

# ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКАЯ И АНТИАРИТМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕ- И ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРFUЗИИ МИОКАРДА У СТАРЫХ КРЫС И КРЫС С ГИПЕРЛИПИДЕМИЕЙ

Чепелев С.Н., Висмонт Ф.И.

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

**Ключевые слова:** гиперлипидемия; зона некроза; пре- и посткондиционирование; старые крысы; ишемия-реперфузия; миокард.

**Резюме:** исследование посвящено выяснению кардиопротекторной эффективности дистантного ишемического пре- и посткондиционирования (ДИПК, ДИПостК) при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс и крыс гиперлипидемией (ГЛЕ). Установлено, что ДИПК и ДИПостК не эффективны в плане снижения длительности аритмий при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс, однако эффективны в плане ограничения размеров зоны некроза миокарда левого желудочка. У крыс с ГЛЕ, напротив, наблюдается выраженный антиаритмический эффект ДИПК и ДИПостК, однако противоишемический эффект отсутствует.

**Resume:** the study is devoted to elucidating the cardioprotective effectiveness of remote ischemic pre- and postconditioning (RIPC, RIPostC) in case of ischemia and reperfusion of myocardium in old rats and rats with hyperlipidemia (HLE). It was found that RIPC and RIPostC are not effective in reducing the duration of arrhythmias in case of ischemia and reperfusion of myocardium in old rats, but are effective in limiting the size of the left ventricular myocardial necrosis area. In rats with HLE, on the contrary, there is a pronounced antiarrhythmic effect of RIPC and RIPostC, but there is no antiischemic effect.

**Актуальность.** Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является основной причиной смертности в большинстве развитых стран мира [1, 5, 8]. Учитывая большую частоту инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с инфарктом миокарда, ИБС представляет собой значимую социально-экономическую проблему. Актуальная задача современной экспериментальной и клинической медицины – поиск новых, эффективных методов кардиопротекции.

В последние годы объектом повышенного внимания ведущих мировых ученых в области клинической и экспериментальной кардиологии являются кардиопротекторные эффекты дистантного ишемического пре- и посткондиционирования (ДИПК, ДИПостК), которые воспроизводятся ишемией конечностей, осуществляемой до и после острой ишемии миокарда [2, 6, 7, 8].

В клинической практике необходимость защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения чаще необходима пациентам с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, к которым относится пожилой возраст и гиперлипидемия (ГЛЕ) [3, 4, 9, 10].

**Цель:** выяснить воспроизводимость кардиопротекторных (противоишемических и антиаритмических) эффектов ДИПК и ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс и крыс с ГЛЕ.

**Задачи:** 1. Изучить воспроизводимость кардиопротекторных (противоишемических и антиаритмических) эффектов ДИПК и ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс; 2. Выяснить воспроизводимость кардиопротекторных (противоишемических и антиаритмических) эффектов ДИПК и ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с ГЛЕ.

**Материал и методы.** Исследование выполнено на 98 наркотизированных белых крысах-самцах, разделенных на две возрастные группы: 58 молодых крыс, массой –  $220 \pm 20$  г, возрастом –  $4 \pm 1$  мес. и 40 старых крыс, массой – 400-450 г, возрастом –  $24 \pm 1$  мес. Все животные были разделены на 9 групп: Контроль<sub>молод.</sub>(Ф.Р.) (n=7), Контроль<sub>стар.</sub> (n=11), Контроль<sub>ГЛЕ</sub> (n=11), ДИПК<sub>молод.</sub>(Ф.Р.) (n=7), ДИПК<sub>стар.</sub> (n=12), ДИПК<sub>ГЛЕ</sub> (n=14), ДИПостК<sub>молод.</sub>(Ф.Р.) (n=7), ДИПостК<sub>стар.</sub> (n=17), ДИПостК<sub>ГЛЕ</sub> (n=12). ГЛЕ вызывали путем однократного интрагастрального введения животным 10% р-ра холестерина на оливковом масле в дозе 10 мл/кг в течение 10 дней. В качестве контроля использовали крыс с аналогичными характеристиками, которым в течение 10 дней интрагастрально вводился 0,9% р-р NaCl (физиологический р-р – Ф.Р.) в объеме 10 мл/кг (крысы без ГЛЕ). Для подтверждения наличия ГЛЕ крысам выполнялось биохимическое исследование сыворотки крови с помощью автоматического анализатора Random Access A-25 (BioSystems, Испания), которым определялось в сыворотке крови уровни общего холестерина (ОХ) и триглицеридов (ТГ). Для наркотизации животных внутрибрюшинно вводился тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг. Острую коронарную недостаточность у крыс моделировали по методике, описанной С. Clark et al. (1980 г.). Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом при помощи аппарата искусственной вентиляции легких. После периода 15-мин. стабилизации гемодинамики животным выполнялась 30-мин. окклюзия левой главной коронарной артерии путем ее механического пережатия фишкой, после чего следовало 120 мин реперфузии. Животные групп ДИПК и ДИПостК дополнительно подвергались воздействию 15-мин. окклюзии обеих бедренных артерий соответственно за 25 мин до и через 10 мин после 30-мин. острой ишемии миокарда. В ходе экспериментов постоянно регистрировалась ЭКГ во II стандартном отведении.

