

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА НА КАРДИОПРОТЕКТОРНУЮ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА

Чепелев С.Н., Висмонт Ф.И.

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

Ключевые слова: дистантное ишемическое посткондиционирование, инфаркт миокарда, возраст, аритмии, зона некроза.

Резюме: в ходе исследования установлено, что дистантное ишемическое посткондиционирование эффективно в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс и не эффективно в плане снижения продолжительности нарушений сердечного ритма во время острой ишемии-реперфузии миокарда у этих животных.

Resume: the study found that remote ischemic postconditioning is effective in limiting the size of the necrosis zone in the left ventricular myocardium during ischemia-reperfusion of myocardium in old rats and is not effective in reducing the duration of cardiac rhythm disturbances during acute ischemia-reperfusion of myocardium in these animals.

Актуальность. В настоящее время ишемическая болезнь сердца (ИБС) является основной причиной смертности в большинстве развитых стран мира [2]. Принимая во внимание большую частоту инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с инфарктом миокарда, ИБС представляет собой не только значительную медицинскую, но и важную государственную проблему. В связи с этим поиски новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического и аритмического повреждения сердца и механизмов их реализации остаются существенной задачей современной клинической и экспериментальной медицины и важным направлением исследований в физиологии [1, 2].

В последние годы объектом повышенного внимания ведущих мировых ученых в области клинической и экспериментальной кардиологии являются кардиопротекторные (противоишемический и антиаритмический) эффекты дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПостК). Данный феномен воспроизводится ишемией конечности, осуществляемой после острой ишемии миокарда [3, 6, 8].

В клинической практике необходимость кардиопротекции от ишемического и реперфузионного повреждения чаще необходима пациентам с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), к которым относится и пожилой возраст [5, 6, 7, 9].

Вопросу, воспроизводится ли противоишемический и антиаритмический эффекты ДИПостК у старых животных, посвящен ряд экспериментальных исследований, причем результаты данных исследований весьма противоречивы [5, 6, 7, 9]. Причины такого расхождения результатов исследования до сих пор не выяснены. Согласно литературным данным, в миокарде старых животных имеет

место значительное снижение содержания креатинфосфата и АТФ, что оказывает существенное влияние на энергетический баланс кардиомиоцитов и их отдельных структур, в частности, АТФ-зависимых калиевых каналов [7]. Кроме того, у старых животных имеет место снижение тонуса *n. vagus*. Отсюда следует предположение, что указанные возрастные изменения миокарда животных могут оказывать существенное влияние на воспроизводимость кардиопротекторных эффектов ДИПостК.

Цель: выяснение воспроизводимости противоишемических и антиаритмических эффектов ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс.

Задачи: 1. Выяснение воспроизводимости противоишемических эффектов ДИПостК при ишемии и реперфузии миокарда у старых крыс; 2. Выяснение эффективности ДИПостК в снижении длительности нарушений сердечного ритма при ишемии и реперфузии миокарда у старых крыс.

Материалы и методы. Исследование эффективности ДИПостК выполнено на 42 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах, разделенных на две возрастные группы: 14 молодых крыс, масса которых составляла 200-240 г, а возраст – 4 ± 1 мес. и 28 старых крыс, массой 400-450 г, возраст которых составлял 24 ± 1 мес.

Для наркотизации животных использовали тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг/час. Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом при помощи аппарата ИВЛ с частотой дыхания 56-60 в минуту. Температура тела измерялась ректально с помощью электротермометра Harvard (Великобритания) и поддерживалась электрогрелкой на уровне $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Грудную клетку наркотизированного животного вскрывали в четвертом межреберном промежутке слева.

Острую коронарную недостаточность у крыс воспроизводили по методике, описанной С.Clark et al. [4]. После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам выполняли 30-минутную окклюзию левой коронарной артерии (ЛКА) путем механического ее пережатия при помощи фишки. Реперфузия миокарда достигалась удалением фишки, длительность реперфузии составляла 120 минут.

ДИПостК выполняли в соответствии с протоколом исследования, представленным М.Basalay и соавт. [3], согласно которому животные опытных групп (ДИПостК) дополнительно подвергались воздействию 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий через 10 мин после 30-минутной острой ишемии миокарда. В ходе эксперимента непрерывно регистрировались ЭКГ во II стандартном отведении и системное артериальное давление (АД), полученные при этом данные обрабатывались с помощью компьютерной программы Spike 4. Для определения АД крысам канюлировали правую общую сонную артерию.

