

## КАРДИОПРОТЕКТОРНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА У КРЫС С ГИПЕРЛИПИДЕМИЕЙ

Чепелев С. Н., Висмонт Ф. И.

Белорусский государственный медицинский университет,  
кафедра патологической физиологии,  
г. Минск

**Ключевые слова:** дистантное ишемическое посткондиционирование, гиперлипидемия, кардиопротекция.

**Резюме:** исследование посвящено выяснению кардиопротекторной эффективности дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с гиперлипидемией. Установлено, что дистантное ишемическое посткондиционирование не эффективно в плане ограничения размеров зоны некроза миокарда левого желудочка при ишемии-реперфузии у крыс с гиперлипидемией, но оказывает антиаритмический эффект.

**Resume:** this study is devoted to the elucidation of cardioprotective effectiveness of remote ischemic postconditioning in myocardial ischemia-reperfusion in rats with hyperlipidemia. It was established that remote ischemic postconditioning is not effective in limiting the size of the left ventricular myocardial necrosis zone in ischemia-reperfusion in rats with hyperlipidemia, but has antiarrhythmic effect.

**Актуальность.** В настоящее время ишемическая болезнь сердца (ИБС) является важнейшей причиной смертности в развитых странах мира и Республике Беларусь в частности [3]. Учитывая высокую медицинскую и социальную значимость проблемы лечения пациентов с ИБС, поиск эффективных методов предотвращения или ослабления ишемии миокарда остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины [2, 3, 4].

Объектом повышенного интереса исследователей в области кардиологии становятся кардиопротекторные (противоишемический и антиаритмический) эффекты дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПостК), которые воспроизводятся ишемией конечностей, осуществляемой после острой ишемии миокарда (ОИМ) [1, 2, 4, 5, 8]. В клинике необходимость защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения чаще всего возникает у пациентов с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, к числу которых относится и гиперлипидемия (ГЛЕ) [1, 2, 4, 7].

**Цель:** выявление кардиопротекторной эффективности ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с ГЛЕ.

**Задачи:** 1. Изучить эффективность ДИПостК в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с ГЛЕ; 2. Выяснить эффективность ДИПостК в плане снижения длительности аритмий во время острой ишемии-реперфузии миокарда у крыс с ГЛЕ.

**Материалы и методы.** Исследование эффективности ДИПостК выполнено на 37 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах. Масса крыс составляла – 200-250 г., возраст – 4±1 мес. Животные содержались в стандартных условиях

вивария УО «БГМУ». ГЛЕ вызывали интрагастральным введением с помощью зонда 10% р-ра холестерина (Sigma, США), приготовленного на оливковом масле, в дозе 10 мл/кг 1 раз в сутки в течение 10 дней (n=23). Было сформировано две группы изучения ишемии-реперфузии миокарда левого желудочка: крысы с ГЛЕ (n=23) и без ГЛЕ (n=14), причем в каждой из них выделялись подгруппы, где воспроизводили ДИПостК (ДИПостК<sub>ГЛЕ</sub>, n=12; ДИПостК, n=7) и аналогичные группы контроля без ДИПостК (Контроль<sub>ГЛЕ</sub>, n=11; Контроль, n=7). Для подтверждения наличия ГЛЕ у крыс выполнялось биохимическое исследование сыворотки крови, где определяли ферментативным методом содержание общего холестерина (ОХ) и триглицеридов (ТГ) с использованием наборов реагентов НТПК «Анализ Х» (РБ).

ОИМ воспроизводили по методике, описанной С.Clark et al [6]. Моделирование ОИМ у крыс с ГЛЕ выполнялось через 24 часа после последнего введения холестерина на оливковом масле. Для наркотизации животных применяли тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг внутрибрюшинно с последующей внутривенной инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг/час с помощью инъекционного насоса В. Braun (Германия). Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом через трахеостому при помощи аппарата ИВЛ фирмы Harvard (Великобритания). Грудную клетку вскрывали в IV межреберном промежутке слева. Крысам, после 15-минутной стабилизации гемодинамики, выполняли 30-минутную окклюзию левой главной коронарной артерии (ЛГКА) путем механического ее пережатия фишкой. Реперфузия миокарда достигалась удалением фишки. Длительность реперфузии составляла 120 мин. Животные, которым воспроизводилось ДИПостК, дополнительно подвергались воздействию 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий через 10 мин после 30-минутной ОИМ [1, 5]. В ходе экспериментов непрерывно регистрировалось ЭКГ во II стандартном отведении, системное артериальное давление (АД) и частота сердечных сокращений (ЧСС) путем канюлирования правой общей сонной артерии; полученные при этом данные обрабатывались с помощью компьютерной программы Spike 4.

