

**ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРОВ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ T- И L-ТИПА
НА МИКРОГЕМОДИНАМИКУ ЛЕГКИХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ У КРОЛИКОВ**

© 2023 г. В. И. Евлахов¹ *, И. З. Поясов¹, Т. П. Берзина¹

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: viespbbru@mail.ru

Поступила в редакцию 20.12.2022 г.

После доработки 16.03.2023 г.

Принята к публикации 12.04.2023 г.

В острых опытах при перфузии изолированных легких кроликов *Chinchilla* изучали изменения легочной микрогемодинамики в условиях эмболизации легочной артерии на фоне действия этосуксимида, мибефрадила, хлорохина и нифедипина. В ответ на применение блокаторов Ca^{2+} -каналов T-типа этосуксимида и мибефрадила давление в легочной артерии, прекапиллярное и легочное сосудистое сопротивление уменьшались примерно в равной степени, а посткапиллярное сопротивление не изменялось. В условиях применения хлорохина давление в легочной артерии, прекапиллярное и легочное сосудистое сопротивление снижались больше, чем в ответ на применение этосуксимида и мибефрадила и антагониста Ca^{2+} -каналов L-типа нифедипина; посткапиллярное сопротивление уменьшалось. В случае применения хлорохина на фоне инфузии блокатора K_{ATP} -каналов глибенкламида большинство показателей легочной микроциркуляции снижалось практически в такой же степени, как и в ответ на применение мибефрадила, а посткапиллярное сопротивление не изменялось. На фоне действия хлорохина в ответ на эмболизацию легочной артерии сопротивление сосудов легких, пре- и посткапиллярное сопротивление возрастали менее выражено, чем при тромбоемболии в условиях применения этосуксимида, мибефрадила и нифедипина. При моделировании тромбоемболии на фоне применения хлорохина в условиях блокады K_{ATP} -каналов глибенкламидом исследуемые гемодинамические показатели увеличивались в такой же степени, как и на фоне действия нифедипина. Таким образом, хлорохин проявляет свойства блокатора Ca^{2+} -каналов L- и T-типа, а также активатора K_{ATP} -каналов, тогда как этосуксимид оказывает блокирующее влияние преимущественно на Ca^{2+} -каналы T-типа гладкомышечных клеток легочных артериальных сосудов. Сдвиги коэффициента капиллярной фильтрации в указанных условиях в большей степени зависят от изменений прекапиллярного сопротивления, чем от проницаемости эндотелия сосудов легких.

Ключевые слова: тромбоемболия легочной артерии, коэффициент капиллярной фильтрации, этосуксимид, мибефрадил, хлорохин, нифедипин

DOI: 10.31857/S0869813923050035, EDN: XQKAKU

ВВЕДЕНИЕ

В клинических рекомендациях Европейского общества кардиологов отмечено, что у пациентов с тромбоемболией легочной артерии основной причиной смерти является острая правожелудочковая сердечная недостаточность на фоне повыше-

ния сопротивления сосудов легких [1]. Однако в предлагаемой тактике лечения не указаны способы снижения легочного сосудистого сопротивления, поскольку, по мнению авторов, вазодилататоры уменьшают давление в легочной артерии, но могут усугубить системную гипоперфузию вследствие отсутствия специфичности действия на сосуды легких. Поэтому, как подчеркнуто в обзорной работе [2], дальнейшие исследования механизмов легочной вазодилатации при указанной патологии являются обоснованными и значимыми как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях.

Из физиологической литературы известно, что концентрация внутриклеточного кальция является ключевой в регуляции процессов сокращения и расслабления гладкомышечных клеток легочных сосудов [3]. Вместе с тем применение существующих в настоящее время антагонистов кальция в условиях тромбоэмболии практически ограничено из-за, как отмечено выше, отсутствия их специфичности в отношении сосудов легких. Из литературы также известно, что в ответ на легочную тромбоэмболию имеет место развитие гипоксической вазоконстрикции [4]. В работе [5] показано, что при моделировании гипоксической легочной вазоконстрикции активируются кальциевые каналы L- и T-типа. В исследовании [6] рассматривается вопрос о преимущественной роли кальциевых каналов T-типа гладкомышечных клеток в развитии констрикторных реакций сосудов легких в указанных условиях. Кроме того, потенциалзависимые Ca^{2+} -каналы T-типа эндотелия участвуют в расслаблении легочных артериальных сосудов [7]. Важно также отметить, что Cav3.2-каналы T-типа регулируют функцию тромбоцитов и тромбообразование [8]. Нами поэтому было высказано предположение, что для снижения легочного сосудистого сопротивления в условиях тромбоэмболии легочной артерии можно использовать блокаторы Ca^{2+} -каналов T-типа. Одним из блокаторов указанных каналов в нейронах головного мозга является противоэпилептический препарат этосуксимид [9]. Вопрос же о влиянии этого препарата на гладкомышечные клетки легочных сосудов в литературе не освещен. Однако в работе [10] показано, что этосуксимид вызывал у крыс вазодилатацию мозговых артерий и уменьшал констрикторные реакции последних в ответ на применение норадреналина и серотонина. Следует также отметить, что противомаларийный препарат хлорохин уменьшает легочную гипоксическую вазоконстрикцию у крыс, что обусловлено блокадой потенциалзависимых Ca^{2+} -каналов L-типа, депо-управляемых Ca^{2+} -каналов, а также рецептор-зависимых Ca^{2+} -каналов гладкомышечных клеток артериальных сосудов легких [11]. Сведения же о влиянии хлорохина на Ca^{2+} -каналы T-типа в литературе практически отсутствуют. Так, в работе [12] показано, что хлорохин может активировать Cav3.2 кальциевые каналы T-типа кожных афферентных нервов. Гидрохлорохин уменьшает стимулирующее действие тромбина на активацию тромбоцитов в присутствии эндотелиальных клеток [13]. Целью работы явилось проведение сравнительного анализа изменений легочной микрогемодинамики в условиях перфузии изолированных легких при экспериментальной тромбоэмболии легочной артерии на фоне применения этосуксимида, хлорохина, мибефрадила и нифедипина.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 43 кроликах *Chinchilla* массой 3.5–4.5 кг (питомник “Рапполово”, Ленинградская область) под наркозом (уретан + хлоралоза (Sigma Chemical Co., США) 500 и 50 мг/кг соответственно, внутривенно). Вначале животных переводили на искусственную вентиляцию легких (частота дыхания 30–40 циклов/мин, дыхательный объем 15–20 см³/кг) с помощью аппарата “Фаза-9”

