

Сравнительный анализ кардиопротекторной эффективности посткондиционирования с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс и крыс с транзиторной гиперхолестеринемией

Чепелев С. Н.¹, Висмонт Ф. И.¹, Губкин С. В.²

¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь;

²Государственное научное учреждение «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь»

Реферат. Целью исследования явилось проведение сравнительного анализа кардиопротекторной эффективности лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс и крыс с транзиторной гиперхолестеринемией (ГХЕ). Установлено, что лактат после введения в кровотоки животным в дозе 10 мг/кг через 25 мин после начала реперфузии, приводит к уменьшению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка у молодых и старых крыс, что дает основание полагать, что гиперлактатемия инициирует кардиопротекторный эффект дистантного ишемического посткондиционирования. В то же время посткондиционирование с помощью лактата неэффективно в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка у молодых и старых крыс с транзиторной ГХЕ. Таким образом, наличие такого фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний, как ГХЕ может служить критерием для исключения применения посткондиционирования с помощью лактата в качестве способа уменьшения ишемических и реперфузионных повреждений миокарда у пациентов с острым инфарктом миокарда.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, кардиопротекция, лактат, гиперхолестеринемия, возраст.

Введение. В настоящее время ишемическая болезнь сердца (ИБС) является основной причиной смертности в развитых странах мира. Учитывая большую частоту инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с инфарктом миокарда, ИБС представляет собой не только значимую медицинскую, но и важную государственную проблему. В связи с этим поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда и выяснение механизмов их реализации остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины.

В последнее десятилетие объектом повышенного интереса ведущих мировых исследователей в области экспериментальной и клинической кардиологии являются кардиопротекторные (противоишемический и антиаритмический) эффекты дистантного ишемического пре- и посткондиционирования, которые воспроизводятся ишемией конечностей, осуществляемой до или после острой ишемии миокарда соответственно [1, 2].



Так как для эффективного применения любого варианта preconditionирования (локального или дистантного) как меры профилактической кардиопротекции необходимо точно знать, когда наступит ишемия, требующая защиты миокарда, а это практически невозможно, то мощный кардиопротекторный потенциал preconditionирования, как правило, клинически не используется. Следовательно, ишемическое postconditionирование (PostК), особенно дистантное ишемическое postconditionирование (ДИPostК), имеющее несомненное преимущество перед различными вариантами preconditionирования, можно успешно применять в клинической практике наряду с другими рекомендациями. Во-первых, это чрезвычайно безопасно и дешево, а также малоинвазивно; во-вторых, его можно применять при оказании скорой медицинской помощи и ко всем пациентам с ишемией миокарда, получающим реперфузионное лечение.

К настоящему времени накоплен определенный объем знаний о феномене ишемического preconditionирования и его защитном влиянии на миокард. Однако биохимические механизмы кардиопротекции, лежащие в основе инфаркт-лимитирующего эффекта ишемического preconditionирования и особенно ДИPostК при ишемии-реперфузии миокарда, все еще остаются недостаточно изученными [1, 2].

Принимая во внимание известные факты о том, что гипоперфузия, ишемия органов и тканей приводит к повышению уровня молочной кислоты (лактата) в крови, которая оказывает коронарное сосудорасширяющее действие за счет выделения эндотелием сосудов монооксида азота (NO) [3], способна ингибировать перекисное окисление липидов и свободнорадикальные процессы [4], выраженность которых при реперфузии возрастает, и что лактат может использоваться тканями и особенно миокардом после гипоксии в большей степени, чем глюкоза [5], были основания полагать, что повышенный уровень лактата в крови (гиперлактатемия) сможет уменьшить реперфузионное повреждение миокарда. Выдвинутое нами предположение об участии лактата в реализации кардиопротекторных эффектов ДИPostК было подтверждено в наших предыдущих исследованиях [6].

В клинической практике необходимость защиты миокарда от повреждения, вызванного ишемией и реперфузией, чаще всего необходима пациентам с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), к числу которых относятся пожилой возраст и гиперхолестеринемия (ГХЕ).