Для определения зоны риска выполняли внутривенное введение в левую общую яремную вену 0,5 мл 5% р-ра синьки Эванса в конце реперфузии при кратковременной повторной окклюзии ЛГКА. Затем сердце извлекали из грудной клетки и отделяли левый желудочек для дальнейшего исследования.

После замораживания левого желудочка в морозильной камере при -20°C в течение 30 мин его разрезали на 6 поперечных срезов. Срезы взвешивали при помощи торсионных весов, затем сканировали при помощи сканера с обеих сторон. В каждом срезе определялась зона риска как участок, не окрашенный в синий цвет. Для идентификации зоны некроза срезы помещали в 1% р-р трифенилтетразолия хлорида на 15 мин при температуре 37°C. Затем срезы фиксировали в 10% р-ре формалина в течение 24 часов, после чего они сканировались повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза. Жизнеспособный миокард окрашивался в кирпично-красный цвет, некротизированная ткань была белесой. Размеры зон риска и некроза определяли при помощи компьютерной

планиметрии с использованием программы Adobe Photoshop 13.0.1. Полученные в исследовании результаты заносились в таблицу Excel 2013 и обрабатывались в программе Statistica 8.0. Статистическая значимость различий полученных данных оценивалась при помощи однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони, результаты представлялись в формате: среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $M \pm m$ ). Для оценки антиаритмического эффекта ДИПостК подсчитывалась общая длительность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной ОИМ – фибрилляции желудочков (ФЖ), пароксизмальной желудочковой тахикардии (ПЖТ), парной желудочковой экстрасистолии, желудочковой экстрасистолии по типу бигеминии, также оценивалось наличие реперфузионных нарушений сердечного ритма. На основе полученных данных рассчитывались медиана (Me) и интерквартильный размах (25-й; 75-й процентиля). При сравнении групп использовали критерий Крускала-Уоллиса и тест множественных сравнений Данна. Уровень  $p < 0,05$  рассматривался как статистически значимый.

**Результаты и их обсуждение.** Выживаемость крыс с ГЛЕ после ОИМ составила 60,87% (9 крыс из 23 погибли), в группах крыс без ГЛЕ наблюдалась 100% выживаемость. Таким образом, из каждой экспериментальной группы для последующего анализа было отобрано по 7 животных. У крыс с ГЛЕ содержание ОХ в сыворотке крови составило  $5,86 \pm 0,38$  ммоль/л, ТГ –  $1,54 \pm 0,12$  ммоль/л. У крыс без ГЛЕ содержание ОХ составило  $2,62 \pm 0,09$  ммоль/л, ТГ –  $0,62 \pm 0,06$  ммоль/л. Следственно, у крыс с ГЛЕ имело место статистически значимое повышение содержания в сыворотке крови ОХ в 2,2 раза и ТГ в 2,5 раза по сравнению с их содержанием у крыс без ГЛЕ ( $p < 0,01$ ).

В группах крыс с ГЛЕ и без ГЛЕ статистически значимых отличий показателей АД<sub>ср</sub> и ЧСС на протяжении эксперимента по сравнению с их исходными значениями не выявлено.

Длительность нарушений ритма сердца во время ОИМ и периода реперфузии (медиана и интерквартильный размах) у испытуемых животных представлена на рис. 1. Во время ОИМ и реперфузии наблюдались нарушения сердечного ритма длительностью в группе Контроль<sub>ГЛЕ</sub> – 316 (137; 563) с, в группе ДИПостК<sub>ГЛЕ</sub> – 97 (78; 166) с ( $p < 0,05$ ), в группе Контроль – 198 (14; 239) с, в группе ДИПостК – 153 (109; 166) с.

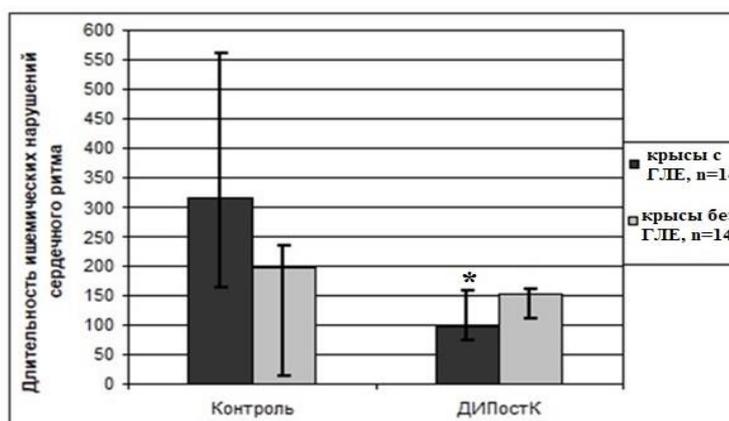


Рис. 1 – Длительность нарушений сердечного ритма (с) во время ОИМ и реперфузии в контрольной группе и группе крыс, в которой воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГЛЕ и крысы

