

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ $K_{\text{АТР}}$ -КАНАЛОВ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ СТАБИЛЬНОСТЬ МИОКАРДА ПРИ ПОСТИНФАРКТНОМ КАРДИОСКЛЕРОЗЕ

Н. В. Соленкова¹, Л. Н. Маслов², В. Ю. Серебров¹, А. Ю. Лишманов²,
С. А. Богомаз³, Г. Дж. Гросс⁴, Г. Дж. Гровер⁵

Обнаружено, что открытие АТФ-зависимых К-каналов ($K_{\text{АТР}}$ -каналов) после внутривенного введения BMS 180448 (3 мг/кг) снижает порог фибрилляции желудочков (ПФЖ) у крыс с постинфарктным кардиосклерозом (ПИК). Предварительная инъекция блокатора $K_{\text{АТР}}$ -каналов глибенкламида (0,3 мг/кг) полностью устраняет профибрилляторный эффект BMS 180448. Блокатор мито $K_{\text{АТР}}$ -каналов 5-гидроксидеканоат (5 мг/кг) не влияет на проявление проаритмогенной активности BMS 180448. Наоборот, совместное введение ингибитора сарко $K_{\text{АТР}}$ -каналов HMR 1098 (3 мг/кг) и BMS 180448 сопровождается увеличением ПФЖ до уровня интактных животных. Активатор митохондриальных $K_{\text{АТР}}$ -каналов диазоксид (5 мг/кг) после предварительного введения гуанетидина (50 мг/кг) приводит к повышению ПФЖ у крыс с ПИК. Авторы делают вывод о том, что открытие мито $K_{\text{АТР}}$ -каналов обеспечивает увеличение электрической стабильности сердца у крыс с ПИК.

Ключевые слова: миокард, $K_{\text{АТР}}$ -каналы, электрическая стабильность миокарда, постинфарктный кардиосклероз

ВВЕДЕНИЕ

Нарушения сердечного ритма в постинфарктном периоде представляют собой актуальную проблему современной кардиологии, поскольку электрическая нестабильность миокарда, возникающая при этом, может явиться причиной грозных осложнений вплоть до внезапной сердечной смерти [1]. Используемые антиаритмические препараты не всегда оказываются достаточно эффективными [2]. Более того, многие из них способны проявлять собственную аритмогенную активность и оказывать отрицательный инотропный эффект [2]. Это ограничивает их применение при аритмиях, развивающихся на фоне сопутствующей сердечной недостаточности [2]. В связи с этим представляется важным поиск лекарственных препаратов, способных подавлять аритмогенез, лишённых побочных эффектов.

Одним из возможных решений этой проблемы могло бы явиться использование средств, способных селективно активировать АТФ-чувствительные K^+ -каналы ($K_{\text{АТР}}$ -каналы). В дозировках, традиционно используемых в эксперименте, указанные средства способны оказывать

кардиопротекторное действие при острой ишемии/реперфузии, не оказывая при этом отрицательного инотропного влияния [6, 8]. Вместе с тем вопрос об использовании активаторов $K_{\text{АТР}}$ -каналов для коррекции электрической нестабильности сердца остается недостаточно изученным. Профилактическое использование медикаментозных средств при ишемии/реперфузии в реальной клинической ситуации проблематично, тогда как исследование указанных антиаритмиков на модели постинфарктного кардиосклероза максимально приближено к действительности.

Цель исследования — изучение влияния активаторов АТФ-зависимых K^+ -каналов на электрическую стабильность миокарда при постинфарктном кардиосклерозе.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на крысах линии Вистар массой 200 – 250 г. У животных моделировали инфаркт миокарда путем лигирования передней нисходящей коронарной артерии на 2 мм ниже ушка предсердия. Через 6 нед после коронароокклюзии у выживших животных с постинфарктным кардиосклерозом определяли порог фибрилляции желудочков (ПФЖ), для чего сердца крыс стимулировали прямоугольными импульсами электрического тока продолжительностью 2 мс, наносимыми в “уязвимую” фазу сердечного цикла. За величину ПФЖ принимали минимальное значение силы тока, при действии которого у крыс развивалась фибрилляция желудочков. Влияние модуляторов $K_{\text{АТР}}$ -каналов на электрическую стабильность миокарда оценивали по изменению значений ПФЖ относительно контрольной группы животных с постинфарктным кардиосклерозом.

