

## ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НИКОРАНДИЛА – МОДУЛЯТОРА КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ НА МОДЕЛИ КОРОНАРООККЛЮЗИОННОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРОЛИКОВ

**Л.М. ДАНИЛЕНКО**  
**М.В. ПОКРОВСКИЙ**  
**О.О. НОВИКОВ**  
**К.А. БЕЛЯЕВ**  
**К.В. ХАВАНСКИЙ**

*Белгородский государственный  
национальный исследовательский  
университет*

*e-mail: Danilenkoljudmila@mail.ru*

В работе приведены результаты исследования противоишемической эффективности никорандила – препарата новой перспективной группы модуляторов калиевых каналов. Полученные результаты позволили установить выраженное противоишемическое действие никорандила в дозе 1,8 мг/кг на модели коронароокклюзионного инфаркта миокарда у кроликов. В условиях ишемии миокарда никорандил обладает кардиопротективным действием вследствие воспроизведения эффектов ишемического преко кондиционирования, открывая АТФ-зависимые калиевые каналы, он повышает адаптацию миокарда к прерывистой ишемии, предотвращает гибель миокардиоцитов в результате последующей коронароокклюзии.

Ключевые слов: никорандил, АТФ-зависимые калиевые каналы, преко кондиционирование.

В настоящее время продолжается поиск новых путей фармакологического воздействия на клиническое течение ИБС. В последние годы значительный интерес вызывает изучение эффективности препаратов новой, достаточно перспективной группы модуляторов калиевых каналов, наиболее известным представителем которых является никорандил.

Никорандил – производное никотинамида, состоит из остатка амида никотиновой кислоты и нитратной группы, поэтому обладает свойствами активаторов АТФ-зависимых калиевых каналов и органических нитратов [5, 6, 7, 8, 10]. Доминирующим эффектом высоких концентраций никорандила является укорочение потенциала действия и рефрактерного периода, т.е. влияние на противоаритмические факторы [4]. Известно, что применение никорандила в остром периоде ишемии миокарда значительно уменьшает частоту развития желудочковой тахикардии, оказывает эндотелиопротекторное и кардиопротекторное действие на модели L-NAME индуцированного дефицита оксида азота [1, 11].

Именно группа активаторов калиевых каналов стала объектом всестороннего изучения, поскольку представляет интерес в связи с возможностью терапевтического влияния на процессы, направленные на формирование особого состояния миокарда – преко кондиционирования. Развитие преко кондиционирования миокарда приводит к значительному ограничению зоны инфаркта, уменьшению ультраструктурных повреждений.

Процесс преко кондиционирования протекает в две стадии: ранняя (во время которой запускается каскадный медиаторный механизм, приводя к развитию ишемического преко кондиционирования) и поздняя – «второе окно защиты» – повышает толерантность в отношении летальной ишемии миокарда через 24 ч длительностью до 72 ч. Оксид азот NO в развитии отдаленного ишемического преко кондиционирования выступает модулятором механизмов его развития.

С прикладной точки зрения важно, что многие фармакологические агенты (модуляторы NO, агонисты рецепторов аденозина, агонисты опиоидных рецепторов), так же как и ишемия, вызывают позднюю фазу ишемического преко кондиционирования. Известно, что ишемическое преко кондиционирование является общебиологическим механизмом и реализуется за счет активации АТФ-зависимых калиевых каналов (K<sup>+</sup>АТФ-каналы) в ответ на выделение аденозина, брадикинина, опиоидов и др. [2].

В связи с этим **целью нашего исследования** явилась оценка эффективности фармакологического преко кондиционирования никорандилом и изучение вклада АТФ-зависимых калиевых каналов в реализацию его цитопротекторного эффекта.

**Материалы и методы исследования.** Эксперимент выполнен на 54 кроликах массой 2-2,5 кг. Изучение влияния ДИП и фармакологического преко кондиционирования на размер зоны некроза проводили на модели коронароокклюзионного инфаркта миокарда у кроликов.

При этом инфаркт миокарда воспроизводили у наркотизированных животных (хлоралгидрат 300 мг/кг), находящихся на управляемом дыхании, путем перевязки

нисходящей ветви левой коронарной артерии на уровне нижнего края ушка левого предсердия, с последующей регистрацией ЭКГ во II стандартном отведении в течение 20 минут.