Зону риска определяли путем введения в левую общую яремную вену 0,5 мл 5% р-ра синьки Эванса в конце реперфузии при кратковременной повторной окклюзии ЛКА. Зона риска определялась как зона не окрашенная в синий цвет. Затем сердце извлекали и отделяли левый желудочек. После замораживания ( $-20^\circ\text{C}$  в течение 30 мин) из левого желудочка изготавливали 6 поперечных срезов. Срезы взвешивали и сканировали с обеих сторон. После этого, для идентификации зоны некроза, срезы помещали в 1% р-р трифенилтетразолия хлорида на 15 мин при температуре  $37^\circ\text{C}$ . При этом жизнеспособный миокард окрашивался в кирпично-красный цвет, а некротизированная ткань была белесой. После 24-ч. инкубации срезов в 10% р-ре формалина срезы сканировали повторно с обеих сторон. При помощи программы Adobe Photoshop CC 2017 для каждого среза определяли зону некроза.

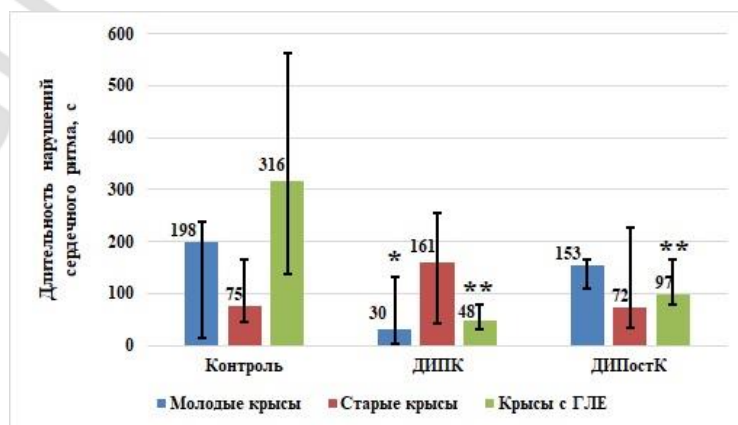
Для оценки антиаритмического эффекта подсчитывалась общая длительность аритмий во время острой коронарной окклюзии и периода реперфузии –

фибрилляции желудочков, пароксизмальные желудочковые тахикардии, парные желудочковые экстрасистолы, желудочковые экстрасистолы по типу бигеминии. На основе полученных данных рассчитывались медиана и интерквартильный размах (25-й; 75-й процентиля). При сравнении групп использовали критерий Крускала-Уоллиса и тест множественных сравнений Данна.

Полученные в исследовании результаты анализировались с использованием стандартных пакетов статистических программ Statistica 10 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 с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони. Результаты исследования при их параметрическом распределении представлялись в виде:  $M \pm m$ . 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). Уровень  $p < 0,05$  рассматривался как статистически значимый.

**Результаты и их обсуждение.** С учетом выживаемости крыс после острой коронарной окклюзии для последующего анализа было отобрано по 7 животных из каждой группы. У крыс с ГЛЕ содержание ТГ в сыворотке крови составило  $1,54 \pm 0,12$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ), ОХ –  $5,86 \pm 0,38$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ). У крыс без ГЛЕ содержание ТГ составило  $0,62 \pm 0,06$  ммоль/л, ОХ –  $2,62 \pm 0,09$  ммоль/л. Таким образом, у крыс с ГЛЕ были увеличены уровни ТГ в 2,5 раза и ОХ в 2,2 раза по сравнению с крысами без ГЛЕ ( $p < 0,01$ ).

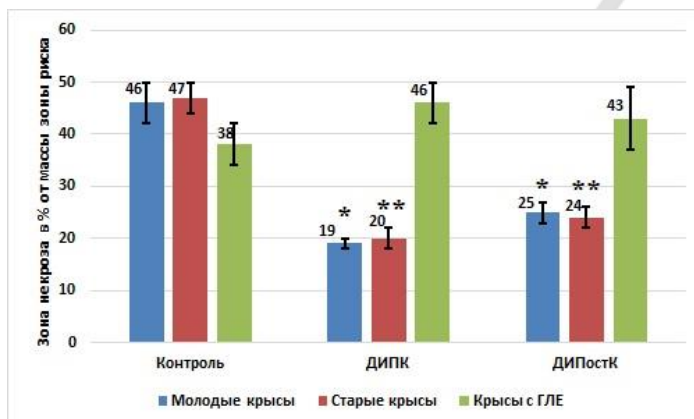
Продолжительности аритмий при ишемии-реперфузии миокарда у крыс были следующими: в группе Контроль<sub>молод.(Ф.Р.)</sub> – 198 (14; 239) с, Контроль<sub>стар.</sub> – 75 (44; 164) с, Контроль<sub>ГЛЕ</sub> – 316 (137; 563) с, ДИПК<sub>молод.(Ф.Р.)</sub> – 30 (3; 133) с ( $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>молод.(Ф.Р.)</sub>), ДИПК<sub>стар.</sub> – 161 (42; 256) с, ДИПК<sub>ГЛЕ</sub> – 48 (31; 80) с ( $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>ГЛЕ</sub>), ДИПостК<sub>молод.(Ф.Р.)</sub> – 153 (109; 166) с, ДИПостК<sub>стар.</sub> – 72 (33; 226) с, ДИПостК<sub>ГЛЕ</sub> – 97 (78; 166) с ( $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>ГЛЕ</sub>) (рисунок 1).



