чином, отримані результати свідчать про підвищення інтенсивності перекисних процесів у артеріальній крові, внаслідок порушення балансу між утворенням та інактивацією перекисних ліпідів, яке призводило до їх надлишкового накопичення в процесі ішемії–реперфузії. На підставі змін I_5 можна казати, що антиоксидантна активність крові за ішемії–реперфузії знижена, але аналізуючи зміни кінетичних показників ХЛ очевидно, що зміни ПОЛ залежать і від інших механізмів.

Дія флокаліну зменшувала підвищення всіх кінетичних показників індукованої ХЛ у плазмі крові при ішемії та наступній реперфузії серця (див. табл. 1). Так, за умов ішемії та при попередньому введенні флокаліну сумарна інтенсивність ХЛ була меншою ніж у контролі. Якщо на 180-й хвилині реперфузії у контролі значення Σ_5 потроювалося щодо вихідного рівня, то після введення флокаліну цей показник був меншим на 17,2 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем. За умов попереднього введення флокаліну I_5 також була меншою як під час ішемії так і при реперфузії (на 120-й хвилині

на 14,6 %) порівняно з контролем. Слід відмітити, що дія флокаліну також знижує I_0 (амплітуду швидкого спалаху ХЛ) під час ішемії–реперфузії (на 180-й хвилині на 17,17%, $P < 0,05$) щодо контролю, тобто флокалін на даній моделі ішемії–реперфузії проявляє антиокиснювальний вплив.

Ще одним доказом захистного впливу флокаліну при ішемії–реперфузії міокарда є зміни вмісту в крові пулів (NO_2^-) та (NO_3^-): збільшення вмісту NO_2^- та деяке зменшення NO_3^- при ішемії та реперфузії (особливо при реперфузії) міокарда порівняно з нормоксією. Відомо, що вміст NO_2^- в крові може бути показником нормальної роботи системи оксиду азоту. В наших експериментах, під час усього періоду реперфузії після введення флокаліну вміст NO_2^- був більшим порівняно з вихідним рівнем і контролем (табл. 2), тоді як у контролі цей показник зменшувався під час ішемії. Таким чином, флокалін не тільки запобігав зменшенню вмісту NO_2^- в крові тварин при ішемії, але суттєво підвищував його вміст під час реперфузії. Певним чином, виразом кардіопротекторної дії флокаліну є також практично незмінний вміст NO_3^- , тому що його збільшення може свідчити про посилення утворення пероксинітриту при взаємодії NO з супероксид-радикалом (див. табл. 2).

Відомо, що низькомолекулярні нітрозотіоли (НМНТ) є донорами молекул оксиду азоту. Зменшений їх вміст у крові вказує на активне використання молекул NO , що може мати негативні наслідки в зв'язку з можливістю виникнення вазоконстрикцій. Флокалін практично не впливає на вміст НМНТ (див. табл. 2), що разом зі збільшенням вмісту NO_2^- під час реперфузії може свідчити про підтримання системи оксиду азоту в належному стані та кардіопротекторний вплив флокаліну при ішемії–реперфузії міокарда.

Про останнє свідчать інші біохімічні показники крові: вміст сечової кислоти,

неорганічного фосфору та сумарних продуктів деградації АТФ і ГТФ – інозину, ксантину і гіпоксантину. Всі вони є маркерами деградації молекул АТФ, що є особливо показовим в умовах ішемії. Неорганічний фосфор утворюється при гідролізі АТФ ($\text{АТФ} \rightarrow \text{АДФ} + \text{Фн} \rightarrow \text{АМФ} + 2\text{Фн} \rightarrow \text{аденозин} + 3\text{Фн}$). Сечова кислота є кінцевим продуктом метаболічного перетворення (деградації) молекул АТФ ферментом ксантиноксидазою. В наших експериментах показано, що при доішемичному введенні флокаліну вміст в крові неорганічного фосфору та сечової кислоти під час експерименту практично не змінюється порівняно з вихідними значеннями (табл. 2), що свідчить про протекторні властивості флокаліну та інгібування повного метаболічного перетворення АТФ до сечової кислоти.