(Россия), затем вскрывали грудную клетку. Изолированные легкие перфузировали *in situ* двухканальным насосом постоянного расхода (136 мл/мин) (ФБГНУ “ИЭМ”). Капиллярное гидростатическое давление и коэффициент капиллярной фильтрации определяли с помощью методики волюмометрии экстракорпорально циркулирующей крови [14]. Величину перфузионного давления в легочной артерии, левом предсердии и экстракорпоральном резервуаре измеряли тензодатчиками MLT0699 (AD Instruments, Австралия). Контроль газового состава и кислотно-щелочного состояния крови осуществляли газоанализатором ABL-50 (Radiometer, Дания) [14].

Проведено 6 серий экспериментов. В первой серии (7 кроликов, группа сравнения) осуществляли эмболизацию легочной артерии путем введения в нее 10–15 эмболов цилиндрической формы диаметром 0.8 мм и длиной 1–1.5 мм. Для изготовления эмболов в начале эксперимента у животных забирали кровь из левой яремной вены в катетер длиной 15 см, внутренним диаметром 0.8 мм и шприц объемом 1 мл. Сформировавшийся кровяной сгусток удаляли из шприца и катетера, а затем изготавливали из него эмболы [14]. Во второй серии тромбоэмболию моделировали на фоне применения этосуксимида, в третьей и четвертой – соответственно мифефрадила и хлорохина. В пятой серии опытов вначале при помощи микродозатора (ФБГНУ “ИЭМ”) начинали инфузию блокатора K_{ATP} -каналов – глибенкламида (3 мг/кг/мин) [15] в течение 5 мин, затем на фоне инфузии применяли хлорохин и моделировали легочную эмболию. В шестой серии применяли антагонист кальциевых каналов L-типа нифедипин. Этосуксимид (40 мг/кг) [16] и хлорохин (50 мг/кг) [11] вводили в легочную артерию в 5 мл физиологического раствора (0.9%-ный раствор хлорида натрия) медленно в течение 1 мин, и после стабилизации гемодинамических параметров через 5 мин вводили эмболы. Мифефрадил и нифедипин вводили в легочную артерию путем инфузии при помощи микродозатора (ФБГНУ “ИЭМ”) соответственно (1 мкг/кг/мин) [17] и (5 мкг/кг/мин) [18], после начала инфузии через 5 мин моделировали тромбоэмболию. Различия способов введения указанных препаратов обусловлены особенностями их фармакокинетики [19, 20].

Этосуксимид (Mibe GmbH Arzneimittel, Германия), мифефрадил (Sigma Chemical Co., США), хлорохин (Alkaloida Chemical Company Zrt, Венгрия) растворяли в физиологическом растворе. Глибенкламид (ООО “Фармасинтез-Тюмень”) растворяли в 2 мл диметилсульфоксида (ОАО “Марбиофарм”), далее 2 мл раствора добавляли к 8 мл физиологического раствора. Диметилсульфоксид можно вводить внутривенно [21]. В предварительных опытах применение диметилсульфоксида без глибенкламида не вызывало достоверных сдвигов легочной микроциркуляции. Нифедипин (ООО “Озон Фарм”) растворяли в 95%-ном этиловом спирте (10 мг/мл), а затем добавляли к физиологическому раствору до необходимой концентрации [22]. Учитывая фоточувствительность нифедипина, приготовление его раствора проводилось при слабом освещении (мощность лампы 3 Вт, длина волны 590 нм), инфузия осуществлялась в условиях светоизоляции фольгой микродозатора и катетера. Концентрацию катехоламинов в плазме крови, оттекающей от легких, определяли методом Фолина–Чокалтеу. Для отделения плазмы 3 мл гепаринизированной крови центрифугировали (центрифуга ЛМС-3000, Латвия, 1000 об./мин) в течение 20 мин. Для осаждения белков 0.1 мл плазмы добавляли к 1 мл 5%-ного раствора трихлоруксусной кислоты и снова центрифугировали (2000 об./мин) в течение 10 мин. Затем к супернатанту добавляли 4 мл 10%-ного раствора карбоната натрия и 0.5 мл реактива Фолина–Чокалтеу. Через 5–10 мин определяли концентрацию катехоламинов на фотометре КФК-3-01 (Россия) при длине волны 650 нм после предварительной калибровки фотометра стандартным 0.1%-ным раствором адреналина (Россия) [23, 24]. Реактив Фолина–Чокалтеу, трихлоруксусная кислота и карбонат натрия были приобретены в “Ленреактив” (Россия). В конце опытов на электронных весах МАССА-К ВК-300 (Россия) измеряли массу легких кроликов.

Таблица 1. Исходные значения показателей микроциркуляции перфузируемых легких кроликов в проведенных опытах

Показатель, размерность	Исходные значения в сериях экспериментов					
	I <i>n</i> = 7	II <i>n</i> = 8	III <i>n</i> = 7	IV <i>n</i> = 8	V <i>n</i> = 6	VI <i>n</i> = 7
Перфузионное давление в легочной артерии, мм рт. ст.	30 ± 2	19 ± 2	21 ± 2	22 ± 1	26 ± 2	21 ± 3
Давление в левом предсердии, мм рт. ст.	5.6 ± 0.3	5.0 ± 0.1	4.5 ± 0.3	4.5 ± 0.3	4.5 ± 0.3	5.0 ± 0.1
Капиллярное гидростатическое давление, мм рт. ст.	8.9 ± 0.4	8.3 ± 0.2	7.8 ± 0.3	8.0 ± 0.3	7.9 ± 0.3	8.7 ± 0.1
Легочное сосудистое сопротивление, дин × с × см ⁻⁵	239 ± 8	137 ± 6	161 ± 8	171 ± 8	210 ± 11	157 ± 6
Прекапиллярное сопротивление (Ra), дин × с × см ⁻⁵	207 ± 7	105 ± 7	129 ± 9	137 ± 8	177 ± 11	120 ± 6
Посткапиллярное сопротивление (Rv), дин × с × см ⁻⁵	32 ± 4	32 ± 2	32 ± 3	34 ± 2	33 ± 2	37 ± 3
Отношение Ra/Rv	6.5 ± 0.5	3.3 ± 0.1	4.0 ± 0.3	4.0 ± 0.3	5.4 ± 0.3	3.2 ± 0.1
Коэффициент капиллярной фильтрации, л/мин/100 г/мм рт. ст.	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01
Масса легких, г	26 ± 4	17 ± 2	17 ± 3	16 ± 2	16 ± 3	18 ± 2
Концентрация катехоламинов, мкг/л	365 ± 26	370 ± 32	383 ± 22	374 ± 30	Не определен	387 ± 20