Фармакологическое прекондиционирование осуществляли с помощью внутривенного введения никорандила в дозе 1,8 мг/кг. Локальное ишемическое прекондиционирование (ЛИП) моделировали путем трех периодов временной окклюзии левой коронарной артерии на 2 и 5 минут в чередовании с периодами реперфузии. Дистантное ишемическое прекондиционирование (ДИП) осуществляли путем наложения жгута на верхнюю треть бедра на 10 минут с последующей 20-минутной реперфузией и моделированием патологии. Контролем правильности наложения жгута служило отсутствие пульса на артериях голени.

Через 30 минут после коронарной окклюзии осуществляли снятие лигатуры и проводили реперфузию миокарда в течение 90 мин. После этого осуществляли забор крови из правого желудочка сердца в одноразовую вакуумную пробирку с антикоагулянтом, для определения специфического маркера повреждения кардиомиоцитов Troponin I (TnI). Уровень тропонина определяли на иммунофлуоресцентном приборе Triage MeterPro (Biosite, США).

После выведения животных из эксперимента поперечные срезы миокарда производили через каждые 0,8 см, начиная с уровня 0,8 см ниже места наложенной лигатуры. Таким образом, от каждого животного исследованию подвергались 4 поперечных среза миокарда.

Определение относительных площадей интактного и некротизированного миокарда левого желудочка сердца производили на каждом из четырех произведенных срезов с помощью анализа в программе Adobe Photoshop 9.0, путем подсчета отношения количества пикселей, приходящихся на зону некроза, к общей площади среза в пикселях.

С целью подтверждения гипотезы о реализации эффектов фармакологического прекондиционирования с помощью никорандила через активацию АТФ-зависимых калиевых каналов животным вводили глибенкламид в дозе 0,4 мг/кг.

**Результаты и их обсуждение.** Согласно дизайну исследования первоначальная задача заключалась в установлении сходств или различий в оказываемых эффектах на миокард дистантного ДИП и ЛИП прекондиционирования по функциональным, биохимическим и планиметрическим данным, полученным в ходе моделирования коронароокклюзионного инфаркта миокарда на наркотизированных лабораторных кроликах.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение дистантного прекондиционирования приводит к максимальному снижению процента некроза до показателя  $9,05 \pm 0,6\%$ , сопоставимый результат получен и в ходе использования локального прекондиционирования  $11,8 \pm 0,8$ , что достоверно меньше, чем в контрольной группе, в которой данный показатель составил  $27,3 \pm 1,2\%$  (рис. 1).

Однако реализация на практике локального прекондиционирования возможна только при проведении хирургических операций, в частности при ангиопластике, аортокоронарном шунтировании и других видах кардиоплегии.

Дистантное прекондиционирование в данном контексте выглядит, безусловно, более привлекательно, однако его применение ограничено, в частности из-за возможности развития хронического прекондиционирования миокарда повторными окклюзиями, при этом, если окклюзии повторяются слишком часто и слишком близки друг к другу по времени, может развиваться тахифилаксия с потерей защитного эффекта.

С целью предотвращения развития столь негативных последствий наиболее приемлемым выглядит использование фармакологических агентов прекондиционирования.

Группа, в которой за 30 минут до инфаркта внутривенно вводили никорандил в дозе 1,8 мг/кг, характеризовалась значением  $10,7 \pm 0,4\%$ , достоверное меньшим, чем в группе контроля  $27,3 \pm 1,2$ . Этот факт свидетельствует о том, что никорандил оказывает выраженное противоишемическое действие на модели коронароокклюзионного инфаркта миокарда.

Для доказательства пути реализации противоишемического действия никорандила животным вводили глибенкламид внутривенно в дозе 0,4 мг/кг за 30 минут до введения никорандила. Полученные результаты свидетельствовали о том, что при блокаде АТФ-зависимых калиевых каналов происходит нивелирование эффектов прекондиционирования (рис. 1).