**Рис. 1** – Продолжительность нарушений сердечного ритма во время ишемии-реперфузии миокарда в исследуемых группах

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>молод.</sub>; \*\* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>ГЛЕ</sub>

Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка были следующими: в группе Контроль<sub>молод.(Ф.Р.)</sub> –  $46 \pm 4\%$ , Контроль<sub>стар.</sub> –  $47 \pm 3\%$ , Контроль<sub>ГЛЕ</sub> –  $38 \pm 4\%$ , ДИПК<sub>молод.(Ф.Р.)</sub> –  $19 \pm 1\%$  ( $p < 0,01$  по сравнению с группой Контроль<sub>молод.</sub>), ДИПК<sub>стар.</sub> –  $20 \pm 2\%$  ( $p < 0,01$  по сравнению с группой Контроль<sub>стар.</sub>), ДИПК<sub>ГЛЕ</sub> –  $46 \pm 4\%$ , ДИПостК<sub>молод.(Ф.Р.)</sub> –  $25 \pm 2\%$  ( $p < 0,01$  по сравнению с группой Контроль<sub>молод.</sub>), ДИПостК<sub>стар.</sub> –  $24 \pm 2\%$  ( $p < 0,01$  по сравнению с группой Контроль<sub>стар.</sub>), ДИПостК<sub>ГЛЕ</sub> –  $43 \pm 6\%$  (рисунок 2).



**Рис. 2** – Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка в исследуемых группах  
Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>молод.</sub>; \*\* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>стар.</sub>

Таким образом, было установлено, что старение не является препятствием для реализации кардиопротекторного эффекта ДИПК и ДИПостК.

Выявлено, что наличие такого фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний как ГЛЕ может служить критерием для исключения ДИПК и ДИПостК в качестве способа уменьшения ишемических и реперфузионных повреждений миокарда у пациентов при проведении различных операций на сердце и у пациентов с острым инфарктом миокарда.

**Выводы:** 1. ДИПК и ДИПостК не эффективны в плане снижения длительности аритмий при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс, однако эффективны в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка; 2. ДИПК и ДИПостК не эффективны в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с ГЛЕ, но эффективны в снижении длительности аритмий.

### Литература

1. Висмонт, Ф. И. Кардиопротекторная эффективность дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич, А. Н. Глебов // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: сб. рецензир. науч. работ / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. В. Сикорский, О. К. Доронина. – Минск: ГУ РНМБ, 2017. – Вып. 7. – С. 181-186.

2. Висмонт, Ф. И. Кардиопротекторная эффективность дистантного ишемического преко́ндиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с экспериментальной дислипидемией / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, А. Н. Глебов, А. Ф. Висмонт, П. Ф. Юшкевич //



Весті нацыянальнай акадэміі навук беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2018. – Т. 15, № 2. – С. 215-221.

3. Висмонт, Ф. И. Противоишемическая и антиаритмическая эффективность дистантного ишемического прекодиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с экспериментальной гиперлипидемией / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, А. Н. Глебов, А. Ф. Висмонт, П. Ф. Юшкевич // Медицинский журнал. – 2018. – № 3. – С. 55-59.

4. Липовецкий, Б.М. Дислипидемии, атеросклероз и их связь с ишемической болезнью сердца и мозга: рук. для врачей и студентов-медиков / Б.М. Липовецкий. – СПб.: Эко-Вектор, 2012. – 75 с.

5. 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.

6. Andreadou, I. Effect of hypercholesterolaemia on myocardial function, ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning and remote conditioning / I. Andreadou [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2017. – Vol. 174. – P. 1555-1569.

7. 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.

8. Ferdinandy, P. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning / P. Ferdinandy, D. J. Hausenloy, G. Heusch // Pharmacological Reviews. – 2014. – Vol. 66, № 4. – P. 1142-1174.

9. Hannah, J. Cardioprotection in the aging, diabetic heart: the loss of protective Akt signaling / J. Hannah [et al.] // Cardiovascular Research. – 2013. – Vol. 99, № 4. – P. 694-704.

10. Randhawa, P. K. Conditioning-induced cardioprotection: Aging as a confounding factor / P. K. Randhawa, A. Bali, J. K. Viridi, A. S. Jaggi // Korean J Physiol Pharmacol. – 2018. – Vol. 22, № 5. P. 467-479.