Исходные значения показателей представлены в виде $M \pm m$, где M – средняя арифметическая значений показателей, m – стандартная ошибка среднего значения. n – количество животных.

Электрические сигналы измеряемых показателей легочной микрогемодинамики записывали на жесткий диск компьютера IBM PC после аналого-цифрового преобразования платой L-Card L-783 с последующим определением расчетных параметров и анализом по программе ACTest (версия 1.6.59, ООО “Лаборатория автоматизированных систем”, Россия). Изменения параметров микроциркуляции легких и концентрации катехоламинов сравнивали на 5-й мин после применения указанных выше препаратов и эмболов при достижении максимальных сдвигов давления в легочной артерии. Полученные результаты статистически обрабатывали с помощью программы Axim 5.0 (Math Soft Inc., США). Гипотезу отличий сдвигов исследуемых показателей от нуля проверяли с использованием t -критерия Стьюдента. Определяли линейный коэффициент корреляции Пирсона между величинами прекапиллярного сопротивления и коэффициентом капиллярной фильтрации. Достоверными считали отличия при $p < 0.05$. Проверку опытных данных на нормальное распределение проводили с использованием критерия Колмогорова–Смирнова.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В табл. 1 представлены исходные значения исследуемых показателей легочной микроциркуляции и концентрации катехоламинов в проведенных сериях экспериментов.

Из данных таблицы следует, что различия между исходными значениями исследуемых показателей микрогемодинамики легких кроликов в опытах были в основном статистически недостоверными.

Таблица 2. Направленность и величина изменений показателей микроциркуляции перфузируемых легких кроликов в ответ на применение блокаторов кальциевых каналов Т- и L-типа

Показатель	Изменение показателей относительно исходного уровня после применения:				
	этосуксимида	мибефрадила	хлорохина	глибенкламид + хлорохин	нифедипина
	II серия <i>n</i> = 8	III серия <i>n</i> = 7	IV серия <i>n</i> = 8	V серия <i>n</i> = 6	VI серия <i>n</i> = 7
Перфузионное давление в легочной артерии	-11 ± 2**	-10 ± 2**	-18 ± 3**	-11 ± 3*	-10 ± 2**
Давление в левом предсердии	0 ± 2	0 ± 2	0 ± 2	0 ± 2	0 ± 2
Капиллярное гидростатическое давление	-1 ± 2	-1 ± 2	-8 ± 2**	-1 ± 2	-7 ± 2*
Легочное сосудистое сопротивление	-15 ± 2**	-12 ± 2**	-23 ± 4**	-14 ± 5*	-13 ± 4*
Прекапиллярное сопротивление (Ra)	-19 ± 3**	-15 ± 3**	-24 ± 3**	-16 ± 6*	-11 ± 3**
Посткапиллярное сопротивление (Rv)	0 ± 2	0 ± 2	-18 ± 6*	0 ± 3	-18 ± 5*
Отношение Ra/Rv	-18 ± 3**	-15 ± 3**	-8 ± 3*	-16 ± 6*	13 ± 5*
Коэффициент капиллярной фильтрации	-1 ± 2	-1 ± 2	-20 ± 7*	-10 ± 5	-1 ± 2
Концентрация катехоламинов	-5 ± 3	-10 ± 3*	-13 ± 4*	Не определяли	-3 ± 2

Изменения показателей микроциркуляции в процентах к исходному уровню для животных в группе сравнения или к фону после применения препаратов представлены в виде $M \pm m$, где M – средняя арифметическая значений показателей, m – стандартная ошибка среднего значения. Цифры со знаком (-) – снижение показателя; * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$. Отсутствие звездочки – недостоверные изменения показателя. n – количество животных.

Применение этосуксимида и блокатора Ca^{2+} -каналов Т-типа мибефрадила привело к практически одинаковым сдвигам исследуемых показателей микрогемодинамики легких, большинство из которых уменьшалось (табл. 2).

Так, депрессорные сдвиги давления в легочной артерии составили соответственно $-11 \pm 2\%$ ($p < 0.01$) и $-10 \pm 2\%$ ($p < 0.01$). Прекапиллярное сопротивление уменьшалось соответственно на $-19 \pm 3\%$ ($p < 0.01$) и $-15 \pm 3\%$ ($p < 0.01$) от исходного уровня. Капиллярное гидростатическое давление и посткапиллярное сопротивление при этом не изменялись (табл. 2). Следовательно, этосуксимид, как и мибефрадил, оказывал преимущественное влияние на Ca^{2+} -каналы Т-типа гладкомышечных клеток легочных артериальных сосудов.

В ответ на применение хлорохина давление в легочной артерии, прекапиллярное и легочное сосудистое сопротивление снижались в большей степени, чем на фоне действия этосуксимида, мибефрадила и нифедипина. Вместе с тем посткапиллярное сопротивление на фоне применения хлорохина и нифедипина уменьшалось практически одинаково, соответственно на $-18 \pm 6\%$ ($p < 0.05$) и $-18 \pm 5\%$ ($p < 0.05$) (табл. 2). Поскольку большее снижение давления в легочной артерии, легочного сосудистого сопротивления и прекапиллярного сопротивления в ответ на применение хлорохина по сравнению с депрессорными эффектами мибефрадила и нифедипина не могло быть объяснено только его блокирующим действием на кальциевые каналы, нами было высказано предположение, что хлорохин мог активировать калиевые каналы.