Водночас збільшення оптичної густини при $\lambda = 254$ нм порівняно з нормоксією може свідчити про підвищення в крові вмісту інозину, ксантину і гіпоксантину, що є проміжними метаболітами при перетворенні молекул АТФ до сечової кислоти. Відомо, що в процесі метаболізму молекули АТФ інозин перетворюється в гіпоксантин, гіпоксантин в ксантин, ксантин в сечову кислоту. Останні два метаболічні перетворення за дії ксантиноксидази відбуваються з вивільненням радикалів супероксид-аніону. Таким чином, зменшення порівняно з контролем (ішемія–реперфузія без введення флокаліну) в крові вмісту інозину та ксантину за дії флокаліну може свідчити про пригнічення метаболічних перетворень на вище перерахованих стадіях та, пов'язаного з цим, збільшення вивільнення радикалів супероксид-аніона. Тобто, зниження в крові вмісту метаболітів деградації АТФ, сечової кислоти та неорганічного фосфору при доішемичному введенні флокаліну (табл. 2) може свідчити про зменшення утворення радикалів супероксид-аніона за ішемії–реперфузії міокарда, а це вказує на можливе інгібування флокаліном за ішемії–

Таблиця 1. Вплив флокаліну на показники хемолюмінісценції плазми крові собаки в різні періоди ішемії-реперфузії міокарда при введенні флокаліну (M±m, n=18)

Показник	Нормоксія	Ішемія, 90 хв	Реперфузія		
			60 хв	120 хв	180 хв
Амплітуда швидкого спалаху хемолюмінісценції, (I ₀ , mV)					
ішемія-реперфузія	62,83±7,7	181,2±30,1**	297,7±42,2**	281,14±13,3**	293,5±10,2**
введення флокаліну і ішемія-реперфузія	78,85±7,5	173,11±24,05**	272,85±48,70**	240,42±17,21*,**	243,12±16,8**,**
Загальна світлосума хемолюмінісценції за 5 хв рестрації (S ₅ , mV/c)					
ішемія-реперфузія	17872,82±1739,5	42841,10±191784**	48307,95±3800,8**	50866,15±2739,06**	53585,45±2180,46**
введення флокаліну і ішемія-реперфузія	17808,35±809,66	32455,32±3542,15**,**	46767,88±5317,4**	48826,53±2125,84**,**	44370,04±2423,3**,**
Кінцеве значення інтенсивності випромінювання через 5 хв (I ₅ , mV)					
ішемія-реперфузія	45,1±1,4	70,87±6,9**	81,0±3,3**	83,4±3,1**	102,7±3,1**
введення флокаліну і ішемія-реперфузія	39,11±3,7	62,70±5,9**,**	74,37±3,68**	71,25±3,73*,**	90,0±3,89*,**

Примітка. Тут і в табл. 2: * P<0,05 відносно контролю; ** P<0,05 відносно вихідних значень (нормоксії).

Таблиця 2 Вплив флокаліну на зміни біохімічних показників крові за умов експериментальної ішемії-реперфузії міокарда (M±m, n=9)

Показник	Нормоксія	Ішемія, хв			Реперфузія, хв		
		10	60	90	60	120	180
NO ₂ , пмоль/мг білка							
ішемія-реперфузія	61,9±9,5	49,5±11,1	40,6±3,6**	35,6±6,5**	59±8,5	79,2±9,5	28,5±6,1**
введення флокаліну							
і ішемія-реперфузія	62,8±4,69	55,9±3,3	40,6±9,6	67,37±16,77*	101,17±26,65**,**	119,33±19,41**,**	112,7±31,79**,**
NO ₃ , нмоль/мг білка							
ішемія-реперфузія	31,6±3,2	23,6±3,3**	25,7±1,8	18,8±2,3**	15,7±4**	20,4±6,9	74,5±14,2**
введення флокаліну							
і ішемія-реперфузія	25,8±0,9	21,5±1,65**	18,4±7,3	16,1±1,34**	17,83±3,3**	20,83±3,7**	23,3±2,69*
Низькомолекулярні нітрозотолі, пмоль/мг білка							
ішемія-реперфузія	10,34±1,5	11,3±1,6	8,8±0,9	7,4±1,1**	12,2±1,7	10,9±1,9	8,5±1,3
введення флокаліну							
і ішемія-реперфузія	9,6±0,38	6,4±1,8**	8,75±0,35	7,67±0,74**	9,53±2,77	10,77±1,77	8,33±2,18
Сечова кислота, нмоль/мг білка							
ішемія-реперфузія	1,26±0,08	1,73±0,22	2,83±0,19**	3,09±0,56**	12,10±1,16**	10,12±1,43**	6,30±0,85**
введення флокаліну							
і ішемія-реперфузія	1,55±0,34	1,67±0,08	1,81±0,35*	1,52±0,49*	1,89±0,9*	1,67±0,31*	2,02±0,58*
Оптична густина (D ₂₅₄)							
ішемія-реперфузія	0,27±0,02	0,36±0,07**	0,43±0,06**	1,25±0,12**	3,77±0,52**	3,45±0,39**	3,32±0,51**
введення флокаліну							
і ішемія-реперфузія	0,18±0,015	0,82±0,43**	0,27±0,02**	0,39±0,06**	0,37±0,02**	0,39±0,07**	0,31±0,05**
Неорганічний фосфор, нмоль/мг білка							
ішемія-реперфузія	24,9±1,3	35,4±4,1**	22,6±14,5	158,2±24,5**	288,5±49,7**	203,4±33,2**	222,23±29,3**
введення флокаліну							
і ішемія-реперфузія	19,33±1,51	19,8±2,5*	22,05±7,55	18,43±4,99*	20,47±4,23*	23,53±4,88*	21,77±2,5*

