

© Коллектив авторов, 2013

УДК: 615.244:616-005.4

**РОЛЬ АТФ-ЗАВИСИМЫХ K^+ КАНАЛОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ЭФФЕКТОВ
ВЛИЯНИЯ ЭРИТРОПОЭТИНА НА СКОРОСТЬ ОБЪЕМНОГО КРОВОТОКА
ПРИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ**

*М.В. Покровский¹, С.А. Алехин², Л.В. Иванова², Д.П. Назаренко²,
Д.И. Колмыков²*

Медицинский институт НИУ «БелГУ», г. Белгород (1)
Курский государственный медицинский университет, г. Курск (2)

В статье показано влияние эритропоэтина на скорость объемного кровотока в различных органах брюшной полости на ранних стадиях ишемии/реперфузии. В ходе работы установлено, что глибенкламид, как блокатор митохондриальных АТФзависимых K^+ каналов, отменяет защитные эффекты эритропоэтина, увеличивая транзиторную гиперемию. При этом поджелудочная железа имеет реакцию, отличную от других органов брюшной полости, как на ишемию/реперфузию, так и на введение фармакологических агентов.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, кровоток, эритропоэтин.

Центральное место в повреждении органов брюшной полости при многих заболеваниях занимает ишемия, приобретающая особое значение в связи с распространением высокотехнологичной хирургии - трансплантации органов, вмешательств с применением аппаратов искусственного кровообращения. Однако в случае с поджелудочной железой, ишемия приводит к развитию самостоятельной нозологической формы [7-9].

Среди фармакологических агентов, уменьшающих ишемическое повреждение одними из наиболее эффективных являются препараты, реализующие свои эффекты по механизмам ишемического preconditionирования, конечной точкой приложения действия которого являются митохондриальные АТФ-зависимые K^+ каналы, в связи с чем изучение роли данных АТФаз в реализации того или иного защитного эффекта является ключевым правилом, относящим агент к пре-кондиционирующим или исключаяющим его из таковых.

Нами ранее было показано положительное влияние эритропоэтина на раз-

витие микроциркуляторных расстройств при ишемии печени, однако реакция поджелудочной железы, отличная от таковой в других органах, предполагает различие в действии эритропоэтина на ткань поджелудочной железы в условиях ее ишемии и реперфузии. В связи с чем целью нашего исследования явилось изучение роли АТФ-зависимых калиевых каналов в реализации эффектов влияния эритропоэтина на скорость объемного кровотока в органах брюшной полости при ишемии/реперфузии.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 180 белых крысах (самцы и самки) массой 280-300 г. Все вмешательства выполнены под общим обезболиванием (золетил 100 в дозе 60 мг/кг и хлоралгидрат в дозе 125 мг/кг внутривенно). Транзиторная ишемия поджелудочной железы, печени и тонкого кишечника воспроизводилась путем перекрытия просвета соответствующих питающих артерий на 30 минут с последующим возобновлением кровотока [3-4]. Человеческий рекомбинантный

эритропоэтин («Эпокрин» производства ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА ФГУП (Россия)) вводили в дозе 50 МЕ/кг за 30 минут до моделирования ишемии соответствующего органа [5-6]. Блокатор АТФ-зависимых K^+ каналов глибенкламид производства Sigma вводили в дозе 5 мг/кг внутривенно за 30 минут до эпизода ишемии или введения эритропоэтина в противоположную от введения агента область брюшной полости. Скорость объемной перфузии измеряли при помощи программно-аппаратного комплекса Biopac systems MP150 с датчиком TSD144 и выражали в перфузионных единицах (ПЕ) [2].

Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики, количественные величины характеризовали средней арифметической (M) и ошибкой средней (m), статистическую значимость количественных величин оценивали по критерию Стьюдента (t). Все расчеты выполнены с помощью пакета статистических программ Microsoft Excel 2007.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что характер реакции микроциркуляторного русла печени на перенесенный эпизод 30-минутной ишемии характеризуется наличием транзиторной гиперемии с пиком на 15-й минуте, превосходящей показатели интактной группы в 2,3 раза. При этом введение человеческого рекомбинантного эритропоэтина в дозе 50 МЕ/кг за 30 минут до ишемии приводит к уменьшению выраженности транзиторной гиперемии в 1,37 раза (рис. 1), а применение глибенкламида в дозе 5 мг/кг за 30 минут до введения фармакологического агента приводит к отмене его положительного действия на скорость объемного кровотока в печени (рис. 2).

Характер микроциркуляторных изменений в стенке тонкого кишечника при ишемии и реперфузии аналогичен таковому в печени. Так пик транзиторной гиперемии приходится на 15-ю минуту восстановления кровотока и превосходит показатели интактной группы в 3,7 раза. Как и в печени, введение человеческого

рекомбинантного эритропоэтина в дозе 50 МЕ/кг приводит к уменьшению величины транзиторной гиперемии в 1,28 раза (рис. 1). Введение блокатора АТФ-зависимых K^+ каналов глибенкламида в дозе 5 мг/кг в качестве фармакологического анализатора за 30 минут до введения эритропоэтина приводит к отмене защитного эффекта эритропоэтина, что однозначно свидетельствует о реализации защитного действия человеческого рекомбинантного эритропоэтина через митохондриальные АТФазы (рис. 2).

В ходе исследования нами была установлена реакция скорости объемного кровотока в поджелудочной железе в ответ на 30-минутную ишемию, отличная от таковой в печени и тонком кишечнике.

Основным отличием является отсутствие транзиторной гиперемии, при этом кривая восстановления скорости кровотока по своему характеру ближе к линейной, а восстановление протекает только до уровня 79,7% от показателей интактной группы с последующим снижением (рис. 1).

Таким образом, эпизод 30-минутной ишемии приводит к выраженным изменениям в гемодинамике микроциркуляторного русла печени и тонкого кишечника, стимулируя массивный выброс вазоактивных веществ, что впоследствии определяет характер повреждения органа в ходе так называемых реперфузионных расстройств. Однако наиболее чувствительным органом в отношении 30-минутной ишемии оказывается поджелудочная железа, что проявляется отсутствием эпизода транзиторной гиперемии с резким снижением скорости кровотока к концу эпизода реперфузии и свидетельствует о реализации ответа ткани по NF κ B-опосредованному пути [1].

Введение человеческого рекомбинантного эритропоэтина в дозе 50 МЕ/кг приводит к «восстановлению» реакции ткани на ишемию/реперфузии, что проявляется улучшением кровоснабжения ткани в сравнении с группой ишемии/реперфузии, при этом если экстраполировать данные, полученные в ходе

исследования перфузии печени и тонкого кишечника на поджелудочную железу, то “предполагаемый” уровень транзиторной гиперемии в группе ишемии/реперфузии должен находиться в пределах 1000-1200 ПЕ, а динамика изменения показателей скорости объемного кровотока в поджелудочной железе на фоне введения эритропэтина будет сопоставима с динамикой данных показателей при исследовании кровотока в печени и тонком кишечнике. При этом реальная динамика скорости кровотока с увеличением перфу-

зии, по сравнению с группой ишемии/реперфузии, свидетельствует о наличии механизмов реализации защитных эффектов эритропэтина, отличных от таковых печени и тонкого кишечника, несмотря на то что основной точкой приложения действия являются, как в печени и тонком кишечнике, митохондриальные K^+ зависимые АТФазы, что подтверждается отменой эффектов эритропэтина введением глибенкламида за 30 минут до введения фармакологического агента (рис. 2).