Как известно, существует сарколеммальный и митохондриальный пул $K_{\text{АТР}}$ -каналов [4 – 10]. Исходя из этого, в работе были использованы фармакологические агенты, способные влиять на

¹ Кафедра биохимии (зав. — В. Ю. Серебров) Сибирского государственного медицинского университета, Томск.

² Лаборатория экспериментальной кардиологии (зав. — Л. Н. Маслов) НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН, Томск, 634050, ул. Киевская, 111.

³ Томский государственный университет, Томск.

⁴ Отдел фармакологии и токсикологии, Медицинский Колледж Висконсина, Милуоки, США.

⁵ Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute, Пристон, США.

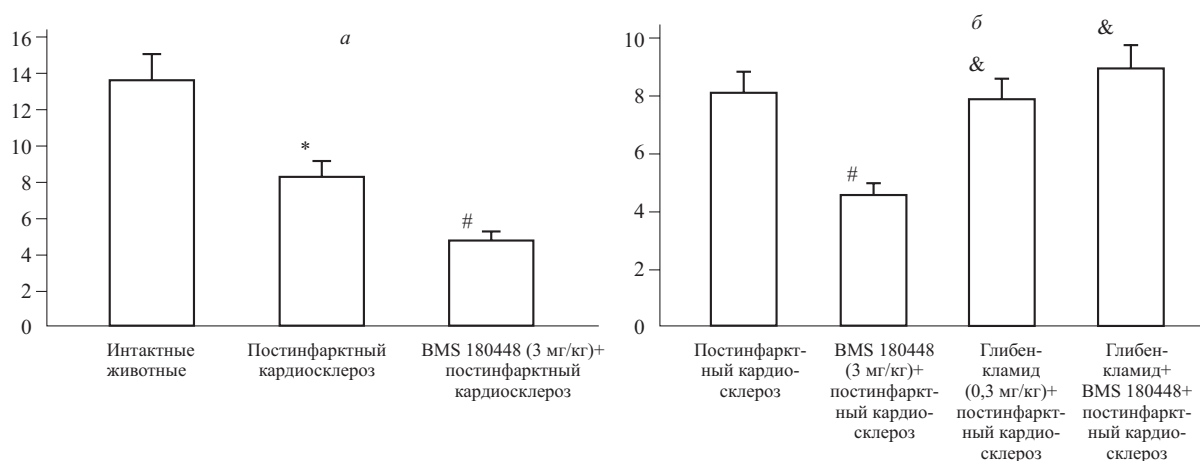


Рис. 1. Влияние внутривенного введения BMS 180448 (3 мг/кг) на ПФЖ (*a*) и глибенкламида (0,3 мг/кг) на BMS 180448-опосредованное снижение ПФЖ (*b*).

Здесь и на рис. 2 и 3 различия достоверны (при $p < 0,001$) по отношению: # — к ПИК- контролю; * — к интактным животным; & — к животным с введением BMS 180448.