реперфузії і утворення пероксинітриду.

Таким чином, аналіз біохімічних показників крові показав, що флокалін пригнічує вільнорадикальні реакції та має антиокиснювальні властивості: зменшує вміст H_2O_2 і NO_3^- (останнє може свідчити про зменшення утворення пероксинітритів), запобігає зниженню активності каталази та СОД. Практично незмінний вміст у крові протягом усього експерименту НМНТ і збільшення вмісту NO_2^- під час реперфузії можуть говорити про підтримання системи оксиду азоту в належному стані та протекторний вплив флокаліну при ішемії–реперфузії міокарда. Той факт, що при доішемичному введенні флокаліну вміст в крові неорганічного фосфору та сечової кислоти під час ішемії–реперфузії практично не змінюється може свідчити про запобігання повної деградації АТФ, а, отже, і утворення як супероксид-аніона за дії ксантинооксидази, так і пероксинітриду при взаємодії останнього з оксидом азоту.

**Р.Б. Стругинский, А.В. Коцюруба,
А.П. Нещерет, А.Н. Шиш, Р.А. Ровенец,
А.А. Мойбенко**

**КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ
АКТИВАЦИИ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТЧУВСТВИ-
ТЕЛЬНЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ
В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VIVO: ВЛИЯНИЕ НА
БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ
ПРИ ИШЕМИИ–РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА**

В экспериментах на анестезированных собаках с воспроизведением экспериментальной ишемии (90 мин) и реперфузии (180 мин) показано участие биохимических процессов в кардиопротекторном эффекте доишемической активации аденозинтрифосфатчувствительных калиевых (K_{ATP}) каналов с помощью внутривенного введения нового фторсодержащего активатора этих каналов – флокалина, в дозе 0,1 мг/кг, которая практически не изменяла показатели гемодинамики в условиях нормоксии. Таким образом, проведенное исследование влияния флокалина на изменения биохимических показателей артериальной крови во время ишемии–реперфузии миокарда продемонстрировали определенные особенности развития ишемично–реперфузионного синдрома в условиях стимуляции активности K_{ATP} -каналов. Анализ биохимических показателей крови показал,

что флокалин угнетает свободнорадикальные реакции и имеет антиокислительные свойства: уменьшает содержание H_2O_2 и NO_3^- (последнее может свидетельствовать об уменьшении образования пероксинитритов), предотвращает снижение активности ферментов антиокислительной системы каталазы и супероксиддисмутазы. Практически неизменное содержание в крови на протяжении всего эксперимента низкомолекулярных нитрозотиолов и увеличение содержания NO_2^- во время реперфузии могут свидетельствовать о поддержании системы оксида азота в надлежащем состоянии и протекторном влиянии флокалина при ишемии–реперфузии миокарда. Тот факт, что при доишемическом введении флокалина содержание в крови неорганического фосфора и мочевой кислоты во время ишемии–реперфузии практически не изменяется может говорить о предотвращении полной деградации АТФ, а, следовательно, и образования как супероксид-аниона с помощью ксантинооксидазы, так и пероксинитрита при взаимодействии последнего с оксидом азота. Все вышеперечисленные свойства флокалина связанные с изменениями биохимических показателей артериальной крови, вместе с изменениями гемодинамики, приводят к уменьшению размера области инфаркта миокарда после ишемии–реперфузии по сравнению с контролем на 37 %.

Ключевые слова: K_{ATP} -каналы, флокалин, ишемия–реперфузия, свободные радикалы, система NO.