Принимая во внимание тот факт, что доля пожилых людей в общей численности населения постоянно увеличивается и с возрастом в организме происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения, были основания полагать, что возрастные изменения органов и тканей могут оказывать существенное влияние на кардиопротекторную эффективность лактата у старых крыс.

Общеизвестно, что ишемическая болезнь сердца, развитие инфаркта миокарда чаще всего имеют место у пациентов с атеросклерозом коронарных сосудов, с наличием ГХЕ.

В то же время в современной литературе отсутствуют сведения об особенностях кардиопротекторной эффективности лактата при ишемии-реперфузии миокарда у крыс в условиях наличия таких сопутствующих факторов риска ССЗ, как пожилой возраст и ГХЕ.

Цель работы — провести сравнительный анализ кардиопротекторной эффективности лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс и крыс с транзиторной ГХЕ.

Материалы и методы. Сравнительный анализ кардиопротекторной эффективности лактата проведен на 133 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах, которые были разделены на две возрастные группы: 58 молодых (молод.) крыс, массой 200–250 г, возрастом 4 ± 1 месяц и 75 старых (стар.) крыс, массой 400–450 г, возрастом 24 ± 1 месяц. Из них, с учетом выживаемости животных после острой ишемии миокарда (ОИМ) и последующих процедур, для обработки и анализа результатов исследования было отобрано 96 крыс (по 48 молодых и старых). Все животные в начале эксперимента перед 30-минутной ишемией и последующей 120-минутной реперфузией миокарда были разделены на 8 групп: 1-я — Контроль_{молод} — группа молодых крыс, которым осуществлялась ишемия-реперфузия миокарда ($n = 14$); 2-я — Контроль_{стар} — группа старых крыс, в которой осуществлялась ишемия-реперфузия миокарда ($n = 22$); 3-я — Лактат_{молод} — группа молодых крыс, которой через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену 0,5 мл 40 ммоль/л нейтрализованного раствора лактата ($n = 14$); 4-я — Лактат_{стар} — группа старых крыс, которой через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену 0,5 мл 40 ммоль/л нейтрализованного раствора лактата ($n = 17$); 5-я — ОМ + Лактат_{молод} — группа молодых крыс, которой на протяжении 10 дней один раз в сутки интрагастрально с помощью зонда вводилось оливковое масло в дозе 10 мл/кг с последующей ишемией-реперфузией миокарда, а через 25 мин от начала реперфузии этим животным вводили в левую общую яремную вену 0,5 мл 40 ммоль нейтрализованного раствора лак-

тата ($n = 14$); 6-я — ОМ + Лактат_{стар} — группа старых крыс, которой на протяжении 10 дней один раз в сутки интрагастрально с помощью зонда вводилось оливковое масло в дозе 10 мл/кг с последующей ишемией-реперфузией миокарда, а через 25 мин от начала реперфузии этим животным вводили в левую общую яремную вену 0,5 мл 40 ммоль нейтрализованного раствора лактата ($n = 18$); 7-я — ГХЕ + Лактат_{молод} — группа молодых крыс, которой на протяжении 10 дней один раз в сутки интрагастрально с помощью зонда вводился 10 %-й раствор холестерина (Sigma-Aldrich, США) на оливковом масле в дозе 10 мл/кг с последующей ишемией-реперфузией миокарда, а через 25 мин от начала реперфузии этим животным вводили в левую общую яремную вену 0,5 мл 40 ммоль нейтрализованного раствора лактата ($n = 16$); 8-я — ГХЕ + Лактат_{стар} — группа старых крыс, которой на протяжении 10 дней один раз в сутки интрагастрально с помощью зонда вводился 10 %-й раствор холестерина (Sigma-Aldrich, США) на оливковом масле в дозе 10 мл/кг с последующей ишемией-реперфузией миокарда, а через 25 мин от начала реперфузии этим животным вводили в левую общую яремную вену 0,5 мл 40 ммоль нейтрализованного раствора лактата ($n = 18$).

Эксперименты выполнялись в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также руководствуясь требованиями Европейской Конвенции (от 18 марта 1986 г.) о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях.