В нашем исследовании биохимическим маркером служил показатель уровня Тропонина I в крови. Полученные данные свидетельствуют о том, что максимально низкий показатель уровня тропонина  $4,6 \pm 0,3$  нг/мл, а следовательно, максимальное противоишемическое действие достигается при использовании ДИП, однако никорандил также показывает результаты, отражающие достоверное снижение уровня Тропонина I до уровня  $5,2 \pm 0,6$  нг/мл и положительный защитный эффект для кардиомиоцитов. Однако при блокировании основных механизмов действия, за счет которых реализуются эффекты прекондиционирования, наблюдается практически полное нивелирование защитных механизмов и фармакологического и дистантного прекондиционирования (рис. 2). Кроме того, следует отметить, что показатель

уровня Тропонина I во всех группах коррелирует с размером зоны некроза, то есть при увеличении зоны некроза показатель уровня Тропонина I возрастает. Таким образом, полученные в ходе исследования данные подтверждают способность никорандила проявлять свойства агента фармакологического прекондиционирования, поскольку его противоишемические эффекты реализуются по механизму прекондиционирования, за счет активации АТФ-зависимых калиевых каналов.

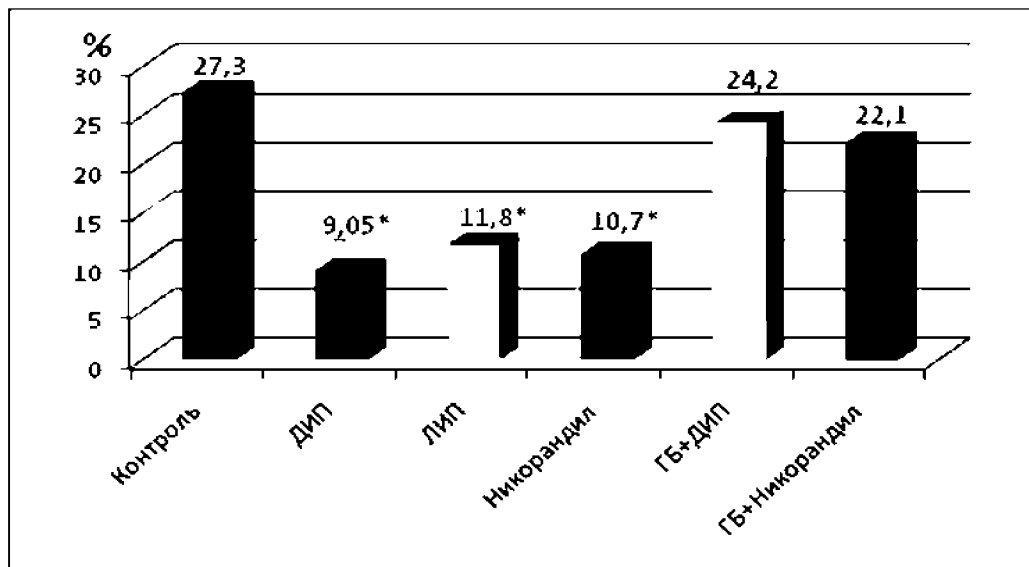


Рис. 1. Размер зоны инфаркта миокарда (%) в экспериментальных группах при изучении АТФ-зависимых калиевых каналов на эффекты никорандила локального и дистантного прекондиционирования при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда.

Примечание: \* –  $p < 0,05$  в сравнении с контролем; ДИП – дистантное ишемическое прекондиционирование, ЛИП – локальное ишемическое прекондиционирование, ГБ – глибенкламид.