**R.B. Strutynskyi, A.V. Kotsiuruba,
A.P. Neshcheret, A.N. Shysh, R.A. Rovenets,
A.A. Moibenko**

**CARDIOPROTECTIVE EFFECTS
OF ACTIVATION OF ATP-SENSITIVE POTAS-
SIUM CHANNELS IN EXPERIMENTS IN VIVO:
INFLUENCE ON BIOCHEMICAL PARAMETERS
OF BLOOD FOLLOWING ISCHEMIA-
REPERFUSION OF MYOCARDIUM**

In experiments on the anaesthetized dogs with modeling of experimental ischemia (90 min) and reperfusion (180 min), the participation of biochemical processes in the cardioprotective effect of the preischemic activation of ATP-sensitive potassium (K_{ATP}) channels caused by intravenous introduction of flokalin, a new fluorine-containing opener of these channels was shown. Flokalin was introduced in a dose 0.1 mg/kg of animal body weight which practically did not change the parameters of hemodynamic in normoxia. Thus, the experiments investigating the influence of flokalin on changes of biochemical parameters of arterial blood during ischemia-reperfusion of myocardium showed certain features of ischemia-reperfusion syndrome development during stimulation of K_{ATP} channels. The analysis of biochemical parameters of blood showed that flokalin suppressed free radical reactions and had antioxidant properties: reduced quantity of H_2O_2 and NO_3^- (the last can interpreted as a reduction in peroxyinitrites formation), prevented the decline of catalase and superoxide dismutase activity. Practically constant content of low-molecular nitrosothiols

in blood during all duration of experiment and increase of NO_2^- level during reperfusion may indicate on intact functions of the NO system and protective influence of flokalin during ischemia-reperfusion of myocardium. Practically unchanged content of inorganic phosphorus and uric acid in blood during ischemia-reperfusion under conditions of preischemic introduction of flokalin indicates the prevention of ATP degradation and formation of both superoxide anion by xanthinoxidase and peroxynitrite by its interaction with nitric oxide. All mentioned properties of flokalin related to the changes of biochemical parameters of arterial blood, together with the changes of parameters of hemodynamics, result in diminishment of infarct size of myocardium after ischemia-reperfusion by 37% versus control experiments.

K_{ATP} channels, flokalin, ischemia-reperfusion, free radicaly, NO system

*O.O.Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Science of Ukraine, Kyiv;
A. Palladin Institute of Biochemistry National Academy of Science of Ukraine, Kyiv*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов // Лаб. дело. – 1988. – №2. – С.60–64.
2. Коган А.Х., Ершов В.И., Соколова И.Я. О механизмах усиления свободнорадикальных процессов у больных ИБС – стенокардией в зависимости от ее тяжести // Терап. архив. – 1994. – №4. – С. 32–36.
3. Королюк М.А., Иванова А.И., Майорова И.Т., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело – 1988. – № 1. – С. 16–19
4. Мойбенко О.О., Юзьків М.Я., Тумановська Л.В., Коцюрба А.В. Гостра ішемія–реперфузія міокарда: роль оксиду азоту // Фізіол. журн. – 2004. – 50, № 2, С.34–42.
5. Серкиз Я.И., Дружинина Н.А., Хриенко А.П. и др. Хемилюминесценция крови при радиационном воздействии. – К.: Наук. думка, 1989. – 176 с.
6. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. – В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. Ореховича В.Н. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–67.
7. Струтинський Р.Б., Нешерет О.П., Тумановська Л.В. та ін. Кардіопротекторні ефекти активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів в експериментах *in vivo*: вплив на гемодинаміку та ураження міокарда за умов його ішемії–реперфузії // Фізіол. журн. – 2009. – 55, №5. – С. 9–16.
8. 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. – 54, №6. – С.15–23.
9. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксид-дисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
10. Шугалей В.С., Козина А.С. Содержание мочевины и активность аргиназы в органах крыс при акклиматизации к холоду // Физиол. журн. СССР. – 1977. – № 8. – С. 1199–1202.
11. 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 фторовмісними 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.
12. Conte D., Narindrasorasa 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.
13. Green L.L., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [+5N] nitrate in biological fluids // Anal. Biochem. – 1982. – 126, № 1. – P.131–138.
14. Jahandir A., Terzic A. K_{ATP} channel therapeutics at the bedside // J. Mol. and Cel. Cardiol. – 2005. – 39. – P. 99–112.

*In-t фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ;
In-t біохімії ім.О.В. Палладіна НАН України, Київ
E-mail strus@biph.kiev.ua*

Матеріал надійшов до редакції 23.03.2009