Животные содержались в условиях вивария УО «Белорусский государственный медицинский университет» в соответствии с нормативами индивидуального размещения. Рацион крыс состоял из комбикорма КК-92 / ПХЧ-5, количество которого определялось нормами кормления лабораторных животных. Питательный режим соответствовал принципу *ad libitum*. Световой режим соответствовал естественному уровню освещенности в течение суток. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20–25 °С, что находится в пределах термонейтральной зоны для крыс. Относительная влажность воздуха составляла 50–70 %. При содержании животных особое внимание уделялось шумовому режиму, так как высокий уровень шума способствует развитию стресса у крыс. Все манипуляции с животными проводились в течение дня с 8.00 до 18.00. Формирование экспериментальных групп животных осуществлялось методом случайной выборки.

Транзиторную ГХЕ у крыс вызывали интрагастральным введением с помощью зонда 10 %-го раствора холестерина (Sigma-Aldrich, США) на оливковом масле, в дозе 10 мл/кг один раз в сутки на протяжении 10 дней. Животным контрольной группы без ГХЕ вводили оливковое масло, в дозе 10 мл/кг один раз в сутки на протяжении 10 дней. Для подтверждения ГХЕ у животных с помощью автоматического биохимического анализатора A25 Random Access Analyzer (BioSystems S. A., Испания) определялось содержание триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ) в сыворотке крови. Воспроизведение экспериментальных протоколов выполнялось через 24 ч после последнего введения холестерина на оливковом масле либо только оливкового масла.

Моделирование острой коронарной недостаточности у крыс осуществляли по методике, предложенной С. Clark с соавт. (1980). Для наркотизации животных использовали тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией в левую общую яремную вену поддерживающей дозы 10 мг/кг·ч с помощью инъекционного насоса В. Braun (Германия). Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом через трахеостому при помощи аппарата искусственной вентиляции легких (Harvard, Великобритания) с частотой дыхания 56–60 в мин и дыхательным объемом 1,0–1,2 мл / 100 г массы тела животного. Наличие проходимости дыхательных путей контролировалось по давлению в трахее, нормальным значением которого на вдохе считалось 10–15 мм рт. ст. В ходе экспериментов непрерывно регистрировались ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД, а полученные при этом данные обрабатывались с помощью компьютерной программы Spike 4 (Великобритания). Для измерения АД прямым методом крысам канюлировали правую общую сонную артерию. Температура тела измерялась в прямой кишке с помощью электротермометра (Harvard, Великобритания) и поддерживалась электрогрелкой на уровне $37,0 \pm 0,5$ °С. Грудную клетку наркотизированного животного вскрывали в IV межреберном промежутке слева. После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам выполняли 30-минутную окклюзию передней нисходящей ветви левой коронарной артерии (ЛКА) путем механического ее пережатия при помощи лигатуры. Согласно современным экспериментальным данным считается, что длительность коронарной окклюзии у крыс, равная 30–40 мин, является достаточной для формирования зоны некроза миокарда, составляющей около 50 % от зоны риска. Окклюзия артерии подтверждалась цианозом ишемизированной области, снижением (на 10–20 мм рт. ст.) артериального давления (АД) и подъемом сегмента ST на электрокардиограмме (ЭКГ). Реперфузия миокарда достигалась снятием лигатуры и подтверждалась исчезновением цианоза и возвращением сегмента ST к изолинии. Длительность реперфузии составляла 120 мин, поскольку, согласно имеющимся литературным данным,

указанный интервал времени является достаточным для формирования в миокарде крыс зоны некроза.

На протяжении эксперимента у животных изучались следующие показатели гемодинамики: АД_{ср} (мм рт. ст.), ЧСС (уд/мин) и ДП (уд/мин·мм рт. ст.). АД_{ср} рассчитывали как АД диастолическое + 1/3(АД систолическое — АД диастолическое); ДП — как (ЧСС×АД систолическое)/100. Показатели гемодинамики регистрировались непрерывно в течение эксперимента и оценивались в конце 15-минутной стабилизации гемодинамики после вскрытия грудной клетки, в начале 30-минутной окклюзии ЛКА, в начале реперфузии миокарда, а также каждые 30 мин в течение периода реперфузии. Значения гемодинамических показателей в конце 15-минутной стабилизации гемодинамики после вскрытия грудной клетки принимались в качестве исходных значений данных показателей.