Таблица 3. Характер и величина изменений показателей микроциркуляции перфузируемых легких кроликов при тромбоэмболии легочной артерии на фоне применения блокаторов кальциевых каналов Т- и L-типа

Показатель	Изменение показателей при тромбоэмболии легочной артерии					
	в группе сравнения <i>n</i> = 7	на фоне применения				
		этосуксимида <i>n</i> = 8	мибефрадила <i>n</i> = 7	хлорохина <i>n</i> = 8	глибенкламид + хлорохин <i>n</i> = 6	нифедипина <i>n</i> = 7
Перфузионное давление в легочной артерии	90 ± 10**	47 ± 3**	37 ± 5**	17 ± 3**	26 ± 3**	26 ± 3*
Давление в левом предсердии	-4 ± 2	0 ± 2	0 ± 2	-1 ± 2	1 ± 2	0 ± 2
Капиллярное гидростатическое давление	17 ± 4**	16 ± 2**	16 ± 3*	8 ± 3*	16 ± 2**	15 ± 2**
Легочное сосудистое сопротивление	111 ± 18**	68 ± 5**	48 ± 6**	22 ± 3**	33 ± 4**	36 ± 7**
Прекапиллярное сопротивление (Ra)	120 ± 22**	77 ± 6**	51 ± 8**	22 ± 4**	31 ± 3**	34 ± 5**
Посткапиллярное сопротивление (Rv)	53 ± 6**	40 ± 3**	37 ± 3**	21 ± 6*	39 ± 3**	43 ± 6**
Отношение Ra/Rv	43 ± 7**	26 ± 6**	12 ± 4*	1 ± 2	-7 ± 2*	-8 ± 3*
Коэффициент капиллярной фильтрации	25 ± 4**	30 ± 3**	21 ± 6*	10 ± 7	14 ± 4**	14 ± 6*
Концентрация катехоламинов (относительно исходного уровня)	14 ± 3**	10 ± 2**	-4 ± 3	-4 ± 2	Не определяли	10 ± 3*

Изменения показателей представлены в виде $M \pm m$, где M – средняя арифметическая значений показателей, m – стандартная ошибка среднего значения. Цифры со знаком (-) – снижение показателя; * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$. Отсутствие звездочки – недостоверные изменения показателя. n – количество животных.

С целью проверки предположения о возможном активирующем влиянии хлорохина на K_{ATP} -каналы были проведены опыты с его применением на фоне инфузии глибенкламида – блокатора K_{ATP} -каналов. (В ответ на инфузию глибенкламида давление в легочной артерии повышалось на 7–10%, т.е. эффект был противоположен таковому в случае применения никорандила – активатора K_{ATP} -каналов [14]). Из данных табл. 2 следует, что в условиях применения хлорохина в сочетании с глибенкламидом показатели легочной микроциркуляции снижались практически в такой же степени, как и в ответ на применение мибефрадила. Можно поэтому полагать, что на фоне действия глибенкламида могло проявляться блокирующее влияние хлорохина на Ca^{2+} -каналы Т-типа. При этом не было отмечено уменьшения капиллярного гидростатического давления и посткапиллярного сопротивления (табл. 2). Следовательно, на фоне применения глибенкламида не проявлялись активирующие эффекты хлорохина на K_{ATP} -каналы, особенно гладкомышечных клеток легочных венозных сосудов. Сдвиги коэффициента капиллярной фильтрации в условиях применения указанных препаратов были взаимосвязаны с величиной прекапиллярного сопротивления: коэффициент корреляции составил 0.76 ± 0.02 ($p < 0.01$).

При моделировании тромбоэмболии легочной артерии на фоне применения антагонистов кальциевых каналов Т- и L-типа практически все исследуемые гемодинамические показатели возрастали меньше, чем в группе сравнения (табл. 3).

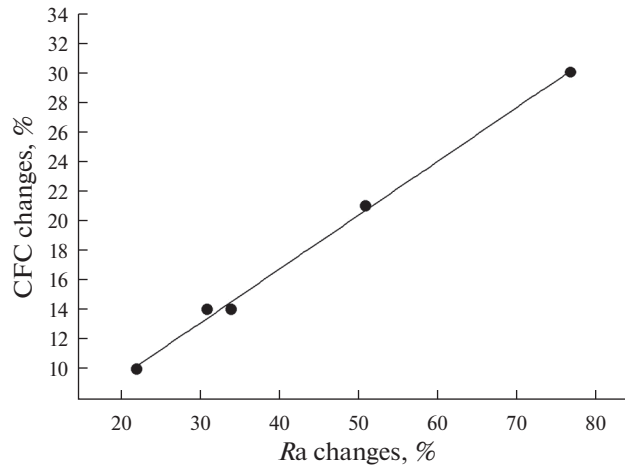


Рис. 1. Зависимость изменений коэффициента капиллярной фильтрации (CFC) от сдвигов прекапиллярной фильтрации (R_a) при тромбоземболии легочной артерии на фоне применения блокаторов Ca^{2+} -каналов T- и L-типа.

Однако наименее выраженные приросты давления в легочной артерии, легочного сосудистого сопротивления, капиллярного гидростатического давления, пре- и посткапиллярного сопротивлений в указанных условиях имели место на фоне применения хлорохина по сравнению с таковыми на фоне действия этосуксимида, мибефрадила и нифедипина (табл. 3). В опытах также отмечено, что при эмболизации легочной артерии после применения хлорохина в сочетании с блокатором K_{ATP} -каналов глибенкламидом исследуемые гемодинамические показатели увеличивались практически в такой же степени, как и при моделировании тромбоземболии на фоне применения антагониста Ca^{2+} -каналов L-типа – нифедипина (табл. 3). Следовательно, в указанных условиях на фоне блокады K_{ATP} -каналов проявлялось блокирующее действие хлорохина на Ca^{2+} -каналы L-типа. В ответ на эмболизацию легочной артерии на фоне действия антагонистов кальция была особенно выражена взаимосвязь между изменениями коэффициента капиллярной фильтрации и сдвигами прекапиллярного сопротивления: коэффициент корреляции составил 0.99 ± 0.01 ($p < 0.01$) (рис. 1).