оба пула K_{ATP} -каналов: кардиоселективный активатор обоих пулов K_{ATP} -каналов (3S-trans)-N-(4-chlorophenyl)-N'-cyano-N''-(6-cyano-3,4-dihydro-3-hydroxy-2,2-dimethyl-2H-1-benzopyran-4-yl) guanidine (BMS 180448) (3 мг/кг) [3]. Активатор митохондриальных K_{ATP} -каналов (мито K_{ATP} -каналов) диазоксид (5 мг/кг) [4], вводимые за 10 мин до определения ПФЖ; блокаторы K_{ATP} -каналов: глибенкламид (0,3 мг/кг) [13], селективный ингибитор сарколеммальных K_{ATP} -каналов (сарк K_{ATP} -каналов) 1-[5-(5-chloro-o-anisamido)ethyl]-2-methoxyphenyl sulfonyl]-3-methylthiourea (HMR 1098) (3 мг/кг) [5] и селективный ингибитор мито K_{ATP} -каналов 5-гидроксидеканоат (5 мг/кг) [11]. Ингибиторы K_{ATP} -каналов вводили по следующей схеме: глибенкламид — за 45 мин, HMR 1098 — за 25 мин, а 5-гидроксидеканоат — за 15 мин до определения порога фибрилляции. Активаторы K_{ATP} -каналов (BMS 180448 и диазоксид) вводили за 10 мин до определения ПФЖ. Препарат BMS 180448 был синтезирован компанией “Bristol-Myers Squibb” (США), HMR 1098 в компании “Aventis-Pharma” (Германия), 5-гидроксидеканоат, глибенкламид и 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin были приобретены в компании RBI (“Natick”, MA, США). Глибенкламид растворяли в 45 % водном растворе 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, а все остальные соединения растворяли в 0,9 % растворе NaCl. Химическую “симпатэктомию” осуществляли путем трехкратного введения гуанетидина в течение трех суток (50 мг/кг внутривенно). При выборе доз препаратов мы руководствовались литературными данными и результатами собственных экспериментов [3–5, 11, 13]. Контролем служили интактные животные и животные с постинфарктным кардиосклерозом (ПИК-контроль), которым перед определением ПФЖ вместо модуляторов K_{ATP} -каналов вводили 0,9 % раствор NaCl в эквивалентных объемах. Результаты обрабатывали с помощью *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показано на рис. 1, *a*, развитие постинфарктного кардиосклероза сопровождалось снижением ПФЖ до $8,02 \pm 0,37$ мА по сравнению с $13,68 \pm 1,22$ мА у интактных крыс. Для изучения влияния “открытия” K_{ATP} -каналов на исследуемый параметр нами было использовано предварительное введение активатора обоих пулов K_{ATP} -каналов BMS 180448. В результате этого отмечено уменьшение ПФЖ до $4,5 \pm 0,75$ мА (рис. 1, *a*). Глибенкламид полностью устранял аритмогенное действие

BMS 180448 (рис. 1, *b*). Результаты исследования, показанные на рис. 2, *a*, свидетельствуют, что предварительная блокада сарк K_{ATP} -каналов с помощью HMR 1098 полностью нивелировала проаритмогенное действие BMS 180448, что проявлялось увеличением ПФЖ до уровня интактных крыс. После совместного введения BMS 180448 и блокатора мито K_{ATP} -каналов 5-гидроксидеканоата отмечалось снижение ПФЖ, аналогичное таковому при введении одного BMS 180448 (рис. 2, *a*). Следует отметить, что сами блокаторы K_{ATP} -каналов никак не изменяли величину ПФЖ по сравнению с ПИК-контролем.

Далее мы провели серию экспериментов с предварительным введением селективного активатора мито K_{ATP} -каналов диазоксид (рис. 2, *b*). Как показано на рис. 2, *b*, предварительная активация мито K_{ATP} -каналов сопровождалась снижением величины ПФЖ в 1,6 раза по сравнению с ПИК-контролем. Профибрилляторный эффект диазоксид исчезал после инъекции глибенкламида. Результаты исследования, представленные на рис. 3, *a*, свидетельствуют, что при введении диазоксид на фоне истощенных запасов норадреналина гуанетидином у крыс регистрируется ПФЖ на уровне интактных животных. Сам гуанетидин не оказывал достоверно значимого эффекта на величину ПФЖ (рис. 3, *a*).

Проведенные нами исследования свидетельствуют, что K_{ATP} -каналы могут играть существенную роль в регуляции электрической стабильности миокарда при постинфарктном кардиосклерозе. Доказательством этого является изменение величины ПФЖ при модуляции активности сарколеммальных и митохондриальных K_{ATP} -каналов с помощью “открывателей” этих каналов BMS 180448 и диазоксид.