Критериями исключения животных из эксперимента, согласно «Практическим рекомендациям по изучению нарушений ритма сердца, обусловленных ишемией и реперфузией» (1988), являлись: АД_{ср} до начала эксперимента менее 60 мм рт. ст., ЧСС менее 300 уд/мин, а также наличие у животных желудочковых экстрасистол до начала острой ишемии миокарда.

Для оценки антиаритмического эффекта подсчитывали общую длительность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной острой коронарной окклюзии — фибрилляции желудочков (ФЖ), пароксизмальной желудочковой тахикардии (ПЖТ), парной желудочковой экстрасистолии, желудочковой экстрасистолии по типу бигеминии, также определяли наличие реперфузионных нарушений сердечного ритма.

Зону риска определяли путем введения в левую общую яремную вену 0,5 мл 5%-го раствора синьки Эванса (Sigma-Aldrich, США) в конце реперфузии при повторном кратковременном пережатии лигатурой ЛКА. Для идентификации зоны риска в миокарде левого желудочка крыс использовали метод, основанный на определении активности дегидрогеназ. Зону риска определяли как зону, не окрашенную в синий цвет. Затем сердце извлекали и отделяли от него левый желудочек. После замораживания в морозильной камере (при –20 °С в течение 30 мин) левый желудочек разрезали на 6 поперечных срезов, которые затем взвешивали и сканировали с обеих сторон при помощи сканера Epson.

При помощи компьютерной планиметрии с использованием программы Adobe Photoshop СС 2017 для каждого среза определяли отношение средней площади зоны риска в каждом срезе к средней площади всего среза. Массу зоны риска ($m_{\text{риска}}$) в каждом срезе вычисляли по формуле

$$m_{\text{риска}} = \frac{\bar{S}_{\text{риска}} \cdot m_{\text{среза}}}{\bar{S}_{\text{среза}}},$$

где $\bar{S}_{\text{риска}}$ — средняя площадь зоны риска в каждом срезе; $m_{\text{среза}}$ — масса всего среза; $\bar{S}_{\text{среза}}$ — средняя площадь всего среза.

Для расчета общей зоны риска (Зона_{риска}), %, использовали следующую формулу:

$$\text{Зона}_{\text{риска}} = \frac{\sum m_{\text{риска}}}{m_{\text{ЛЖ}}} \cdot 100 \%,$$

где $\sum m_{\text{риска}}$ — арифметическая сумма значений масс зон риска всех срезов левого желудочка; $m_{\text{ЛЖ}}$ — масса левого желудочка.

После этого для идентификации зоны некроза срезы помещали в 1%-й раствор 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида на 15 мин при температуре 37,0 °С. Жизнеспособный миокард (клетки, сохранившие дегидрогеназную активность) окрашивался в кирпично-красный цвет, а некротизированная ткань была бледно-желтой. После 24-часовой инкубации срезов в 10%-м растворе формалина в термостате при температуре 37,0 °С срезы сканировали повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза. При помощи компьютерной планиметрии для каждого среза миокарда левого желудочка определяли отношение средней площади зоны некроза в каждом срезе ($\bar{S}_{\text{некроза}}$) к средней площади всего среза ($\bar{S}_{\text{среза}}$). Массу зоны некроза в каждом срезе ($m_{\text{некроза}}$) для каждого отдельного среза вычисляли по формуле

$$m_{\text{некроза}} = \frac{\bar{S}_{\text{некроза}} \cdot m_{\text{среза}}}{\bar{S}_{\text{среза}}},$$

где $\bar{S}_{\text{некроза}}$ — средняя площадь зоны некроза в каждом срезе; $m_{\text{среза}}$ — масса всего среза; $\bar{S}_{\text{среза}}$ — средняя площадь всего среза.

Для расчета общей зоны некроза ($\text{Зона}_{\text{некроза}}$), %, в миокарде левого желудочка крыс использовали формулу

$$\text{Зона}_{\text{некроза}} = \frac{\sum m_{\text{некроза}}}{\sum m_{\text{риска}}} \cdot 100 \%,$$

где $\sum m_{\text{некроза}}$ — арифметическая сумма значений масс зон некроза всех срезов левого желудочка.