Зону риска выявляли введением в левую общую яремную вену 0,5 мл 5% раствора Эванса синий в конце периода реперфузии миокарда при кратковременной повторной окклюзии ЛКА. Зона риска определялась как зона, не окрашенная в синий цвет. Затем сердце извлекали и отделяли левый желудочек. После замораживания в морозильной камере (-20°C в течение 30 мин) левый желудочек разрезали на 6

поперечных срезов. Срезы взвешивали, затем их сканировали с обеих сторон. После этого, для идентификации зоны некроза, срезы помещали в 1% раствор трифенилтетразолия хлорида на 15 минут при температуре 37°C. Жизнеспособный миокард окрашивался в кирпично-красный цвет, а некротизированная ткань была белесой. После 24-часовой инкубации срезов в 10% растворе формалина срезы сканировали повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза. При помощи компьютерной планиметрии и взвешивания срезов миокарда левого желудочка определяли соотношение масс зон риска и некроза с использованием программы Adobe Photoshop CS.

Для оценки антиаритмического эффекта ДИПостК подсчитывалась общая длительность аритмий – пароксизмальные желудочковые тахикардии, фибрилляции желудочков, желудочковые бигеминии, парные желудочковые экстрасистолы – при ишемии-реперфузии миокарда.

Полученные в исследовании результаты анализировались с использованием стандартных пакетов статистических программ Statistica 8.0 и GraphPad Prism. Для оценки нормальности распределения анализируемых показателей применялся 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 представлялись в виде: среднее \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Для оценки статистической значимости различий данных в случае их непараметрического распределения использовали критерий Крускала-Уоллиса и тест множественных сравнений Данна. При непараметрическом распределении результаты исследования были представлены в виде: медиана и интерквартильный размах (25-й; 75-й процентиля).

Результаты и их обсуждение. Показатель выживаемости после острой ишемии миокарда у старых крыс составил 50,0% (14 старых крыс из 28 погибли после острой коронарной окклюзии). При этом в группе Контроль_{стар} выживаемость животных составила 63,6%, в группе ДИПостК_{стар} – 41,2%. В результате из каждой экспериментальной группы старых крыс для последующего анализа данных было отобрано по 7 животных. Во всех экспериментальных группах молодых крыс во время острой коронарной недостаточности наблюдалась 100%-ая выживаемость животных. Таким образом, у старых крыс во время 30-минутной ишемии миокарда имело место 2-х кратное снижение выживаемости животных по сравнению с молодыми крысами ($p < 0,01$), что свидетельствует о снижении устойчивости миокарда старых крыс к повреждению, вызванному его длительной ишемией.

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.

У старых крыс длительность нарушений сердечного ритма во время ишемии-реперфузии миокарда в группе Контроль_{стар} составила 75 (44; 164) с, в группе ДИПостК_{стар} – 72 (33; 226) с. У молодых крыс в группе Контроль были выявлены ишемические нарушения сердечного ритма продолжительностью 198 (14; 239) с, в

Фундаментальная медицина

группе ДИПостК – 153 (109; 166) с ($p < 0,05$ по сравнению с группой Контроль) (рис. 1).

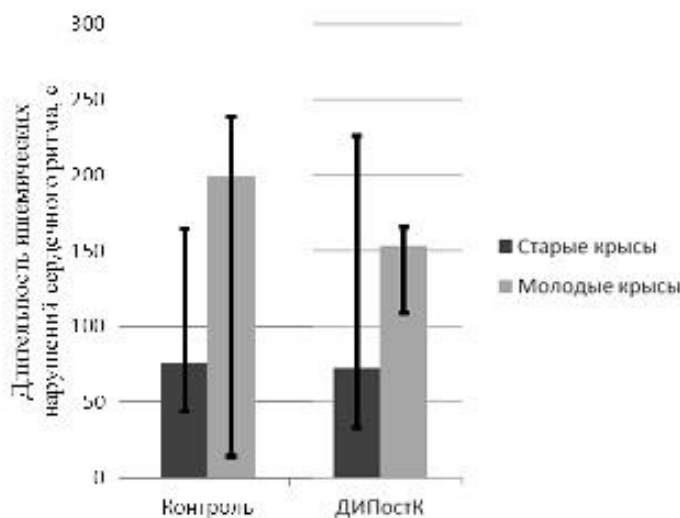


Рис. 1 – Длительность нарушений сердечного ритма во время ишемии-реперфузии миокарда у старых и молодых крыс

При выполнении исследования также установлено, что во время острой ишемии миокарда в группе Контроль_{стар} у 4 из 7 крыс отмечалась ФЖ, а у 6 из 7 животных была выявлена ПЖТ. Реперфузионные нарушения сердечного ритма имели место у 6 крыс группы Контроль_{стар}. В группе ДИПК_{стар} во время 30-минутной ишемии миокарда ФЖ и ПЖТ наблюдались у 4 из 7 крыс ($p > 0,05$). В период реперфузии миокарда в группе ДИПК_{стар} нарушения сердечного ритма были выявлены у 3 крыс данной группы ($p > 0,05$). В группе ДИПостК_{стар} в период острой коронарной окклюзии у 3 из 7 крыс отмечалась ФЖ, а ПЖТ имела место у 4 крыс данной группы ($p > 0,05$). Реперфузионные нарушения сердечного ритма наблюдались у 5 животных группы ДИПостК_{стар} ($p > 0,05$).