Дальнейшим этапом нашего исследования стало изучение специфичности проаритмогенного эффекта диазоксид и BMS 180448. Нас интересовало, связано ли обнаруженное нами действие препарата именно с активацией K_{ATP} -каналов или оно обусловлено иными механизмами. Для ответа на этот вопрос мы использовали пред-

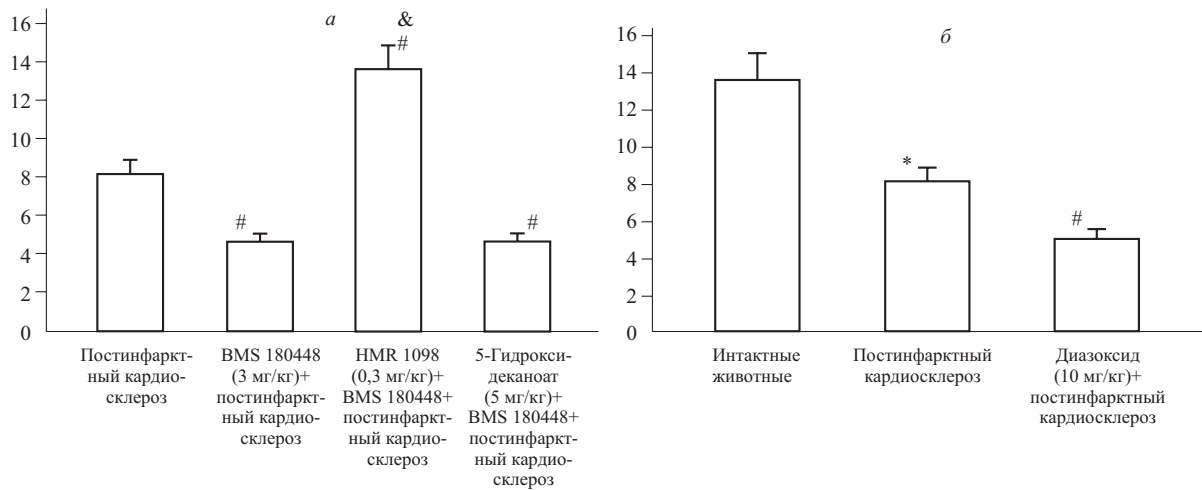


Рис. 2. Влияние предварительно внутривенного введения блокатора сарк K_{ATP} -каналов — HMR 1098 (0,3 мг/кг) — и антагониста мито K_{ATP} -каналов — 5-гидроксидеканоат (5 мг/кг) — на BMS 180448-опосредованное снижение ПФЖ (а) и внутривенного введения диазоксид (10 мг/кг) на ПФЖ (б).

Обозначения те же, что на рис. 1

варительное введение крысам блокатора K_{ATP} -каналов глибенкламида. Оказалось, что глибенкламид полностью устранял проаритмогенное действие BMS 180448. По данным литературы известно, что BMS 180448 способен активировать оба пула K_{ATP} -каналов [8]. В этой связи возник вопрос, с активацией какого из типов этих каналов связано проаритмогенное действие препарата. Для ответа на этот вопрос нами проведены эксперименты по изучению влияния BMS 180448 на ПФЖ в условиях фармакологического выключения либо сарк K_{ATP} -каналов с помощью HMR 1098, либо мито K_{ATP} -каналов — с помощью 5-гидроксидеканоата. Оказалось, что предварительная блокада сарк K_{ATP} -каналов полностью нивелировала проаритмогенное действие BMS 180448, что проявлялось увеличением ПФЖ до уровня интактных крыс. После совместного введения BMS 180448 и блокатора мито K_{ATP} -каналов 5-гидроксидеканоата отмечалось снижение порога

фибрилляции, аналогичное таковому при введении одного BMS 180448. Уменьшение ПФЖ, наблюдаемое под влиянием BMS 180448, связано с преимущественным действием препарата на сарк K_{ATP} -каналы, поскольку их предварительная блокада не только устраняет профибрилляторный эффект, но и способствует увеличению электрической стабильности сердца, что, по всей видимости, является следствием активации мито K_{ATP} -каналов.