Изучение кардиопротекторной эффективности лактата при ишемии-реперфузии миокарда у крыс проводилось у животных, которым через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену 0,5 мл 40 ммоль нейтрализованного раствора молочной кислоты (L-(+)-Lactic acid, $\geq 98 \%$, (Sigma-Aldrich, США)), т. е. в дозе 10 мг/кг. Нейтрализованный лактат готовили растворением молочной кислоты в 0,9%-м растворе NaCl для инъекций с последующим доведением pH до 7,4 с помощью NaOH (10 N).

Доза лактата (10 мг/кг) была выбрана нами с целью обеспечить уровень лактата в крови близкий к тому, что имел место после 15-минутного наложения лигатур на обеих бедренных артериях [6].

Уровень лактата в цельной крови, взятой из левой общей яремной вены, определяли при помощи анализатора Lactate Pro 2 (Arkgray, Япония) малообъемным методом с использованием тест-полосок Lactate Pro 2 Test Strip для биохимических исследований (Arkgray, Япония).

Полученные в исследовании результаты анализировали с использованием стандартных пакетов статистических программ Statistica 13.3. Для оценки нормальности распределения анализируемых показателей применяли критерий Колмогорова – Смирнова. Статистическую значимость различий полученных данных в случае их параметрического распределения оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони. Результаты исследования при их параметрическом распределении представляли в виде среднего \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Для оценки статистической значимости различий данных в случае их непараметрического распределения использовали критерий Краскала – Уоллиса и тест множественных сравнений Данна. При непараметрическом распределении результаты исследования были представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля). Уровень $p < 0,05$ рассматривали как статистически значимый.

Результаты и их обсуждение. Выживаемость крыс после острой коронарной окклюзии составила 72,2 % (37 крыс из 133 погибли в период острой ишемии миокарда и последующей реперфузии). При этом в группе Контроль_{молод} выживаемость животных составила 85,7 %, в группе Контроль_{стар} — 54,5 %, в группе Лактат_{молод} — 85,7 %, в группе Лактат_{стар} — 70,6 %, в группе ОМ + Лактат_{молод} — 85,7 %, в группе ОМ + Лактат_{стар} — 66,7 %, в группе ГХЕ + Лактат_{молод} — 75,0 % и в группе ГХЕ + Лактат_{стар} — 66,7 %. Так, у старых крыс за время 30-минутной ишемии миокарда и последующей 120-минутной реперфузии имело место более чем 2-кратное снижение выживаемости по сравнению с молодыми крысами (погибло 27 старых и 10 молодых крыс), что свидетельствует о снижении устойчивости миокарда старых крыс к повреждению, вызванному его длительной ишемией и реперфузией. Таким образом, количество животных в экспериментальных группах с учетом их выживаемости стало по 12 крыс в каждой.

У крыс с транзиторной ГХЕ содержание ТГ в сыворотке крови составило $1,53 \pm 0,13$ ммоль/л ($p < 0,01$), ОХ — $5,86 \pm 0,43$ ммоль/л ($p < 0,01$). У крыс контрольной группы без ГХЕ содержание ТГ составило $0,26 \pm 0,06$ ммоль/л, ОХ — $2,81 \pm 0,07$ ммоль/л. Таким образом, у крыс с ГХЕ имело место статистически значимое повышение содержания в сыворотке крови ТГ в 5,9 раз и ОХ в 2,1 раза по сравнению с их содержанием у крыс контрольной группы без ГХЕ ($p < 0,01$).

Во всех анализируемых группах старых и молодых крыс АД_{ср} и ЧСС на протяжении эксперимента статистически значимо не изменялись по сравнению с их исходными значениями.

При проведении исследования установлено, что величина ДП в анализируемых группах крыс до начала острой коронарной окклюзии статистически значимо не различалась. Кроме того, на протяжении эксперимента во всех экспериментальных группах крыс отличий ДП от своих исходных значений также не выявлено ($p > 0,05$). Следовательно, были основания полагать, что животные всех анализируемых групп до начала эксперимента характеризовались сходной потребностью миокарда в кислороде.