Можно поэтому полагать, что сдвиги коэффициента капиллярной фильтрации в указанных условиях в большей степени зависят от изменений прекапиллярного сопротивления, чем от проницаемости эндотелия при блокаде кальциевых каналов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как отмечено выше, применение существующих в настоящее время антагонистов кальция в условиях тромбоземболии легочной артерии с целью снижения легочного сосудистого сопротивления практически ограничено из-за отсутствия их специфичности в отношении сосудов легких [1]. Вместе с тем в работе [2] рассматривается возможность применения гидралазина, который, с одной стороны, тормозит индуцируемое инозитол-трифосфатом высвобождение Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума в гладкомышечных клетках, а с другой – усиливает открытие Ca^{2+} -зависимых калиевых каналов, способствуя вазодилатации.

Нами было высказано предположение о возможности применения блокаторов Ca^{2+} -каналов Т-типа для уменьшения легочного сосудистого сопротивления при эмболизации легочной артерии. Это предположение базируется на том, что в указанных условиях имеет место развитие легочной гипоксической вазоконстрикции [4], в которой участвуют механизмы, опосредованные активацией Ca^{2+} -каналов Т-типа [5, 6]. В качестве потенциальных блокаторов Ca^{2+} -каналов Т-типа мы применили противоэпилептический препарат этосуксимид и противомалярийный препарат хлорохин. Эффекты указанных препаратов на микроциркуляцию легких при моделировании тромбоэмболии легочной артерии в литературе не освещены, поскольку эти лекарственные средства традиционно не рассматриваются как вазодилататоры. Следует также отметить, что большинство исследований веществ с потенциальным действием на гладкомышечные клетки выполняется, как правило, на изолированных колечках легочных сосудов, не уделяя существенного внимания вопросам микрогемодинамики.

Результаты проведенных экспериментов показали, что в ответ на применение этосуксимида, как и блокатора Ca^{2+} -каналов Т-типа мибефрадила, исследуемые показатели легочной микроциркуляции уменьшались примерно в равной степени, за исключением капиллярного гидростатического давления и посткапиллярного сопротивления, которые не изменялись (табл. 1). Можно поэтому полагать, что этосуксимид, как и мибефрадил, оказывал блокирующее влияние в основном на Ca^{2+} -каналы Т-типа гладкомышечных клеток легочных артериальных сосудов. Вместе с тем обратил на себя внимание тот факт, что концентрация катехоламинов в случае применения мибефрадила уменьшалась на $10 \pm 3\%$ ($p < 0.05$), тогда как на фоне действия этосуксимида она достоверно не изменялась. Это могло быть обусловлено блокирующими влияниями мибефрадила на Ca^{2+} -каналы N-типа симпатических терминалей легочных сосудов. В литературе имеются сведения о торможении мибефрадилом высвобождения катехоламинов из симпатических нервов сердца [25].

В случае применения хлорохина давление в легочной артерии, прекапиллярное и легочное сосудистое сопротивление снижались в большей степени, чем в ответ на применение этосуксимида, мибефрадила и нифедипина. Концентрация катехоламинов уменьшалась на $13 \pm 4\%$ ($p < 0.05$), т.е. практически на такую же величину, как и в условиях инфузии мибефрадила ($-10 \pm 3\%$, $p < 0.05$) (табл. 1). Нельзя поэтому исключить, что хлорохин, как и мибефрадил, мог оказывать блокирующий эффект на Ca^{2+} -каналы N-типа симпатических терминалей легочных сосудов. Однако проверка указанного предположения нуждается в проведении специальных нейрофизиологических исследований.

Как отмечено выше, на фоне действия хлорохина давление в легочной артерии, легочное сосудистое сопротивление и прекапиллярное сопротивление уменьшались более выражено, чем в случае применения этосуксимида, мибефрадила и нифедипина, что не может быть объяснено только блокирующим действием хлорохина на кальциевые каналы. Нами было высказано предположение, что хлорохин мог также активировать калиевые каналы. В литературе имеются сведения о значимости K_{ATP} -каналов в развитии легочной гипоксической вазоконстрикции и легочной гипертензии [26, 27]. В ранее проведенных исследованиях нами было показано, что при моделировании легочной тромбоэмболии в условиях применения активатора K_{ATP} -каналов никорандила констрикторные реакции легочных артериальных сосудов были меньше, чем в контроле, а констрикторные реакции венозных сосудов устранялись [14]. Вместе с тем литературные данные о влиянии хлорохина на калиевые каналы противоречивы. Так, в работе [28] показано, что хлорохин блокировал BK_{Ca} -каналы гладкомышечных клеток трахеи, что, однако, не может способствовать

вазодилатации. В исследовании [29] отмечено, что применение указанного препарата, возможно, вызывает активацию K_{ATP} -каналов сенсорных нервных окончаний в коже.

Результаты опытов, в которых хлорохин применяли на фоне инфузии блокатора K_{ATP} -каналов глибенкламида показали, что в этом случае большинство показателей легочной микроциркуляции снижалось практически в такой же степени, как и в ответ на применение мибефрадила (табл. 2). Следовательно, на фоне действия глибенкламида могло проявляться блокирующее влияние хлорохина на Ca^{2+} -каналы Т-типа. Поскольку в указанных условиях капиллярное гидростатическое давление и посткапиллярное сопротивление не уменьшались, можно полагать, что на фоне применения глибенкламида не проявлялись активирующие эффекты хлорохина на K_{ATP} -каналы гладкомышечных клеток легочных венозных сосудов.