Для того чтобы проверить это предположение, мы использовали “открыватель” мито K_{ATP} -каналов диазоксид, но вместо ожидаемого антифибрилляторного эффекта получили снижение ПФЖ. Как и в случае с BMS 180448 проаритмогенное действие диазоксид было связано с усилением калиевого тока, поскольку ингибитор K_{ATP} -каналов глибенкламид устранял этот эффект диазоксид. Полученное проаритмогенное действие было прогнозируемым, поскольку из литературы известна способность этого препарата снижать артериальное давление за счет вазодилатации [4], результатом чего может быть рефлекторная активация симпатoadренальной системы с последующим нарушением электрической стабильности сердца. Это, в свою очередь, предрасполагает к развитию более тяжелых нарушений ритма при действии аритмогенных факторов. В этой связи мы решили проверить, сохранится ли проаритмогенное действие диазоксид на фоне истощения запасов катехоламинов в симпатических терминалях, иннервирующих сердце. Оказалось, что при введении диазоксид на фоне истощенных запасов норадреналина гуанетидином у крыс регистрируется ПФЖ на уровне интактных животных.

Каков же механизм профибрилляторного и антиаритмического действия модуляторов K_{ATP} -каналов? В результате активации сарк K_{ATP} -каналов увеличивается K^+ -ток [7], что приводит к уменьшению продолжительности потенциала действия за счет ускорения реполяризации и, соответственно, к укорочению рефрактерного периода [7]. Подобное снижение длительности рефрактерного пе-

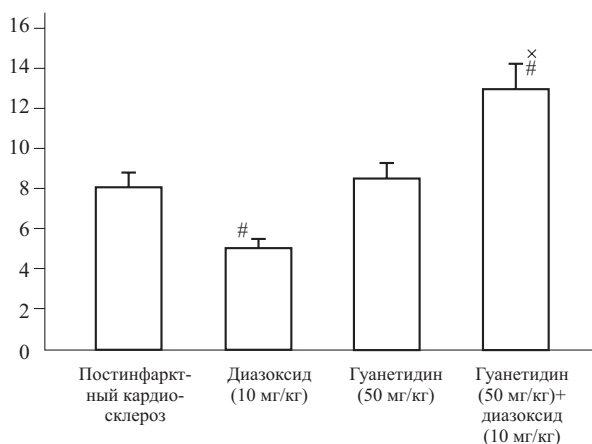


Рис. 3. Влияние внутривенного введения гуанетидина (50 мг/кг) на диазоксидопосредованное снижение ПФЖ.

x — $p < 0,001$, различия достоверны по отношению к группе животных с введением диазоксид. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

риода предрасполагает к появлению нарушений ритма по механизму *re-entry* [1, 2]. Как известно, именно этот механизм является ведущим в развитии аритмий при постинфарктном кардиосклерозе [1]. Следовательно, активация сарко K_{ATP} -каналов способствует увеличению электрической нестабильности сердца в условиях зарубцевавшегося инфаркта миокарда. Повышение ПФЖ, наблюдаемое при введении активатора K_{ATP} -каналов BMS 180488 на фоне блокады сарко K_{ATP} -каналов, является, видимо, результатом активации K^+ -тока в митохондриях. В пользу данного утверждения свидетельствуют результаты экспериментов, проведенных в условиях активации мито K_{ATP} -каналов с помощью диазоксидна на фоне истощенных запасов катехоламинов. В этом случае также происходит увеличение ПФЖ.

Из литературы известно, что в результате активации мито K_{ATP} -каналов отмечается увеличение K^+ -тока в этих органеллах с последующим снижением внутримитохондриальной концентрации кальция [9]. Предполагают, что подобное изменение транспорта Ca^{2+} способствует повышению резистентности митохондрий к патогенному действию аноксии и реоксигенации [7, 8]. В пользу подобной гипотезы говорят данные о том, что после стимуляции K_{ATP} -каналов в условиях ишемии и реоксигенации сохраняется более высокий уровень внутриклеточной АТФ, чем в соответствующем контроле [8]. В условиях острой ишемии/реперфузии этот факт способствует нормальному функционированию Ca^{2+} -АТФ-азы саркоплазматического ретикулула [9], предупреждая, тем самым, Ca^{2+} -перегрузку кардиомиоцитов, что, как известно, обеспечивает увеличение электрической стабильности сердца [1, 2]. Однако остается невыясненным, каким образом активация мито K_{ATP} -каналов может способствовать увеличению ПФЖ в условиях перенесенного инфаркта миокарда.

ВЫВОДЫ

1. Активация K_{ATP} -каналов играет важную роль в регуляции электрической стабильности сердца при постинфарктном кардиосклерозе.

