

*О.Л.Кухарчук, Р.Г.Сухотник***ВПЛИВ ЛОЗАРТАНУ НА ТКАНИННИЙ ФІБРИНОЛІЗ ПРИ ІШЕМІЇ-РЕПЕРFUЗІЇ ІЗОЛЬОВАНОГО СЕРЦЯ**Кафедра нормальної фізіології (зав.– д.м.н. О.Л.Кухарчук)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Вивчено вплив лозартану на стан тканинного фібринолізу, проведені експерименти на ізольованих перфузованих серцях 25 самців білих щурів з середньою масою тіла $0,17 \pm 0,11$ кг. Встановлено, що при ішемії-реперфузії ізольованого серця в міокарді зростає активність ренину, ангіотензин-конвертуючого ферменту і збільшується вміст ангіотензину II, що супроводжується значним пригніченням тканинного ферментативного фібринолізу серця. Введення лозартану до періоду stop-flow попереджує порушення ензиматичного лізису фібрину в ішемізованому і реперфузованому міокарді.

Ключові слова: серце, ішемія, ангіотензин, фібриноліз, лікування.

Вступ. Одним з важливих аспектів проблеми ішемічної хвороби серця є питання кардіопротекції, вирішення якого неможливе без чіткої уяви про патогенетичні механізми ішемічного некрозу серцевого м'яза. На сучасному етапі розвитку кардіології патогенез коронарної недостатності розглядається як сукупність двох патогенних синдромів - ішемічного і реперфузійного, які викликають каскадні метаболічні порушення з пошкодженням міокарда [9].

Досягнуто певних успіхів у вивченні механізмів розвитку ішемічно-реперфузійних синдромів no-reflow, re-entry, myocardial stunning, hibernating myocardium [5]. Проте цілий ряд питань потребує подальшого, в першу чергу, експериментального вирішення. Так, не з'ясовано залежність кінцевого результату дії інгібіторів ангіотензинконвертази від профілю їх фармакологічної активності, специфіки penetрації в різні тканини, відносної потужності і тривалості ефекту. Майже не вивчено питання про вплив інгібіторів кінінази II і блокаторів AT_{1A} -рецепторів на систему регуляції агрегатного стану крові; немає чіткої уяви про патогенетичну значимість ренину та ангіотензину II в розвитку гострого інфаркту міокарда. Потрібні додаткові дослідження щодо реальної оцінки участі циркуляторної і локальної серцевої ренин-ангіотензинових систем у механізмах некрозу серцевого м'яза, стенокардії, серцевих аритмій для розробки критеріїв оцінки антиангінального, антиаритмічного і кардіопротекторного ефектів інгібіторів ангіотензин-конвертуючого ферменту і блокаторів рецепторів ангіотензину II [7].

Мета дослідження: вивчити вплив лозартану на стан тканинного фібринолізу при ішемії-реперфузії ізольованого серця.

Матеріали і методи дослідження. Проведені 4 серії експериментів *in vivo* та на ізольованому перфузованому серці. У роботі використано 25 самців білих щурів з середньою масою тіла $0,17 \pm 0,11$ кг. Для визначення впливу лозартану на тканинний фібриноліз міокарда в ізоляції від нейрогуморальних системних впливів проведені дослідження на ізольованих перфузованих за

Лангердорфом серцях щурів [11] з використанням перистальтичного насосу P-1 фірми BioMark Inc. (Україна) при тридцятихвилинному періоді stop-flow, що при температурі 37° С призводить до розвитку первинного феномену по-reflow [12]. Блокатор АТ_{1А}-рецепторів ангіотензину II лозартан вводили в дозі 10 мкг/хв/кг маси тіла.

У всіх серіях досліджень тварин декапітували під нембуталовим наркозом (40 мг на кг маси тіла, внутрішньоочеревинно), серце тричі відмивали від крові в розчині Кребса-Хенслейта і підключали до перфузійної системи з шунтуванням малого кола кровообігу. Оксигенацію перфузійного розчину здійснювали міхурцевим методом. Після ішемії-реперфузії серця міокард лівого шлуночка гомогенізували в скляному гомогенізаторі в охолодженому до 2-3° С боратному буфері (рН 9.0).