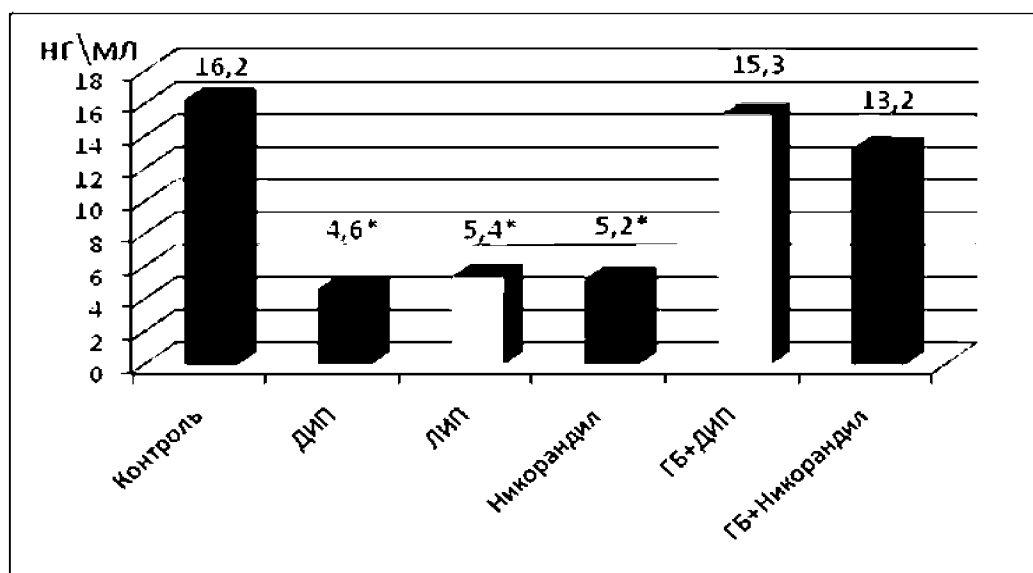


Рис. 2. Уровень Тропонина I (нг/мл) в экспериментальных группах при изучении АТФ-зависимых калиевых каналов на эффекты никорандила локального и дистантного прекондиционирования при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда.

Примечание: \* –  $p < 0,05$  в сравнении с контролем; ДИП – дистантное ишемическое прекондиционирование, ЛИП – локальное прекондиционирование, Н – никорандил, ГБ – глибенкламид.

Активаторы АТФ-зависимых калиевых каналов митохондрий (в частности никорандил) предотвращают гиперсокращение кардиомиоцитов во время реоксигенации, которое является основным фактором повреждения миокарда при реперфузионном синдроме [3]. Показано, что

применение активаторов АТФ-зависимых калиевых каналов во время реперфузии обеспечивает защиту миокарда от реперфузионного повреждения [9].

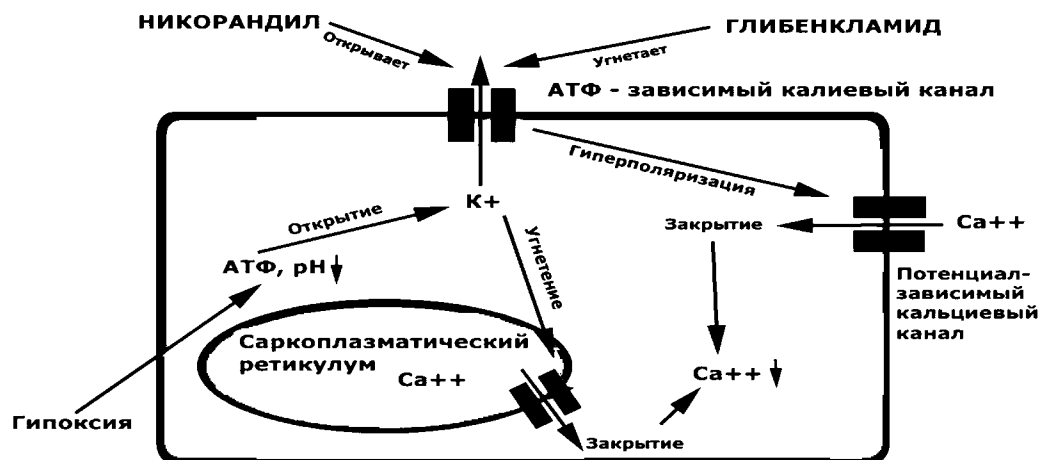


Рис. 3. Предполагаемый механизм работы АТФ-зависимых калиевых каналов в клетках гладких мышц стенки сосудов под влиянием никорандила.

Никорандил открывает АТФ-зависимые каналы гладкомышечных клеток сосудистой стенки, стимулируя выход ионов калия и гиперполяризацию клеточной мембраны, что приводит к снижению потока ионов кальция внутрь клетки, включая закрытие потенциалзависимых кальциевых каналов (рис. 3). Активаторы АТФ-зависимых калиевых каналов митохондрий (в частности никорандил) предотвращают гиперсокращение кардиомиоцитов во время реоксигенации, которое является основным фактором повреждения миокарда при реперфузионном синдроме [2]. Никорандил, открывая АТФ-зависимые калиевые каналы, моделирует, таким образом, феномен ишемического прекодиционирования. Он повышает адаптацию миокарда к прерывистой ишемии, предотвращает гибель миокардиоцитов в результате последующей коронарной окклюзии.

#### Выводы:

1. Фармакологическое прекодиционирование никорандилом и дистантное прекодиционирование достоверно, относительно контрольной группы животных, уменьшало площадь зоны некроза миокарда левого желудочка при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда.
2. Предварительная блокада АТФ-зависимых калиевых каналов глибенкламидом полностью нивелировала протективное действие дистантного прекодиционирования и никорандила при коронароокклюзивном инфаркте миокарда.