без ГЛЕ)

\* - статистически значимые отличия длительности ишемических нарушений сердечного ритма у крыс в группе ДИПостК<sub>ГЛЕ</sub>, по сравнению с группой Контроль<sub>ГЛЕ</sub> ( $p < 0,05$ )

Результаты исследования показали, что в группе Контроль<sub>ГЛЕ</sub> во время 30-минутной ОИМ у 5 из 7 крыс была выявлена ФЖ, а у 6 животных – ПЖТ, реперфузионные нарушения сердечного ритма имели место у 6 крыс. В группе ДИПостК<sub>ГЛЕ</sub> во время ОИМ у 1 из 7 крыс наблюдалась ФЖ ( $p > 0,05$ ), а ПЖТ имела место у 5 крыс данной группы ( $p > 0,05$ ), реперфузионные нарушения сердечного ритма были выявлены у 3 животных ( $p > 0,05$ ). Несмотря на то, что ДИПостК не оказывает влияние на нарушения сердечного ритма во время ОИМ, в группе ДИПостК<sub>ГЛЕ</sub> наблюдалось статистически значимое снижение продолжительности ишемических нарушений сердечного ритма по сравнению с группой Контроль<sub>ГЛЕ</sub> ( $p < 0,05$ ).

В то время, как наблюдается тенденция к снижению размеров зоны риска в миокарде левого желудочка во всех группах крыс с ГЛЕ по сравнению с крысами без ГЛЕ, статистически значимых различий между анализируемыми группами крыс с ГЛЕ и крыс без ГЛЕ по данному показателю не выявлено ( $p > 0,05$ ). Таким образом, размеры зоны риска во всех группах крыс были сопоставимы (рис. 2).

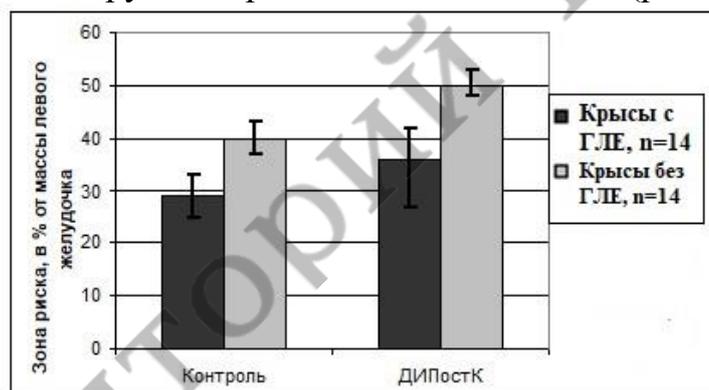


Рис. 2 – Размеры зоны риска (в % от массы левого желудочка) в контрольной группе и группах крыс, в которых воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГЛЕ и крысы без ГЛЕ)

На рис. 3 представлены размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка во всех группах крыс с ГЛЕ и крыс без ГЛЕ. Средняя зона некроза в группе Контроль<sub>ГЛЕ</sub> составила  $38 \pm 4\%$ , в группе ДИПостК<sub>ГЛЕ</sub> –  $43 \pm 6\%$ . У крыс без ГЛЕ в группе Контроль выявлена зона некроза размером  $46 \pm 4\%$ , в группе ДИПостК –  $25 \pm 2\%$  ( $p < 0,01$ ). Данные исследования свидетельствуют об отсутствии противоишемического эффекта ДИПостК у крыс с ГЛЕ. У крыс без ГЛЕ, напротив, воспроизводится выраженный противоишемический эффект ДИПостК.

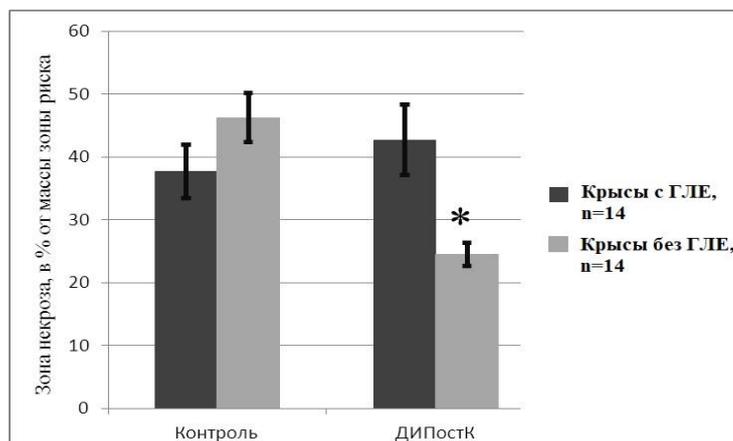


Рис. 3 – Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка (в % от зоны риска) в контрольной группе и группах крыс, в которых воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГЛЕ и крысы без ГЛЕ)