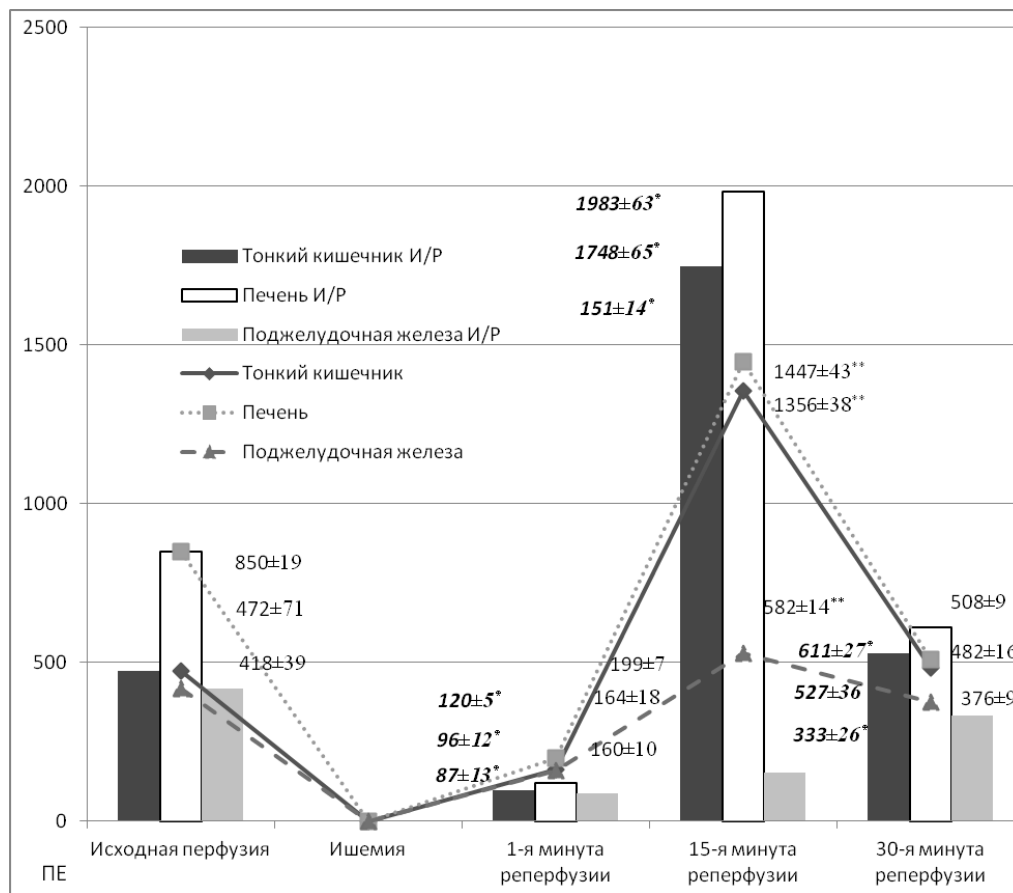


Рис. 1. Влияние эритропэтина в дозе 50 МЕ на скорость объемной перфузии в печени, тонком кишечнике, поджелудочной железе после перенесенного эпизода 30-минутной ишемии в сравнении с группами ишемии/реперфузии ($M \pm m$, $n=10$). И/Р – группа ишемии реперфузии; * - $p \leq 0,05$ в сравнении с показателями интактной группы; ** - $p \leq 0,05$ в сравнении с показателями группы ишемии/реперфузии; подписи данных справа от показателей для групп с применением эритропэтина, слева жирным курсивом для групп ишемии реперфузии, сверху вниз - для печени, тонкого кишечника, поджелудочной железы