2. Антиаритмический эффект оказывает активация мито K_{ATP} -каналов, тогда как стимуляция сарко K_{ATP} -каналов в условиях постинфарктного кардиосклероза напротив способствует усилению электрической нестабильности сердца.

Работа выполнена при поддержке РФФИ и grant HL 08311 for Prof. G. J. Gross. Авторы выражают признательность др. К. J. Wirth и др. Н. Goegelein (Aventis-Pharma AG, Frankfurt am Main, Германия) и компанию Bristol-Myers Squibb (Princeton, США) за предоставленные для работы фармакологические препараты.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. С. Кушаковский, *Аритмии сердца*, Фолиант, Санкт-Петербург (1998), с. 640.
2. Н. А. Мазур, А. Абдалла, *Фармакотерапия аритмий*, Оверлей, Москва (1995), с. 224.
3. A. J. D'Alonzo, R. B. Darbenzio, J. C. Sewter, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, 294, 271 – 280 (1995).
4. K. D. Garlid, P. Paucek, V. Yarov-Yarovoy, et al., *Circ. Res.*, **81**, 1072 – 1082 (1997).
5. H. Goegelein, J. Hartung, B. A. Scholkens, and H. C. Engelert, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **286**(3), 1453 – 1464 (1998).
6. G. J. Gross, *Basic Res. Cardiol.*, **95**, 280 – 284 (2000).
7. G. J. Gross and R. M. Fryer, *Circ. Res.*, 84, 973 – 979 (1999).
8. G. J. Grover, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **75**(4), 309 – 315 (1997).
9. E. L. Holmuhamedov, L. Wang, and A. Terzic, *J. Physiol.*, **519**, 347 – 60 (1999).
10. I. Inoue, H. Nagase, K. Kishi, et al., *Nature*, **352**, 244 – 247 (1991).
11. Y. Liu, T. Sato, J. Seharaseyon, A. Szewczyk, et al., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **30**, 27 – 37 (1999).
12. A. Noma, *Nature*, 305, 147 – 148 (1983).
13. J. E. J. Schultz, A. K. Hsu, H. Nagase, and G. J. Gross, *Am. J. Physiol.*, **274**, H909 – H914 (1998).

Поступила 15.01.02

THE EFFECT OF K_{ATP} CHANNEL ACTIVATION ON THE ELECTRICAL STABILITY OF MYOCARDIUM IN RATS WITH POSTINFARCTION CARDIOSCLEROSIS

N. V. Solenkova¹, L. N. Maslov², V. Yu. Serebrov¹, A. Yu. Lishmanov², S. A. Bogomaz³, G. J. Gross⁴, and G. J. Grover⁵

¹ Department of Biochemistry, Siberian State Medical University, Moskovskii trakt 2, Tomsk, 634050 Russia;

² Laboratory of Experimental Cardiology, Institute of Cardiology, Tomsk Scientific Center, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Kievskaya 111, Tomsk, 634050 Russia;

³ Tomsk State University, Tomsk, 634050 Russia;

⁴ Pharmacology and Toxicology Department, Wisconsin Medical College, Milwaukee, USA

⁵ Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute, Princeton, USA

Opening of the ATP-dependent K-channels (K_{ATP} channels) upon intravenous administration of the cardioselective activator BMS 180448 (3 mg/kg) decreased the ventricular fibrillation threshold (VFT) in rats with postinfarction cardiosclerosis (PIC). Preliminary injection of the selective K_{ATP} channel blocker glibenclamide (0.3 mg/kg, i.v.) completely abolished the profibrillatory effect of BMS 180448. At the same time, the mitochondrial K_{ATP} channel blocker 5-hydroxydecanoic acid (5 mg/kg) did not influence the proarrhythmogen activity of BMS 180448. Simultaneous administration of the sarco K_{ATP} channel inhibitor HMR 1098 (3 mg/kg) and BMS 180448 increased the VFT up to a level in intact animals. Administration of the mito K_{ATP} channel activator diazoxide (5 mg/kg) after preliminary treatment with guanethidine (50 mg/kg) increased the VFT in rats with PIC. It is concluded that opening of the mito K_{ATP} channels increases the cardiac electrical stability in rats with PIC.