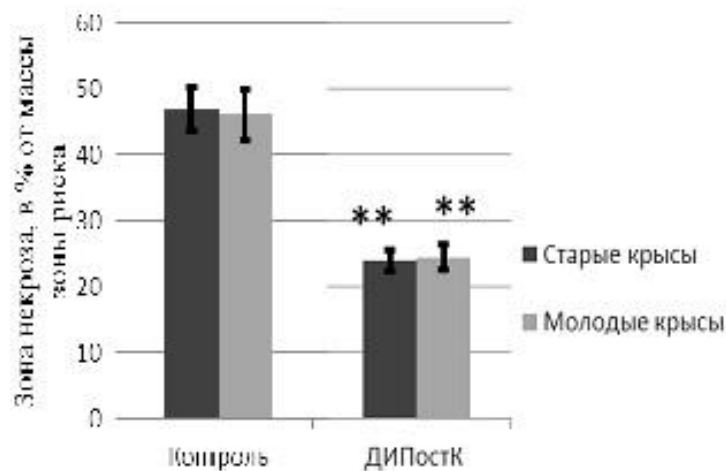
Выявлено, что у старых и молодых крыс длительность аритмий во время 30-минутной острой ишемии миокарда в группах Контроль_{стар} и ДИПостК_{стар}, и, соответственно, в группах Контроль и ДИПостК сопоставима, что вполне очевидно, учитывая тот факт, что ДИПостК не может оказывать влияние на нарушения сердечного ритма во время острой ишемии миокарда, так как воспроизводился на 10-ой минуте реперфузии.

Установлено, что в группе ДИПостК_{стар} имеет место статистически незначимое увеличение длительности ишемических нарушений сердечного ритма по сравнению с группой Контроль_{стар}. Следовательно, у старых крыс ДИПостК не оказывает антиаритмический эффект. У молодых крыс в группе ДИПостК, напротив, наблюдается статистически значимое снижение продолжительности аритмий во время 30-минутной коронарной окклюзии по сравнению с группой Контроль, что свидетельствует о наличии у молодых крыс выраженного антиаритмического эффекта ДИПостК.

У старых крыс отмечались следующие размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка: в группе Контроль_{стар} – 47 ± 3 %, в группе ДИПостК_{стар} – 24 ± 2 % ($p < 0,01$

Фундаментальная медицина

по сравнению с группой Контроль_{стар}). У молодых крыс размер зоны некроза в группе Контроль составил 46 ± 4 %, в группе ДИПостК – 25 ± 2 % ($p < 0,01$) (рис. 2).



** - $p < 0,01$ – различия статистически значимы

Рис. 2 – Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка у старых и молодых крыс

Таким образом, в группах старых и молодых крыс с острой коронарной недостаточностью, в которых воспроизводили ДИПостК, выявлено статистически значимое снижение размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка по сравнению с соответствующей контрольной группой.

Выводы: 1. ДИПостК эффективно в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс. 2. У старых крыс антиаритмический эффект ДИПостК не воспроизводится.

Литература

1. Любимов, А. В. Ишемия, реперфузия и прекодиционирование: традиционные и новые подходы в лечении инфаркта миокарда / А. В. Любимов, П. Д. Шабанов // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* – 2016. – Т. 14, №3. – С. 3-11.
2. Шляхто, Е. В. Основные направления и перспективы трансляционных исследований в кардиологии / Е. В. Шляхто, А. О. Конради // *Вестник Росздравнадзора.* – 2015. – № 5. – С. 33-37.
3. 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.
4. 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.
5. Juhaszova, M. Protection in the aged heart: preventing the heart-break of old age? / M. Juhaszova, C. Rabel, D. B. Zorov // *Cardiovasc Res.* – 2005. – № 66. – P. 233-244.
6. Przyklenk, K. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with postconditioning / K. Przyklenk, M. Maynard, C. E. Darling // *J Am Coll Cardiol.* – 2008. – Vol. 51, № 14. – P. 1393–1398.
7. Randhawa, P. K. Conditioning-induced cardioprotection: Aging as a confounding factor / P. K. Randhawa, A. Bali, J. K. Viridi // *Korean J Physiol Pharmacol.* – 2018. – № 5. – P. 467-479.
8. Schmidt, M.R. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation / M.R.Schmidt, S.B.Kristiansen, H.E. Botker // *Circ. Res.* – 2013. – Vol.113, № 12. – P. 1278-1280.
9. Whittington, H. J. Cardioprotection in the aging, diabetic heart: the loss of protective Akt signaling / H. J. Whittington, I. Harding, C. I. Stephenson // *Cardiovasc Res.* – 2013. – № 99. – P. 694-704.