Для визначення ренінової активності тканини серця гомогенати міокарда інкубували при 37°С протягом 1 години в tampon generation buffer (Cis International, Франція) в присутності інгібітора ангіотензназ фенілметилсульфонілфлюориду та інгібітора ангіотензин-конвертуючого фермента еналаприлу, використовуючи як ренін-субстрат пул плазми бінефректомованих щурів, які були декапітовані через добу після операції [2]. Екстракцію ангіотензину II проводили етиловим спиртом на мікроколонках AmprepTM C₂ та C₈ (Amersham, Великобританія).

У роботі використані набори реактивів для радіоімунологічного визначення ангіотензину II (DRG International Inc., США), активності реніну фірми "Immunotech" (Чехія) та активності ангіотензин-конвертуючого ферменту (DGR International Inc., США). Визначення сумарного, ферментативного і неферментативного фібринолізу в тканинах серця проводилося спектрофотометрично [4] з використанням реактивів фірми "Simko Ltd" (Львів).

Статистична обробка отриманих даних проведена на РС IBM 586 за допомогою "Excel-7" і програми "Statgraphics" (США).

Результати та їх обговорення. Отримані дані наведені в таблиці. При перфузії ізольованого серця за схемою "перфузія - 15 хв, stop-flow - 30 хв, реперфузія - 15 хв" спостерігалось значне пригнічення ферментативного фібринолізу - його інтенсивність знижувалася в 2,36 рази, що призвело до зменшення сумарної фібринолітичної активності міокарда, оскільки неферментативний фібриноліз не змінювався. При застосуванні схеми експерименту "перфузія - 15 хв, stop-flow - 30 хв, реперфузія з лозартаном - 15 хв" змін тканинної фібринолітичної активності серця не відбувалося і ферментативний фібриноліз залишався в 1,96 рази нижчим за контрольний рівень.

За зміни схеми досліджу, коли введення лозартану проводилося до періоду stop-flow (перфузія з лозартаном - 15 хв, stop-flow - 30 хв, реперфузія - 15 хв) спостерігався найбільш суттєвий вплив на інтенсивність та структуру тканинного фібринолізу. Так, сумарна фібринолітична активність відносно контролю зростала на 51,87%, а в порівнянні з даними першої і другої серії експериментів - в 2,58 рази та 2,29 рази, відповідно. При цьому змін неферментативного фібринолізу не відбувалося, тобто лозартан збільшував виключно ензиматичний лізис фібрину.

Результати досліджень, що наведені на рисунку, свідчать про активацію внутрішньосерцевої ренін-ангіотензинової системи в 1 серії досліджень. Так, при перфузії серця за схемою "перфузія - 15 хв, stop-flow - 30 хв, реперфузія

Вплив лозартану на стан тканинного фібринолізу в міокарді при ішемії-реперфузії ізольованого серця ($x \pm Sx$)

| Серія експериментів | Сумарна фібринолітична активність $E_{440}/г/год$ | Неферментативна фібринолітична активність $E_{440}/г/год$ | Ферментативна фібринолітична активність $E_{440}/г/год$ |
|--|---|--|---|
| Контроль: перфузія ізольованого серця - 60 хв $n=7$ | $21,71 \pm 1,44$ | $6,97 \pm 0,86$ | $14,76 \pm 1,07$ |
| Перфузія - 15 хв, stop flow - 30 хв, реперфузія - 15 хв $n=6$ 1 серія | $12,80 \pm 1,20$ $p < 0,001$ | $6,53 \pm 0,64$ | $6,26 \pm 0,61$ $p < 0,001$ |
| Перфузія - 15 хв, stop flow - 30 хв, реперфузія з лозартаном - 15 хв $n=7$ 2 серія | $14,40 \pm 1,42$ $p < 0,01$ | $6,19 \pm 0,55$ | $7,54 \pm 0,99$ $p < 0,001$ |
| Перфузія з лозартаном - 15 хв, stop flow - 30 хв, реперфузія - 15 хв $n=5$ 3 серія | $32,97 \pm 1,35$ $p < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$ | $6,00 \pm 0,33$ | $26,97 \pm 1,12$ $p < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$ |

Примітка. p - ступінь вірогідності різниць показників відносно контролю
 p_{n-nx} - ступінь вірогідності різниць показників у відповідних серіях досліджень
 n - число спостережень