Наше предположение об активирующем влиянии хлорохина на K_{ATP} -каналы подтвердилось также в опытах с моделированием тромбоэмболии легочной артерии. В случае эмболизации последней на фоне действия хлорохина давление в легочной артерии, сопротивление сосудов легких, капиллярное гидростатическое давление, пре- и посткапиллярное сопротивления возрастали в меньшей степени по сравнению с приростами указанных показателей в условиях тромбоэмболии на фоне применения этосуксимида, мибефрадила и нифедипина (табл. 3). Однако при легочной тромбоэмболии на фоне применения хлорохина в сочетании с блокатором K_{ATP} -каналов глибенкламидом исследуемые показатели микроциркуляции повышались практически на такие же величины, как и при моделировании указанной патологии на фоне применения антагониста Ca^{2+} -каналов L-типа — нифедипина, но менее выражено, чем в условиях действия этосуксимида и мибефрадила (табл. 3). Следовательно, при эмболизации легочной артерии на фоне блокады K_{ATP} -каналов проявлялось блокирующее действие хлорохина на Ca^{2+} -каналы L-типа.

Обратил на себя внимание тот факт, что концентрация катехоламинов при эмболизации легочной артерии на фоне применения мибефрадила и хлорохина была на 4% меньше исходного уровня (статистически не достоверно), тогда как в группе сравнения этот показатель возрастал на $14 \pm 3\%$ ($p < 0.05$). Это можно объяснить, как отмечено выше, блокирующими влияниями указанных препаратов на Ca^{2+} -каналы N-типа симпатических терминалей сосудов легких. Вместе с тем при тромбоэмболии на фоне применения этосуксимида концентрация катехоламинов увеличивалась на $10 \pm 2\%$ ($p < 0.01$), т.е. практически на такую же величину, как и в группе сравнения, это свидетельствует о том, что Ca^{2+} -каналы Т-типа симпатических терминалей практически не регулируют высвобождение катехоламинов [30]. В ответ на эмболизацию легочной артерии на фоне применения нифедипина концентрация катехоламинов увеличивалась на $10 \pm 3\%$ ($p < 0.05$). Полученные данные также свидетельствуют об отсутствии значимости Ca^{2+} -каналов L-типа симпатических терминалей в высвобождении из последних катехоламинов, что отмечено и в работе [31]. Вместе с тем в литературе имеются сведения о наличии Cav1.2- и Cav1.3-каналов L-типа в нейронах верхнего шейного ганглия [32]. Можно предположить, что при применении антагонистов кальция L-типа в целостном организме их эффекты на легочную микроциркуляцию в условиях тромбоэмболии будут определяться не только влиянием на кальциевые каналы гладкомышечных клеток сосудов легких, но и на нейроны симпатических вегетативных ганглиев.

Сдвиги коэффициента капиллярной фильтрации в ответ на применение блокаторов кальциевых каналов Т- и L-типа были взаимосвязаны с изменениями прекапиллярного сопротивления: коэффициент корреляции составил 0.76 ± 0.02 ($p < 0.01$). Особенно выражено эта взаимосвязь проявилась при моделировании тромбоэмболии легочной артерии, когда коэффициент корреляции между величинами изме-

нений коэффициента капиллярной фильтрации и прекапиллярного сопротивления составил 0.99 ± 0.01 ($p < 0.01$) (рис. 1). Можно поэтому полагать, что сдвиги коэффициента капиллярной фильтрации в указанных условиях, в основном, зависят от изменений прекапиллярного сопротивления, чем от проницаемости эндотелия. Вместе с тем в работе [33] показано, что блокада Ca^{2+} -каналов L-типа нифедипином способствует уменьшению проницаемости легочных сосудов при воздушной эмболизации легочной артерии. Кроме того, в литературе имеются сведения о значимости кальциевых каналов T-типа в регуляции проницаемости эндотелия легочных сосудов [34].