\*- статистически значимые отличия размеров зоны некроза в группе ДИПостК и группе Контроль ( $p < 0,01$ )

Учитывая наличие тенденции к снижению размеров зоны риска в миокарде левого желудочка в группе крыс с ГЛЕ по сравнению с крысами без ГЛЕ, можно предполагать, что меньшие размеры зоны риска у крыс с ГЛЕ способствовали формированию более низких значений размеров зоны некроза миокарда. Был проведен дополнительный расчет размеров зоны некроза миокарда в % от массы левого желудочка (рис. 4). В результате средняя зона некроза в группе КонтрольГЛЕ составила  $11,4 \pm 0,6\%$ , в группе Контроль –  $18,5 \pm 0,8\%$ , в группе ДИПостКГЛЕ –  $14,3 \pm 0,7\%$ , в группе ДИПостК –  $12,3 \pm 0,6\%$ ,  $p < 0,01$ .

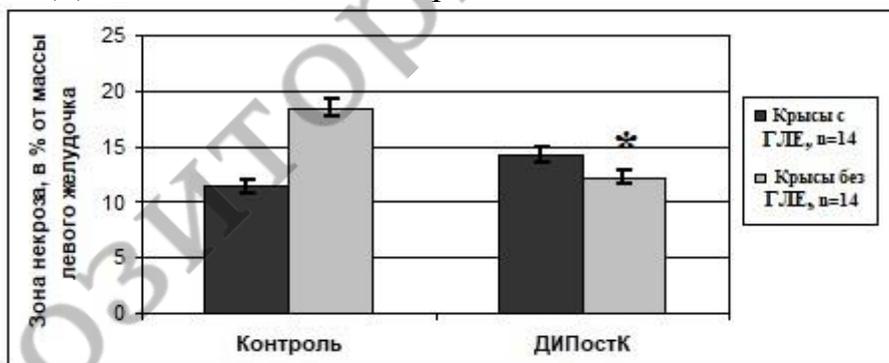


Рис. 4 – Размеры зоны некроза (в % от массы левого желудочка) в контрольной группе и группах крыс, в которых воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГЛЕ и крысы без ГЛЕ)

\*- статистически значимые отличия размеров зоны некроза в группе ДИПостК и группе Контроль ( $p < 0,01$ )

**Выводы:** 1. Дистантное ишемическое посткондиционирование не эффективно в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с ГЛЕ; 2. Дистантное ишемическое посткондиционирование эффективно в плане снижения продолжительности нарушений сердечного ритма во время острой ишемии-реперфузии миокарда у крыс с ГЛЕ.

#### Литература

1. Басалай, М. Дистантное ишемическое посткондиционирование - новый метод кардиопротекции / М. Басалай, Л. Полонецкий, С. Савенко // Наука и инновации. – 2015. – Т. 4. –

№ 146. – С. 54-57.

2. Маслов, Л. Н. Основные проявления феномена дистантного посткондиционирования сердца. клиническое применение посткондиционирования / Л. Н. Маслов // *Ангиология и сосудистая хирургия.* – 2016. – Т. 22. – № 3. – С. 16-23.

3. Мрочек, А. Г. Сердечно-сосудистые заболевания в Республике Беларусь: анализ ситуации и стратегии контроля / А. Г. Мрочек [и др.] – Минск: Беларус. навука, 2011. – 341 с.

4. Шляхто, Е. В. Ограничение ишемического и реперфузионного повреждения миокарда с помощью пре- и посткондиционирования: молекулярные механизмы и мишени для фармакотерапии / Е. В. Шляхто, Е. М. Нифонтов, М. М. Галагурда // *Креативная кардиология.* – 2007. – № 1-2. – С. 75-102.

5. Basalay, M. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay, V. Barsukevich, S. Mastitskaya // *Exp. Physiol.* – 2012. – Vol. 97, № 8. – P. 908–917.

6. Clark, C. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size / C. Clark // *J. Pharmacol Methods.* – 1980. – Vol. 3, № 4. – P. 357–368.

7. Ferdinandy, P. Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning and postconditioning / P. Ferdinandy, R. Schulz, G. F. Baxter // *Pharmacol Rev.* – 2007. – Vol. 59, № 4. – P. 418–458.

8. Hausenloy, D. J. Preconditioning and postconditioning: united at reperfusion / D. J. Hausenloy, D. M. Yellon // *Pharmacol. Ther.* – 2007. – Vol. 116, № 2. – P. 173–191.

Репозиторий БИМА