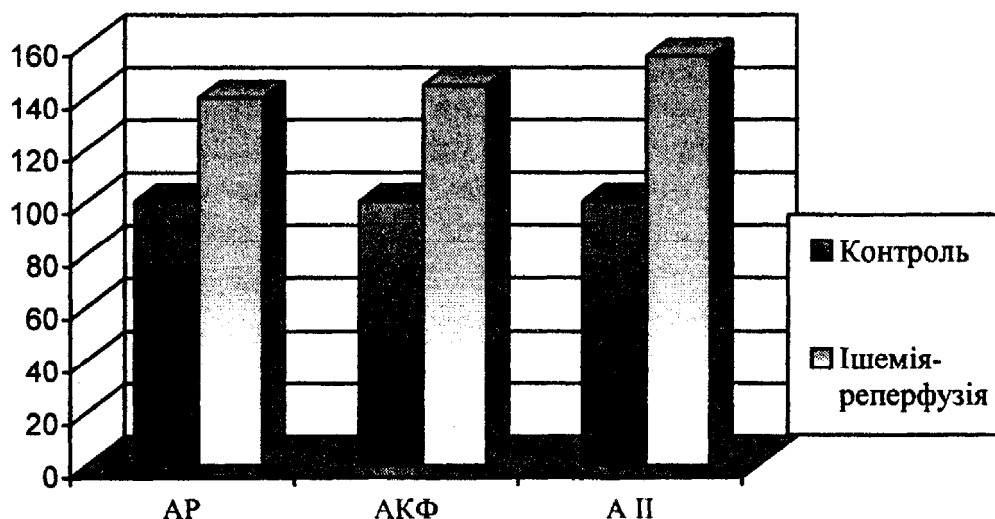


Рис. Характеристика змін активності внутрішньосерцевої ренін-ангіотензинової системи при ішемії-реперфузії ізольованого серця (в % від контролю)

AP - активність реніну;

АКФ - активність ангіотензин-конвертуючого ферменту;

А II - вміст в міокарді ангіотензину II

- 15 хв" активність реніну в міокарді зростала на 39,64% ($4,58 \pm 0,36$ в контролі та $6,40 \pm 0,41$ нг/г/год у досліді; $p < 0,01$; $n=13$), активність ангіотензин-конвертуючого ферменту - на 44,27% ($42,13 \pm 3,14$ та $60,78 \pm 4,57$ од., відповідно; $p < 0,01$; $n=13$), а вміст ангіотензину II в серцевому м'язі зростав на 55,39% ($30,88 \pm 2,85$ та $47,98 \pm 3,60$ пг/г, відповідно; $p < 0,01$; $n=13$).

Отримані дані узгоджуються з дослідженнями Busatto V.C. W. et al. [10], в яких встановлено, що активність ангіотензин-конвертуючого ферменту в серці у щурів з інфарктом міокарда (лігування передніх гілок лівої коронарної артерії) підвищується на 46% ще до появи гемодинамічних ознак серцевої недостатності.

Відомо, що ангіотензин II сприяє тромбоутворенню і виникненню гострих коронарних синдромів за рахунок пошкодження судинного ендотелію та активації тромбоцитів, стимулює продукцію цитокінів, які індукують міграцію поліморфноядерних лейкоцитів і макрофагів в стінку судин з наступним ліпопероксидзалежним пошкодженням ендотеліоцитів із звільненням потужного коронарного вазоконстриктора - ендотеліну та інгібітора тканинного активатора плазміногену [3,6].

Отже, активація внутрішньосерцевої ренін-ангіотензинової системи створює умови для поєднання коронарноконстрикції і коронаротромбозу за яких відбувається поширення зони некрозу серцевого м'яза.

Щодо встановленого нами зниження інтенсивності ферментативного фібринолізу, який залежить від трьох елементів - кількості плазміногену в міокарді, звільнення тканинного активатора плазміногену та інгібіторів активаторів плазміногену [1], то його пригнічення, на нашу думку, зумовлено локальною ангіотензин-індукованою вазоконстрикцією, внаслідок чого зменшується вміст в тканинах серця плазміногену, а також збільшується рівень інгібітора активатора плазміногену тканинного типу.

Отримані дані узгоджуються з клінічними спостереженнями В.М.Панченко і співавторів [8], які у хворих з повторними інфарктами міокарда відмічали зниження лізису еуглобінових згустків, зменшення вмісту в крові активаторів плазміногену, а також пригнічення ферментативного фібринолізу.