Таким образом, проведенное исследование позволило установить, что в ответ на применение этосуксимида, как и блокатора Ca^{2+} -каналов T-типа мибефрадила, давление в легочной артерии, прекапиллярное и легочное сосудистое сопротивление уменьшались примерно в равной степени, а посткапиллярное сопротивление не изменялось. В случае применения хлорохина давление в легочной артерии, прекапиллярное и легочное сосудистое сопротивления снижались более выражено, чем в ответ на применение этосуксимида, мибефрадила и блокатора Ca^{2+} -каналов L-типа нифедипина; посткапиллярное сопротивление также уменьшалось. Если хлорохин применяли на фоне инфузии блокатора K_{ATP} -каналов глибенкламида, то большинство показателей легочной микроциркуляции снижалось практически в такой же степени, как и в ответ на применение мибефрадила, а посткапиллярное сопротивление не изменялось. При моделировании легочной тромбоэмболии на фоне действия хлорохина повышение давления в легочной артерии, сопротивления сосудов легких, пре- и посткапиллярного сопротивлений было менее выраженным, чем при тромбоэмболии в условиях применения этосуксимида, мибефрадила или нифедипина. В ответ на эмболизацию легочной артерии на фоне применения хлорохина в условиях блокады K_{ATP} -каналов глибенкламидом исследуемые показатели микроциркуляции легких возрастали в такой же степени, как и на фоне действия нифедипина. Следовательно, хлорохин проявляет свойства блокатора Ca^{2+} -каналов L- и T-типа, а также активатора K_{ATP} -каналов, тогда как этосуксимид оказывает блокирующее влияние в основном на Ca^{2+} -каналы T-типа гладкомышечных клеток легочных артериальных сосудов. Величина коэффициента капиллярной фильтрации в указанных условиях зависит в большей степени от изменений прекапиллярного сопротивления, чем от проницаемости эндотелия сосудов легких.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все манипуляции с животными проводились в соответствии с принципами Базельской декларации при одобрении биоэтического комитета Института экспериментальной медицины.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках темы FGWG-2022-0006 гос. задания Минобрнауки Российской Федерации.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (В.И.Е.), проведение экспериментов (В.И.Е., И.З.П., Т.П.Б.), статистическая обработка данных (В.И.Е., И.З.П.), написание и редактирование рукописи (В.И.Е., И.З.П.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Konstantinides SV, Meyer G, Becattini C, Bueno H, Geersing GJ, Harjola VP, Huisman MV, Humbert M, Jennings CS, Jiménez D, Kucher N, Lang IM, Lankeit M, Lorusso R, Mazzolai L, Menendez N, Ni Ainle F, Prandoni P, Pruszczyk P, Righini M, Torbicki A, Van Belle E, Zamorano JL (2020) 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J* 41: 543–603. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz405>
2. Lyhne MD, Kline JA, Nielsen-Kudsk JE, Andersen A (2020) Pulmonary vasodilation in acute pulmonary embolism – a systematic review. *Pulm Circ* 10: 2045894019899775. <https://doi.org/10.1177/2045894019899775>
3. Li HH, Xie LJ, Xiao TT, Huang M, Shen J (2016) Mibefradil suppresses the proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells. *J Investig Med* 64: 45–49. <https://doi.org/10.1136/jim-d-15-00167>
4. Fernandes CJ, Luppino Assad AP, Alves-Jr JL, Jardim C, de Souza R (2019) Pulmonary Embolism and Gas Exchange. *Respiration* 98: 253–262. <https://doi.org/10.1159/000501342>
5. Wan J, Yamamura A, Zimnicka AM, Voiriot G, Smith KA, Tang H, Ayon RJ, Choudhury MS, Ko EA, Wang J, Wang C, Makino A, Yuan JX (2013) Chronic hypoxia selectively enhances L- and T-type voltage-dependent Ca²⁺ channel activity in pulmonary artery by upregulating Cav1.2 and Cav3.2. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 305: L154–L164. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00313.2012>
6. Chevalier M, Gilbert G, Roux E, Lory P, Marthan R, Savineau JP, Quignard JF (2014) T-type calcium channels are involved in hypoxic pulmonary hypertension. *Cardiovasc Res* 103: 597–606. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvu166>
7. Gilbert G, Courtois A, Dubois M, Cussac LA, Ducret T, Lory P, Marthan R, Savineau JP, Quignard JF (2017) T-type voltage gated calcium channels are involved in endothelium-dependent relaxation of mice pulmonary artery. *Biochem Pharmacol* 138: 61–72. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.04.021>
8. Tamang HK, Yang RB, Song ZH, Hsu SC, Peng CC, Tung YC, Tzeng BH, Chen CC (2022) Cav3.2 T-type calcium channel regulates mouse platelet activation and arterial thrombosis. *J Thromb Haemost* 20: 1887–1899. <https://doi.org/10.1111/jth.15745>
9. Zamponi GW, Striessnig J, Koschak A, Dolphin AC (2015) The Physiology, Pathology, and Pharmacology of Voltage-Gated Calcium Channels and Their Future Therapeutic Potential. *Pharmacol Rev* 67: 821–870. <https://doi.org/10.1124/pr.114.009654>
10. Velkova K, Kristev A, Kostadinova I (1995) Effects of ethosuximide on the cerebral vasculature and hemodynamics of rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 17: 677–684. PMID: 9053588
11. Wu K, Zhang Q, Wu X, Lu W, Tang H, Liang Z, Gu Y, Song S, Ayon RJ, Wang Z, McDermott KM, Balistrieri A, Wang C, Black SM, Garcia JGN, Makino A, Yuan JX, Wang J (2017) Chloroquine is a potent pulmonary vasodilator that attenuates hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Br J Pharmacol* 163: 4155–4172. <https://doi.org/10.1111/bph.13990>
12. Gadotti VM, Kreitinger JM, Wageling NB, Budke D, Diaz P, Zamponi GW (2020) Cav3.2 T-type calcium channels control acute itch in mice. *Mol Brain* 13(1): 119. <https://doi.org/10.1186/s13041-020-00663-9>
13. Schreiber K, Sciascia S, Wehrmann F, Weiß C, Leipe J, Krämer BK, Stach KJ (2021) The effect of hydroxychloroquine on platelet activation in model experiments. *J Thromb Thrombolysis* 52: 674–679. <https://doi.org/10.1007/s11239-020-02325-y>
14. Evlakhov VI, Poyassov IZ, Berezina TP (2022) Changes of Pulmonary Microhemodynamics in Experimental Pulmonary Thromboembolism after Pretreatment with K-Channel Activators. *Bull Exp Biol Med* 173: 302–305. <https://doi.org/10.1007/s10517-022-05538-8>
15. Chen X, Patel K, Connors SG, Mendonca M, Welch WJ, Wilcox CS (2007) Acute antihypertensive action of Tempol in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293: H3246–H3253. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00957.2007>
16. Mijsud J, Collier PS, Millership JS (2001) The pharmacokinetics of ethosuximide enantiomers in the rat. *Biopharm Drug Dispos* 22: 83–89. <https://doi.org/10.1002/bdd.266>
17. Honda M, Hayashi K, Matsuda H, Kubota E, Tokuyama H, Okubo K, Takamatsu I, Ozawa Y, Saruta TJ (2001) Divergent renal vasodilator action of L- and T-type calcium antagonists *in vivo*. *Hypertension* 19: 2031–2037. <https://doi.org/10.1097/00004872-200111000-00014>

