

Влияние дистантного прекондиционирования на выживаемость ишемизированных тканей

И.М.КОЛЕСНИК, М.В.ПОКРОВСКИЙ, В.А.ЛАЗАРЕНКО, О.С.ГУДЫРЕВ, В.В.ГУРЕЕВ, Л.М.ДАНИЛЕНКО, А.Е.КОРОЛЕВ, Р.А.НАРЫКОВ, И.С.ЖЕЛУДКОВ, Д.В.ЛОПАТИН, Е.О.ЕГОРОВА, С.А.АЛЕХИН

Remote preconditioning influence on ischemic tissues survival potential

I.M.KOLESNIK, M.V.POKROVSKY, V.A.LAZARENKO, O.S.GUDYREV, V.V.GUREEV, L.M.DANILENKO, A.E.KOROLEV, R.A.NARYKOV, I.S.ZHELUDKOV, D.V.LOPATIN, E.O.EGOROVA, S.A.ALEHIN

Курский государственный медицинский университет

Проведено исследование влияния дистантного прекондиционирования на выживаемость изолированного кожного лоскута на ножке, а так же определена роль K^+ АТФ-каналов в реализации положительного эффекта дистантного прекондиционирования. Применение дистантного прекондиционирования позволило добиться увеличения выживаемости кожного лоскута по сравнению с контрольной группой в 1,5 раза. Отмена положительного эффекта прекондиционирования при введении животным третьей опытной группы блокатора K^+ АТФ-каналов глибенкламида свидетельствует о том, что АТФ-зависимые K^+ -каналы являются значимым и необходимым звеном в реализации положительного эффекта прекондиционирования.

Ключевые слова: дистантное прекондиционирование, ишемия

The investigation of remote preconditioning influence on isolated skin pedicle flap was taken. Also the role of K^+ ATP-channels was detected in the realization of positive remote preconditioning effect. Application of remote preconditioning allowed to half again as raise the survival potential of skin flap in comparison with control group. Preconditioning positive effect cancellation in introducing of K^+ ATP-channels blocker glibenclamid to animals witness that ATP-dependent K^+ -channels are important and necessary part in the realization of preconditioning positive effect.

Key words: remote preconditioning, ischemia

Как известно, любое хирургическое вмешательство в той или иной степени связано с нарушением кровоснабжения и локальной ишемией. Фармакологическая коррекция либо не всегда эффективна, либо сопровождается существенными побочными эффектами [3, 5]. Поэтому проводятся исследования эндогенных механизмов, посредством которых организм защищает себя от вредных воздействий ишемии и восстанавливается после повреждений [5, 10, 11]. Обнаружено, что устойчивость тканей к ишемии может повышаться в результате прекондиционирования, вызванного короткими эпизодами ишемии – реперфузии [11]. Свидетельством естественного механизма реализации является система многоуровневого иерархического дублирования, включающая нейрогенный компонент, гуморальный и внутриклеточный, связанный с дыханием в митохондриях [9,12,13]. Последнее указывает на существование универсальной «фармакологической мишени» для запуска феномена прекондиционирования.

Интересным с точки зрения практического применения является феномен дистантного (remote) прекондиционирования, суть которого состоит в том, что кратковременные эпизоды ишемии одного органа (почки, брыжейки, нижней конечности) повышают устойчивость других органов к тяжелым ишемическим повреждениям [11].

Наибольшее развитие данная концепция получила в работах, посвященных изучению реакции сердца и головного мозга. Однако предполагаемый механизм реализации феномена прекондиционирования указывает на возможность его универсального использования в хирургии для защиты органов в условиях редуцированного кровообращения.

Материалы и методы

Опыты проводили на белых крысах линии Wistar массой 250 ± 50 г. Экспериментальные животные были разделены на следующие группы:

1) контрольную (n=10); 2) с применением дистантного прекондиционирования (n=10); 3) с применением дистантного прекондиционирования на фоне введения блокатора K^+ АТФ-каналов каналов глибенкламида (n=10).

Всем животным моделировали кожный лоскут на ножке. Под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг веса внутривенно), отступя 1 см от мечевидного отростка, выкраивали кожный лоскут; размерами 1,0×4,0, который помещали в полиэтиленовый пакет. Края кожи ушивали непрерывным швом. Во второй группе животных проводили дистантное прекондиционирование (ДП) 10 минутным пережатием бедренной артерии с последующей 30 минутной реперфузией. В третьей группе проводили дистантное прекондиционирование через 30 минут после внутривенного введения блокатора АТФ-зависимых K^+ -каналов (K^+ АТФ-каналов) глибенкламида (Glib) в дозе 5 мг/кг веса (растворитель диметилсульфоксид).

Оценку выживаемости кожного лоскута проводили на пятые сутки методом планиметрии, измеряя площадь здоровой ткани [1].

При статистической обработке данных рассчитывали среднее значение, величину стандартного отклонения. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Результаты оценки выживаемости изолированного кожного лоскута на ножке (КЛ) представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели влияния дистантного прекондиционирования (ДП) на выживаемость изолированного кожного лоскута на ножке на 5-е сутки после моделирования ($M \pm m$) /n=10/

Группа исследований	Показатели выживаемости в см ²	Показатели выживаемости в %
Контрольная	1,59±0,028	39,75%
ДП	2,36±0,095*	59%
ДП+Glib	1,62±0,025	40,5%

* – $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой

На пятые сутки после моделирования изолированного кожного лоскута на ножке у животных контрольной группы площадь выжившей ткани составила 1,59±0,028 см², что составляет 39,75% от изначальной площади моделируемого лоскута.

Во второй группе на фоне коррекции дистантным прекондиционированием абсолютный показатель выжившей ткани – 2,36±0,095 см², т. е. 59%, что достоверно выше показателя в контрольной группе.

В третьей группе исследовалась роль митохондриальных K^+ АТФ-каналов в реализации эффекта дистантного прекондиционирования. У животных этой группы выживаемость кожного лоскута составила 1,62±0,025 см² (40,5%). Результат достоверно не отличается от результата в контрольной группе, что позволяет констатировать отмену положительного эффекта дистантного прекондиционирования.

Заключение

В данной экспериментальной работе впервые было изучено влияние дистантного прекондиционирования на выживаемость ишемизированных тканей, а так же определена роль K^+ АТФ-каналов в реализации положительного эффекта дистантного прекондиционирования. Известно, что при моделировании изолированного кожного лоскута на ножке жизнеспособной остается его часть, по длине превосходящая ширину основания не более чем в два раза. Применение дистантного прекондиционирования позволило добиться увеличения выживаемости кожного лоскута по сравнению с контрольной группой в 1,5 раза. Механизмы повреждающего действия ишемии весьма разнообразны. Главенствующая роль здесь принадлежит дисфункции эндотелия [6, 7]. Механизмы протекторного действия прекондиционирования сопряжены с выработкой цитокинов (VEGF и эритропоэтин), активацией системы оксида азота, транскрипционных факторов, что в конечном итоге приводит к увеличению мощности систем транспорта и утилизации кислорода, систем антиоксидантной защиты, уменьшению дисфункции эндотелия. Подтверждением этому является доказанное эндотелиопротективное действие эритропоэтина [7] и донаторов оксида азота [2, 4, 6, 8]. Анализируя стадию реализации защитных эффектов прекондиционирования, многие исследователи обращают внимание на значительную роль АТФ-зависимых K^+ -каналов (K^+ АТФ-каналы) [12, 13]. Реализацию их защитного потенциала связывают с гиперполяризацией мембраны вследствие их открытия, активацией системы оксида азота, антиапоптотическими механизмами [13]. Каналы этого типа располагаются на плазматической мембране нервных клеток,

на внутренней мембране митохондрий, широко представлены в эндотелии и гладкомышечных клетках сосудов. Все их изоформы способны принимать участие в реализации защитного эффекта прекодиционирования. Однако в настоящее время большинство исследований направлено на изучение роли митохондриального пула K^+ АТФ-каналов [12, 13]. В настоящем исследовании мы постарались ответить на вопрос, какова роль митохондриальных K^+ АТФ-каналов в реализации

защитных эффектов прекодиционирования. Отмена положительного эффекта прекодиционирования при введении животным третьей группы блокатора K^+ АТФ-каналов глибенкламида свидетельствует о том, что АТФ-зависимые K^+ -каналы являются значимым и необходимым звеном в реализации положительного эффекта прекодиционирования.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Основы патологоанатомической практики. М.: РМАПО 1994; 512.
2. Артюшкова Е.Б., Пашков Д.В., Суковатых Б.С. Возможности фармакологической коррекции хронической ишемии конечности в эксперименте. Кубанский научный медицинский вестник 2007; 1-2: 19-22.
3. Артюшкова Е.Б., Пашков Д.В., Покровский М.В. Возможности фармакологической коррекции хронической ишемии конечности в эксперименте. Эксперим. и клинич. фармакология 2008; 71: 3: 23-25.
4. Артюшкова Е.Б., Пашков Д.В., Мясников А.Д. Возможности комбинированной фармакологической и хирургической коррекции хронической ишемии конечностей в эксперименте. Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова 2008; 1: 8-13.
5. Самойленкова Н.С., Гурченко И.Л., Гаврилова С.А. Защитное действие гипоксического прекодиционирования при фокальной ишемии мозга у крыс. Сборник трудов 4-ой Российской конференции с международным участием «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция». Москва, 2005; 99-100.
6. Пашков Д.В., Покровский М.В., Колесник И.М. Оценка неоангиогенного эффекта L-аргинина и его сочетания с плазмидами гена VEGF при экспериментальной ишемии конечности. Кубанский научный медицинский вестник 2009; 5: 102-106.
7. Корокина Л.В., Колесник И.М., Покровский М.В. Фармакологическая коррекция L-NAME индуцированного дефицита оксида азота рекомбинантным эритропозитном. Кубанский научный медицинский вестник 2009; 9: 66-69.
8. Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И., Артюшкова Е.Б. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита оксида азота. Экспериментальная и клиническая фармакология 2008; 71: 2: 29-31.
9. Gidday J.M. Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance. Nat Rev Neurosci. 2006; 7: 437-48.
10. Samoilenkova N., Gurchenko I., Gavrilova S., Lovat M., Ionova V., Koshelev V. Protective effect of hypoxic and ischemic preconditioning in rat brain with focal ischemia. FENS Forum 2006. Vienna, Austria, 2006; 3: A237.33.
11. Stenzel-Poore M.P., Stevens S.L., King J.S., Simon R.P. Preconditioning reprograms the response to ischemic injury and primes the emergence of unique endogenous neuroprotective phenotypes: a speculative synthesis. Stroke. 2007; 38: 680-85.
12. Dave K.R., De Fazio R.A., Raval A.P. Ischemic preconditioning targets the respiration of synaptic mitochondria via protein kinase C epsilon. J Neurosci. 2008; 28: 4172-82.
13. Miyawaki T., Mashiko T., Ofengeim D. Ischemic preconditioning blocks BAD translocation, Bcl-xL cleavage, and large channel activity in mitochondria of posts ischemic hippocampal neurons. Proc Natl Acad Sci USA. 2008; 105: 4892-97.

Поступила 26.05.2010 г.

Информация об авторах

1. Колесник Инга Михайловна – заочный аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета, e-mail: kolesnik_inga@mail.ru
2. Покровский Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии Курского государственного медицинского университета, академик РАЕН; e-mail: mvpokrovskiy@pharmstd.ru
3. Лазаренко Виктор Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней ФПО, ректор Курского государственного медицинского университета, член-корреспондент РАЕН, академик МАНЭБ, АМТ, заслуженный врач Российской Федерации; e-mail: main@kgmu.kursknet.ru
4. Гудырев Олег Сергеевич – к.м.н., докторант кафедры клинической фармакологии Курского государственного медицинского университета; e-mail: gudyrev@mail.ru

5. Гуреев Владимир Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник НИИ Экологической медицины Курского государственного медицинского университета; e-mail: main@kgmu.kursknet.ru
6. Даниленко Людмила Михайловна – кандидат фармакологических наук, соискатель кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета; e-mail: main@kgmu.kursknet.ru
7. Королев Антон Евгеньевич – заочный аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета; e-mail: main@kgmu.kursknet.ru
8. Нарыков Роман Александрович – заочный аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета; e-mail: main@kgmu.kursknet.ru
9. Желудков Иван Сергеевич – заочный аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета; e-mail: main@kgmu.kursknet.ru
10. Лопатин Дмитрий Владимирович – заочный аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета; e-mail: main@kgmu.kursknet.ru
11. Егорова Екатерина Олеговна – заочный аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета; e-mail: main@kgmu.kursknet.ru
12. Алехин Сергей Александрович – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры хирургических болезней №2 Курского государственного медицинского университета; e-mail: main@kgmu.kursknet.ru