При изучении антиаритмической эффективности лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс и крыс с транзиторной ГХЕ были получены следующие результаты продолжительности аритмий в исследуемых группах: Контроль_{молод} — 167 (49; 233); Контроль_{стар} — 237 (128; 331); Лактат_{молод} — 145 (27; 192); Лактат_{стар} — 174 (86; 237); ОМ + Лактат_{молод} — 153 (52; 208); ОМ + Лактат_{стар} — 158 (72; 241); ГХЕ + Лактат_{молод} — 195 (98; 324); ГХЕ + Лактат_{стар} — 259 (143; 351).



В ходе исследования также установлено, что в группе Контроль_{молод.} у 9 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а у 11 животных данной группы была выявлена ПЖТ. Реперфузионные нарушения сердечного ритма имели место у 10 крыс данной группы. В группе Контроль_{стар} в период острой коронарной окклюзии у 11 из 12 крыс отмечались ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались также у 11 животных данной группы. В группе Лактат_{молод} в период острой коронарной окклюзии у 9 из 12 крыс отмечалась ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 7 животных данной группы. В группе Лактат_{стар} в период острой коронарной окклюзии у 11 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а ПЖТ имела место у 10 крыс. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 8 животных данной группы. В группе ОМ + Лактат_{молод} в период 30-минутной ишемии миокарда ФЖ и ПЖТ были выявлены у 10 из 12 животных. Реперфузионные аритмии имели место у 9 животных данной группы. В группе ОМ + Лактат_{стар} в период острой коронарной окклюзии у 12 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а ПЖТ имела место у 11 крыс. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 9 животных данной группы. В группе ГХЕ + Лактат_{молод} в период острой коронарной окклюзии у 11 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а ПЖТ имела место у 12 крыс. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 10 животных данной группы. В группе ГХЕ + Лактат_{стар} в период острой коронарной окклюзии у всех крыс отмечались ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались также у 11 животных данной группы.

Таким образом, длительность ишемических нарушений сердечного ритма в исследуемых группах старых и молодых крыс при помощи ПостК лактатом сопоставима с таковой в группах контроля, что вполне объяснимо, учитывая то, что введение животным через 25 мин от начала реперфузии лактата не могло оказывать влияние на выраженность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной ОИМ. Тем не менее, в группах ПостК с помощью лактата имеется тенденция к снижению частоты встречаемости реперфузионных нарушений ритма и общей длительности нарушений сердечного ритма по сравнению с аналогичными контрольными группами без применения лактата.

При изучении инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс и крыс с транзиторной ГХЕ статистически значимых различий между анализируемыми группами по показателю размера зоны риска в миокарде левого желудочка не выявлено.

Размер инфаркта является важным показателем повреждения миокарда из-за его влияния на сократимость сердца. Установлено, что размер зоны некроза в миокарде левого желудочка у животных в группе Контроль_{молод} составил $45 \pm 4 \%$, а в группе Контроль_{стар} — $47 \pm 5 \%$. После внутривенного введения животным лактата (10 мг/кг), которое осуществлялось через 25 мин после начала реперфузии, у крыс при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались следующие размеры зон некроза: в группе Лактат_{молод} — $33 \pm 3 \%$ ($p < 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{молод}), а в группе Лактат_{стар} — $35 \pm 4 \%$ ($p < 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{стар}). Размер зоны некроза в группах молодых и старых животных, которым ежедневно интрагастрально с помощью зонда вводилось оливковое масло в дозе 10 мл/кг на протяжении 10 дней был следующим: в группе ОМ + Лактат_{молод} — $35 \pm 3 \%$ ($p < 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{молод}), а в группе ОМ + Лактат_{стар} — $37 \pm 5 \%$ ($p < 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{стар}). После 10-дневного введения молодым и старым крысам 10%-го раствора холестерина на оливковом масле в дозе 10 мл/кг размер зоны некроза статистически значимо не отличался от исходного ($p > 0,05$): в группе ГХЕ + Лактат_{молод} — $42 \pm 5 \%$, а в группе ГХЕ + Лактат_{стар} — $44 \pm 4 \%$ (рисунок).

Следовательно, полученные данные исследования свидетельствуют об отсутствии инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата у молодых и старых крыс с ГХЕ. У молодых и старых крыс без ГХЕ, напротив, воспроизводится выраженный инфаркт-лимитирующий эффект ПостК с помощью лактата.