#### Литература

1. Покровский, М.В. Эндотелиопротективное действие дистантного ишемического прекодиционирования / М.В. Покровский, О.А. Старосельцева, С.А. Алехин и др. // Научные ведомости БелГУ. – 2012. – Вып. 17/2, № 22(117). – С. 238-242.
2. Полтораки, В.В. Блокада  $K_{ATP}$  каналов препаратами сульфонилмочевины и сердечно-сосудистая безопасность у больных сахарным диабетом 2-го типа / В.В. Полтораки, Н.И. Горбенко, М.Ю. Горбушинская // Украинский медицинский журнал. – 2002. – Т. 32, № 6. – С. 65-68.
3. Abdallah, Y. Preconditioning with diazoxide prevents reoxygenation-induced rigor-type hypercontracture / Y. Abdallah, C. Wolf, K. Meuter et al. // J. Mol. Cell Cardiol. – 2010. – Vol. 48 (1). – P. 270-276.
4. Hirose, M. Mechanisms of preventive effect of nicorandil on ischaemia-induced ventricular tachyarrhythmia in isolated arterially perfused canine left ventricular wedges / M. Hirose, M. Hirose, N. Tsujino, T. Nakada et al // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. – 2008. – Vol. 102, № 6. – P. 504-514.
5. Holzmann, S. Cyclic GMP as possible mediator of coronary arterial relaxation by nicorandil (SG-75) / S. Holzmann // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1983. – Vol. 5, № 3. – P. 364-370.
6. Holzmann, S. Pharmacological interaction experiments differentiate between glibenclamide-sensitive  $K^+$  channels and cyclic GMP as components of vasodilation by nicorandil / S. Holzmann, W.R. Kukovetz, C. Braida et al. // Eur. J. Pharmacol. – 2002. – Vol. 215, № 1. – P. 1-7.
7. Kukovetz, W.R. Dual mechanism of the relaxing effect of nicorandil by stimulation of cyclic GMP formation and by hyperpolarization / W.R. Kukovetz, S.C. Holzmann, C. Braida et al // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2001. – Vol. 17, № 4. – P. 627-633.



8. Kukovetz, W.R., Molecular mechanism of action of nicorandil / W.R. Kukovetz, S. Holzmann., G. Poch // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2004. – Vol. 20, Suppl. 3. – P. 1-7.

9. Ozcan, C. Effective pharmacotherapy against oxidative injury: alternative utility of an ATP-sensitive potassium channel opener / C. Ozcan, A. Terzic, M. Bienengraeber // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2007. – Vol. 50, № 4. – P. 411-418.

10. Taira, N. Nicorandil as a hybrid between nitrates and potassium channel activators / N. Taira // Cardiol. – 1989. – Vol. 63, № 21. – P. 18-24.

11. Ueda, H. Intravenous nicorandil can reduce the occurrence of ventricular fibrillation and QT dispersion in patients with successful coronary angioplasty in acute myocardial infarction / H. Ueda, Y. Nakayama, K. Tsumura et al. // Can. J. Cardiol. – 2004. – Vol. 20, № 6. – P. 625-629.

## **ANTIANGINAL EFFICIENCY OF NICORANDIL –MODULATOR OF POTASSIUM CHANNELS ON A MODEL OF CORONAROOCLUSION MYOCARDIAL INFARCTION IN RABBITS**

**L.M. DANILENKO**  
**M.V. POKROVSKIY**  
**O.O. NOVIKOV**  
**K.A. BELYAEV**  
**A.V. HAVANSKY**

*Belgorod National Research University*

*e-mail: Danilenko@judmila@mail.ru*

The results of the study of anti-nicorandil efficiency is a new perspective of the drug potassium channel modulators. These results have established a pronounced effect of antiischemic nicorandil at a dose of 1.8 mg / kg per koronarookklution model of myocardial infarction in rabbits. In the myocardial ischemia nicorandil has cardioprotective effects due playback effects of ischemic preconditioning, opening of ATP-dependent potassium channels, it increases adaptation to intermittent myocardial ischemia, prevents the death of the subsequent miokardiotsitov koronarookklution.

Keywords: nicorandil, an ATP-dependent potassium channels, preconditioning.