18. *Alanne L, Bhide A, Hoffren J, Lantto J, Huhta H, Kokki M, Haapsamo M, Acharya G, Räsänen J* (2020) Effects of nifedipine and sildenafil on placental hemodynamics and gas exchange during fetal hypoxemia in a chronic sheep model. *Placenta* 90: 103–108.
<https://doi.org/10.1016/j.placenta.2019.12.014>
19. *Echizen H, Eichelbaum M* (1986) Clinical pharmacokinetics of verapamil, nifedipine and diltiazem. *Clin Pharmacokinet* 11: 425–449.
<https://doi.org/10.2165/00003088-198611060-00002>
20. *Skerjanec A, Tawfik S, Tam YK* (1996) Nonlinear pharmacokinetics of mibefradil in the dog. *J Pharm Sci* 85: 189–192.
<https://doi.org/10.1021/js9501775>
21. *Tsung YC, Chung CY, Wan HC, Chang YY, Shih PC, Hsu HS, Kao MC, Huang CJ* (2017) Dimethyl Sulfoxide Attenuates Acute Lung Injury Induced by Hemorrhagic Shock/Resuscitation in Rats. *Inflammation* 40: 555–565.
<https://doi.org/10.1007/s10753-016-0502-4>
22. *Gurtu S, Shukla S, Mukerjee D, Khattri S* (2000) Effect of calcium channel blockers on baroreceptor reflex in anesthetized cats. *Pharmacol Res* 42: 101–105.
<https://doi.org/10.1006/phrs.2000.0659>
23. *Chen LY, Cheng CW, Liang JY* (2015) Effect of esterification condensation on the Folin-Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. *Food Chem* 170: 10–15.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.038>
24. *Evlakhov VI, Berezina TP, Poyassov IZ, Ovsyannikov VI* (2021) Pulmonary Microcirculation during Experimental Pulmonary Thromboembolism under Conditions of Activation and Blockade of Muscarinic Acetylcholine Receptors. *Bull Exp Biol Med* 171: 198–201.
<https://doi.org/10.1007/s10517-021-05194-4>
25. *Göthert M, Molderings GJ* (1997) Mibefradil- and omega-conotoxin GVIA-induced inhibition of noradrenaline release from the sympathetic nerves of the human heart. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 356: 860–863.
<https://doi.org/10.1007/pl00005130>
26. *Bardou M, Goirand F, Marchand S, Rouget C, Devillier P, Dumas JP, Morcillo EJ, Rochette L, Dumas MJ* (2001) Hypoxic vasoconstriction of rat main pulmonary artery: role of endogenous nitric oxide, potassium channels, and phosphodiesterase inhibition. *Cardiovasc Pharmacol* 38: 325–334.
<https://doi.org/10.1097/00005344-200108000-00018>
27. *Breen E, Yuan JX* (2022) Targeting ATP-Sensitive K⁺ Channels to Treat Pulmonary Hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol* 66: 476–478.
<https://doi.org/10.1165/rcmb.2021-0549ED>
28. *Wei MY, Xue L, Tan L, Sai WB, Liu XC, Jiang QJ, Shen J, Peng YB, Zhao P, Yu MF, Chen W, Ma LQ, Zhai K, Zou C, Guo D, Qin G, Zheng YM, Wang YX, Ji G, Liu QH* (2015) Involvement of large-conductance Ca²⁺-activated K⁺-channels in chloroquine-induced force alterations in pre-contracted airway smooth muscle. *PLoS One* 10: e0121566.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121566>
29. *Ostadhadi S, Foroutan A, Haddadi NS, Norouzi-Javidan A, Momeny M, Zarrinrad G, Ghaffari SH, Dehpour AR* (2017) Pharmacological evidence for the involvement of adenosine triphosphate sensitive potassium channels in chloroquine-induced itch in mice. *Pharmacol Rep* 69: 1295–1299.
<https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.05.021>
30. *Molderings GJ, Likungu J, Göthert M* (2000) N-Type calcium channels control sympathetic neurotransmission in human heart atrium. *Circulation* 101: 403–407.
<https://doi.org/10.1161/01.cir.101.4.403>
31. *Uhrenholt TR, Nedergaard OA* (2003) Calcium channels involved in noradrenaline release from sympathetic neurones in rabbit carotid artery. *Pharmacol Toxicol* 92: 226–233.
<https://doi.org/10.1034/j.1600-0773.2003.920505.x>
32. *Wu CY, Lee RH, Chen PY, Tsai AP, Chen MF, Kuo JS, Lee TJ* (2014) L-type calcium channels in sympathetic $\alpha_3\beta_2$ -nAChR-mediated cerebral nitroergic neurogenic vasodilation. *Acta Physiol (Oxf)* 211: 544–558.
<https://doi.org/10.1111/apha.12315>
33. *Huang KL, Lin YC* (1997) Pharmacologic modulation of pulmonary vascular permeability during air embolism. *Undersea Hyperb Med* 24: 315–321. PMID: 9444063
34. *Townsley MI, King JA, Alvarez DF* (2006) Ca²⁺-channels and pulmonary endothelial permeability: insights from study of intact lung and chronic pulmonary hypertension. *Microcirculation* 13: 725–739.
<https://doi.org/10.1080/10739680600930362>

The Impact of T- and L-Type Calcium Channels Blockers on Pulmonary Microhemodynamics in Experimental Model of Pulmonary Thromboembolism**V. I. Evlakhov^a, *, I. Z. Poyassov^a, and T. P. Berezina^a**^a*Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia***e-mail: viespbu@mail.ru*

In acute experiments on isolated perfused rabbit's Chinchilla lungs changes of pulmonary microhemodynamics were studied in case of pulmonary embolization in the comparison group and after pretreatment with ethosuximide, mibefradil, chloroquine and nifedipine. In response to administration of T-type Ca^{2+} -channel blockers ethosuximide and mibefradil, pulmonary artery pressure, precapillary and pulmonary vascular resistance decreased approximately to the same extent, postcapillary resistance did not change. After pretreatment with chloroquine pulmonary artery pressure, precapillary and pulmonary vascular resistance decreased more than in response to the administration of ethosuximide and mibefradil and the antagonist of L-type Ca^{2+} -channels nifedipine; postcapillary resistance decreased. In the case of chloroquine administration combined with infusion of the K_{ATP} -channel blocker glibenclamide, most parameters of pulmonary microcirculation decreased almost to the same extent as in response to mibefradil administration, and postcapillary resistance did not change. After pretreatment with chloroquine in response to pulmonary embolization, pulmonary vascular resistance, pre- and postcapillary resistance increased less pronounced than with thromboembolism after pretreatment with ethosuximide, mibefradil and nifedipine. When modeling thromboembolism after pretreatment with chloroquine combined with K_{ATP} -channels blocker glibenclamide, the studied hemodynamics parameters increased to the same extent as after nifedipine pretreatment. Thus, chloroquine exhibits the properties of L- and T-type Ca^{2+} -channels blocker, as well as an activator of K_{ATP} -channels, whereas ethosuximide has a blocking effect mainly on T-type Ca^{2+} -channels of smooth muscle cells of pulmonary arterial vessels. Shifts of capillary filtration coefficient under these conditions depend more on changes of precapillary resistance than from the changes of permeability of endothelium of pulmonary vessels.

Keywords: pulmonary thromboembolism, capillary filtration coefficient, ethosuximide, mibefradil, chloroquine, nifedipine