Согласно современным представлениям размер очага некроза в миокарде зависит от множества факторов, в частности от длительности ишемии миокарда, состояния сосудистого русла, размера зоны риска, температуры тела, наличия сопутствующих заболеваний и нарушений обмена веществ, в том числе липидного обмена. В исследовании длительность ишемии миокарда и температура тела животных имели одинаковые значения во всех экспериментальных группах. Учитывая непродолжительный период (10 дней) экспериментального моделирования транзиторной ГХЕ, маловероятно, что в стенке кровеносных сосудов крыс с ГХЕ произошли значимые морфологические изменения, связанные с вызванным нарушением липидного обмена. Кроме того, согласно литературным данным, потребление крысами богатой холестерином пищи в течение длительного периода времени не приводит к развитию атеросклеротических изменений в сосудах.

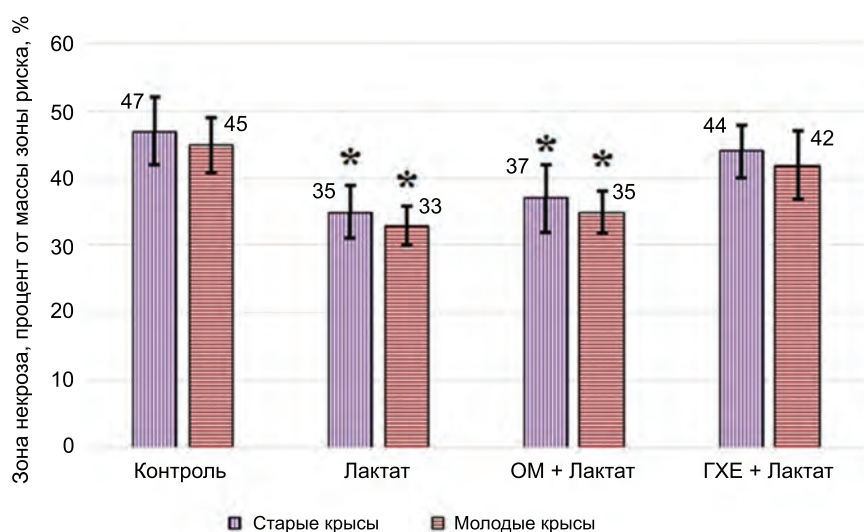


Рисунок — Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка (в процентах от массы зоны риска) в исследуемых группах молодых и старых крыс (* $p < 0,05$ по сравнению с соответствующими возрастными группами контроля)

Многочисленные экспериментальные исследования посвящены выявлению возможных причин отсутствия инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК у экспериментальных животных с ГХЕ. При этом большинство авторов указывает на повреждение различных компонентов RISK-киназного пути (*the Reperfusion Injury Salvage Kinase*), который инициируется при стимуляции рецепторов, связанных с G-белком (GPCRs), и имеет важное значение в реализации кардиопротекторных эффектов ПостК. В частности, отсутствие инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК у животных с экспериментальной моделью ГХЕ сопровождается существенным снижением фосфорилирования киназы гликогенсинтазы β [7], а также Akt (протеинкиназа B), ERK (*Extracellular signal-regulated kinases*), p70 рибосомальной S6 киназы (p70S6K) [8].

Кроме того, в исследовании M. Sack с соавт. (2011) установлено, что в условиях ГХЕ у экспериментальных животных отсутствие инфаркт-лимитирующего эффекта при ишемии-реперфузии миокарда может быть связано с нарушением синтеза монооксида азота (NO), который также имеет важное значение в реализации кардиопротекторных эффектов ПостК [9]. В частности, при ГХЕ нарастающая митохондриальная дисфункция приводит к повышению оксидации тетрагидробиоптерина (ТГБП), что приводит к снижению его содержания в клетке. Потеря ТГБП как молекулы-кофактора эндотелиальной NO-синтазы приводит к значительному снижению активности данного фермента.