Попередня періоду stop-flow блокада AT_{1A} -рецепторів лозартаном збільшує інтенсивність ензиматичного лізису фібрину, що сприяє реканалізації мікроциркуляторного русла серця і свідчить про патогенетичну роль внутрішньосерцевої ренін-ангіотензинової системи в механізмах розвитку феномену no-reflow.

Висновки.

1. При ішемії-реперфузії ізольованого серця в міокарді підвищуються активності реніну та ангіотензин-конвертуючого ферменту, що призводить до збільшення внутрішньосерцевого вмісту ангіотензину II.

2. В реперфузійному періоді відбувається значне пригнічення тканинного ферментативного фібринолізу серця.

3. Введення лозартану до періоду stop-flow попереджує порушення ензиматичного лізису фібрину в ішемізованому і реперфузованому міокарді.

Література. 1. Братчик А.М. Клинические проблемы фибринолиза. - К.: Здоров'я, 1993. - 433 с. 2. Ваттер Н.К. Участь латерального ядра перогогородки мозку в механізмах регуляції водно-солевого обміну в нормі та при сулемовій нефропатії: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.00.16 / Львівський мед. ін-т. - Львів, 1995. - 21 с. 3. Каган-Пономарев М.Я., Добровольский А.Б., Староверов И.И. и др. Коагулологические факторы, связанные

с развитием повторного инфаркта миокарда // Кардиология. - 1994. - Т.34, № 2. - С.118-121. 4. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис... д-ра мед. наук: 14.03.05 / Одеський мед. ін-т. - Одеса, 1996. - 37 с. 5. Лутай М.И., Борсук Ю.Ю. Ішемічна хвороба серця та систолічна дисфункція лівого шлуночка. Частина I. Механізми виникнення систолічної дисфункції лівого шлуночка // Укр. кардіол. журн. - 1999. - № 1. - С.57-62. 6. Лутай М.И., Ломаковский А.Н., Евтушенко А.В., Моисеенко О.И. Применение ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента у пациентов с ишемической болезнью сердца // Укр. кардіол. журн. - 1996. - № 3. - С.9-12. 7. Новикова Л.С., Арабидзе Г.Г. Перспективные направления в изучении лечебного действия ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента при сердечно-сосудистых заболеваниях // Тер. архив. - 1990. - Т.62, № 1. - С.118-123. 8. Панченко Е.П., Лютова Л.В., Карасев А.В. и др. Впервые возникшая стенокардия: некоторые особенности свертывающей системы крови и фибринолиза, реакция на физическую нагрузку // Кардиология. - 1988. - Т.28, № 5. - С.64-69. 9. Шабалин А.В., Никитин Ю.П. Защита кардиомиоцита. Современное состояние и перспективы // Кардиология. - 1999. - Т.39, № 3. - С.4-10. 10. Bussato V.C.W., Cicilini M.A., Mill J.G. Increased angiotensin-converting enzyme activity in the left ventricle after infarction // Braz. J. Med. and Biol. Res. - 1997. - V.30, № 5. - P.679-687. 11. Grace A.A. Angiotensin II stimulated sodium-dependent proton extrusion in perfused heart // Clin. Sci. - 1993. - V.85, №1. - P.35. 12. Vaage J. Myocardial reperfusion injury: An inflammatory reaction? // Biomed. Biochim. Acta. - 1989. - V.48, № 2-3. - P.63-68.

THE INFLUENCE OF LOZARTAN ON THE TISSUE FIBRINOLYSIS IN CASE OF ISCHEMIA-REPERFUSION OF THE ISOLATED HEART

O.L.Kukcharchuk, R.G.Sohotnik

Abstract. For the purpose of studying the effect of losartan on the state of tissue fibrinolysis, experiments on isolated perfused hearts of 25 male albino rats with the average body mass $0,17 \pm 0,11$ kg have been carried out.

In case of ischemia-reperfusion of an isolated heart the activities of renin and angiotensin-converting enzyme have been found to be elevated, while the content of angiotensin II is on the increase in the myocardium that is accompanied by a considerable inhibition of tissue enzymatic fibrinolysis of the heart.

The injection of losartan prior to stop-flow period, prevents disturbances of enzymatic fibrin lysis in ischemic and reperfused myocardium.

Key words: heart, ischemia, angiotensin, fibrinolysis, treatment.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)