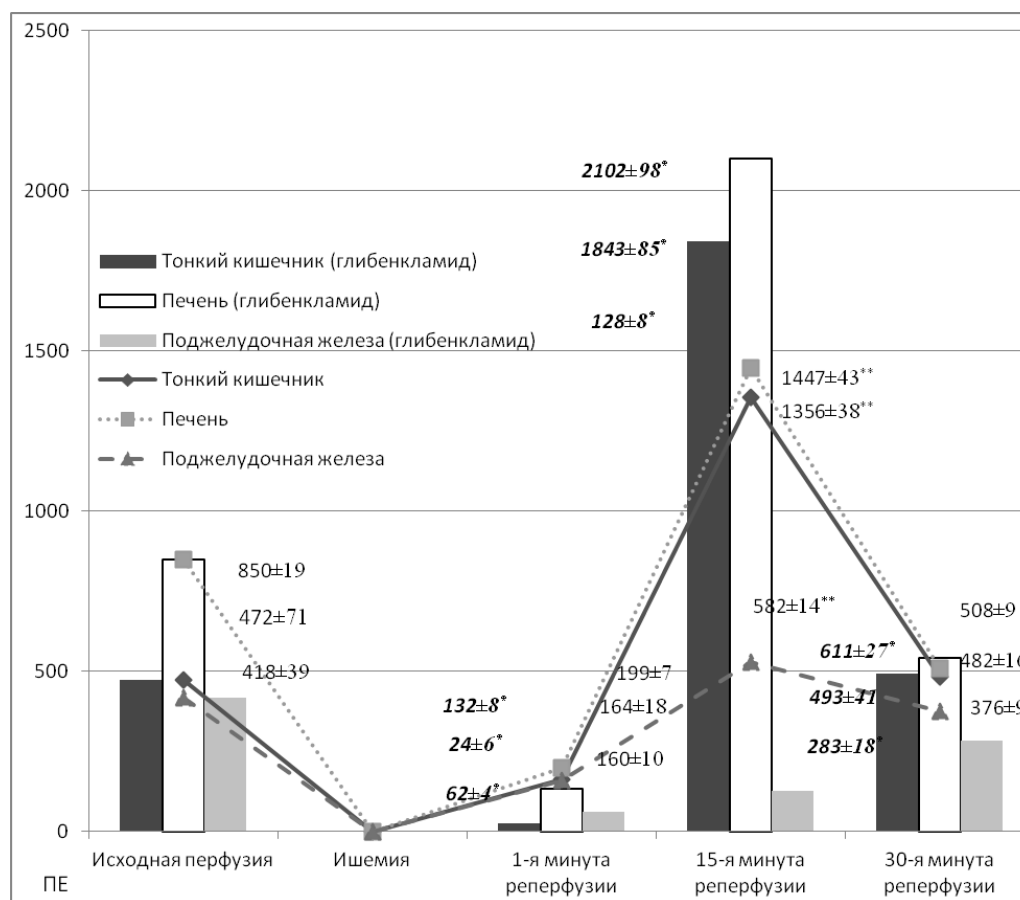


Рис. 2. Влияние эритропоэтина в дозе 50 МЕ на скорость объемной перфузии в печени, тонком кишечнике, поджелудочной железе после перенесенного эпизода 30-и минутной ишемии в сравнении с группами на фоне введения глибенкламида в дозе 5 мг/кг ($M \pm m$, $n=10$). (глибенкламид) – группа с введением глибенкламида в дозе 5 мг/кг; * - $p \leq 0,05$ в сравнении с показателями интактной группы; ** - $p \leq 0,05$ в сравнении с показателями группы ишемии/реперфузии; подписи данных справа от показателей для групп с применением эритропоэтина, слева жирным курсивом для групп ишемии/реперфузии, сверху вниз – для печени, тонкого кишечника, поджелудочной железы

Заключение

В ходе исследования было установлено, что 30-минутная ишемия печени и тонкого кишечника приводит к выраженной транзиторной гиперемии, а введение человеческого рекомбинантного эритропоэтина в дозе 50 МЕ/кг предупреждает ее развитие, при этом, применение блокатора митохондриальных K^+ АТФаз глибенкламида в дозе 5 мг/кг отменяет защитные эффекты эритропоэтина. Также

была установлена реакция скорости объемного кровотока в микроциркуляторном русле поджелудочной железы в ответ на эпизод 30-минутной ишемии, отличная от реакции в печени и тонком кишечнике, что проявлялось отсутствием периода транзиторной ишемии. Полученные данные свидетельствуют о выраженном защитном действии человеческого рекомбинантного эритропоэтина при ишемии и реперфузии в печени, тонком кишечнике

и поджелудочной железе, причем различная реакция скорости объемного кровотока в ответ на введение эритропоэтина в поджелудочной железе подразумевает различные пути реализации его защитных эффектов, несмотря на идентичные точки приложения действия в виде митохондриальных K^+ зависимых АТФаз.