Таким образом, принимая во внимание имеющиеся литературные данные, можно предположить, что повреждение RISK-киназного пути и нарушение синтеза NO у животных с ГХЕ могут объяснять отсутствие инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата у молодых и старых крыс с транзиторной ГХЕ.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что лактат после введения в кровоток животным в дозе 10 мг/кг через 25 мин после начала реперфузии приводит к уменьшению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка как у молодых, так и у старых крыс, что дает основание полагать, что гиперлактатемия может инициировать кардиопротекторный эффект ДИПостК. Однако ПостК с помощью лактата неэффективно в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка у молодых и старых крыс с транзиторной ГХЕ. Следовательно, наличие такого фактора риска ССЗ как ГХЕ может служить критерием для исключения применения ПостК с помощью лактата в качестве способа уменьшения ишемических и реперфузионных повреждений миокарда у пациентов с острым инфарктом миокарда.

Полученные знания о биохимических механизмах кардиопротекторной эффективности ДИПостК послужат научным обоснованием разработки новых подходов к профилактике и лечению ССЗ, патогенез которых связан с недостаточным кровоснабжением миокарда и тканевой гипоксии.

Литература

1. Heusch, G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning / G. Heusch // *Circulation Research*. — 2015. — Vol. 116. — P. 674–699.
2. Кардиопротективные эффекты ишемического кондиционирования: современные представления о механизмах, экспериментальные подтверждения, клиническая реализация / А. Е. Баутин [и др.] // *Трансляционная медицина*. — 2016. — Т. 3, № 1. — С. 50–62.
3. Чепелев, С. Н. О значимости монооксида азота в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс / С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт // *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук*. — 2020. — Т. 17, № 3. — С. 353–364.
4. Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an in vitro study / C. Groussard [et al.] // *J. Appl. Physiol.* (1985). — 2000. — Vol. 89, № 1. — P. 169–175.
5. Клинические аспекты динамики лактата крови во время операции на сердце и аорте в условиях искусственного кровообращения / Н. А. Трекова [и др.] // *Анестезиология и реанимация*. — 2016. — Т. 61, № 5. — С. 324–329.
6. Чепелев, С. Н. О значимости гиперлактатемии в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте / С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт, С. В. Губкин // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. — 2020. — Т. 64, № 3. — С. 332–340.
7. Hypercholesterolemia abrogates the cardioprotection of ischemic postconditioning in isolated rat heart: roles of glycogen synthase kinase-3 β and the mitochondrial permeability transition pore / N. Wu [et al.] // *Cell. Biochem. Biophys.* — 2014. — Vol. 69, № 1. — P. 123–130.
8. High cholesterol diet effects on ischemia-reperfusion injury of the heart / V. D'Annunzio [et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 2012. — Vol. 90, № 9. — P. 1185–1196.
9. Sack, M. The role of comorbidities in cardioprotection / M. Sack, E. Murphy // *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* — 2011. — Vol. 16, № 3–4. — P. 267–272.

Comparative analysis of cardioprotective efficiency of postconditioning with lactate in ischemia-reperfusion of the myocardium in young and old rats and rats with transitional hypercholesterinemia

Chepelev S. N.¹, Vismont F. I.¹, Goubkin S. V.²

¹*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus;*

²*State Scientific Institution «Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Republic of Belarus*

The aim of the study was to conduct a comparative analysis of the cardioprotective efficiency of lactate in ischemia-reperfusion of the myocardium in young and old rats and rats with transient hypercholesterolemia (HCE). It was found that lactate, after injection into the bloodflow of rats at a dose of 10 mg/kg 25 min after the onset of reperfusion, leads to a decrease in the size of the necrosis zone in the left ventricular of myocardium in young and old rats, which suggests that hyperlactatemia initiates the cardioprotective effect of remote ischemic postconditioning. At the same time, postconditioning with lactate is not effective in limiting the size of the zone of necrosis in the left ventricular of myocardium in young and old rats with transient HCE. Thus, the presence of such a risk factor for cardiovascular diseases as HCE can serve as a criterion for excluding the use of postconditioning with lactate as a way to reduce ischemic and reperfusion damage to the myocardium in patients with acute myocardial infarction.

Keywords: ischemia, reperfusion, cardioprotection, lactate, hypercholesterolemia, age.

Поступила 14.06.2021