Литература

1. Геномные и экстрагеномные механизмы в реализации ишемических и реперфузионных повреждений в хирургии органов брюшной полости / С.А. Алехин [и др.] // Научные ведомости БелГУ. – 2012. – Т. 22(141), № 20/3. – С. 5-12.
2. Исследование микроциркуляции методом лазердоплерографической флоуметрии в поджелудочной железе при остром экспериментальном панкреатите / Р.А. Емельянов [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2007. – № 1-2. – С. 50-51.
3. Прекондиционирование при ишемических и реперфузионных поражениях печени / Н.И. Жернакова [и др.] // Научные ведомости БелГУ. – 2012. – Т. 4(123), №17/1. – С. 157-162.
4. Влияние дистантного и прямого прекондиционирования на динамику показателей стабильных метаболитов оксида азота при ишемии тонкого кишечника / Н.И. Жернакова [и др.] // Научные ведомости БелГУ. – 2012. – Т. 4(123), № 17/1. – С. 163-167.
5. Дистантное и фармакологическое прекондиционирование - новые возможности стимуляции неоваскулогенеза / И.М. Колесник [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2010. – Т. 6, № 120. – С. 56-58.
6. Фармакологическое прекондиционирование эритропоэтином при ишемии конечности / И.М. Колесник [и др.] // Биомедицина. – 2011. – Т. 4, №. – С. 90-92.
7. Anderson M.C. Significance of vascular injury as a factor in the pathogenesis of pancreatitis / M.C. Anderson, J.J. Bergan // Ann Surg. – 1961. – Vol. 154. – P. 58-67.
8. Acute pancreatitis after cardiopulmonary bypass / G.S. Haas [et al.] // Am J Surg. – 1985. – Vol. 149, № 4. – P. 508-515.
9. Ischemia reperfusion of the pancreas: a new in vivo model for acute pancreatitis in rats / T.F. Hoffmann [et al.] // Res Exp Med (Berl). – 1995. – Vol. 195, № 3. – P. 125-144.

ROLE OF ATP-DEPENDENT K^+ CHANNELS IN ERYTHROPOIETIN EFFECTS ON ABDOMINAL ORGANS VOLUMETRIC BLOOD FLOW VELOCITY AT ISCHEMIA/REPERFUSION

M.V. Pokrovsky, S.A. Alehin, L.V. Ivanova, D.P. Nazarenko, D.I. Kolmikov

In this article erythropoietin influence on volumetric blood flow velocity in different abdominal organs at early ischemia/reperfusion stages were shown. We determine that glibenclamid as mitochondrial ATPdependent K^+ channels blocker abolish erythropoietin protective effects, increasing transient hyperemia, at the same time pancreas has reaction different from other abdominal organs to ischemia/reperfusion and pharmacological agents intake.

Keywords: *ischemia, reperfusion, blood flow, erythropoietin.*

Покровский М.В. – д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой фармакологии и фармацевтических дисциплин факультета постдипломного медицинского образования медицинского института ГБОУ ВПО НИУ «БелГУ» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Белгород.

E-mail: mprokrovsky@yandex.ru.

Алехин С.А. – канд. мед. наук, докторант кафедры хирургических болезней №2 ГБОУ ВПО КГМУ Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск.

Иванова Л.В. – аспирант кафедры хирургических болезней №2 ГБОУ ВПО КГМУ Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск.

Назаренко Д.П. – д-р мед. наук, проф. кафедры хирургических болезней №2 ГБОУ ВПО КГМУ Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск.

Колмыков Д.И. – аспирант кафедры хирургических болезней №2 ГБОУ ВПО КГМУ Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск.