

ПРОТОВОИШЕМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ С ПОМОЩЬЮ ЛАКТАТА ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА

Чепелев С.Н., Висмонт Ф.И.

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

Ключевые слова: фармакологическое посткондиционирование, противоишемическая эффективность, зона некроза, молочная кислота, гиперлактатемия.

Резюме: исследование посвящено выяснению противоишемической эффективности фармакологического посткондиционирования с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у крыс. Установлено, что нейтральный лактат после введения в кровяной поток крысам в дозе 10 мг/кг через 25 минут после начала реперфузии приводит к уменьшению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 28,3%.

Resume: the study is devoted to elucidation of the antiischemic efficacy of pharmacological postconditioning with lactate during ischemia-reperfusion of myocardium in rats. It was found that neutral lactate after injection into the blood flow of rats at a dose of 10 mg/kg 25 minutes after the start of reperfusion leads to a decrease in the size of the necrosis zone in the left ventricular myocardium by 28.3%.

Актуальность. Сердечно-сосудистые заболевания в настоящее время являются одной из наиболее распространенных причин смертности в развитых странах мира и Республике Беларусь в частности [1]. В последние десятилетия смертность от сердечно-сосудистых заболеваний во всем мире возрастает. Известно, что острый инфаркт миокарда является важнейшей причиной смертности. Учитывая большую частоту инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с инфарктом миокарда, ишемическая болезнь сердца 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 [2, 3, 4].

В проведенных ранее исследованиях, посвященных выяснению кардиопротекторной эффективности дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПостК) при ишемии-реперфузии миокарда путем 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий через 10 минут после 30-минутной ишемии миокарда, была установлена выраженная инфаркт-лимитирующая эффективность ДИПостК [5, 6].

Перспективным направлением исследований в последние годы стало фармакологическое посткондиционирование, которое возникло как потенциальная альтернатива механическому (ишемическому) посткондиционированию. Принимая во внимание тот факт, 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), способна ингибировать перекисное окисление липидов и свободнорадикальные процессы, выраженность которых при реперфузии возрастает,

и что после гипоксии лактат может использоваться тканями (особенно миокардом) предпочтительнее глюкозы, были основания полагать, что повышенный уровень лактата в крови (гиперлактатемия) сможет уменьшить реперфузионное повреждение миокарда, а соответственно, подтвердить выдвинутое нами предположение об его участии в реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК [7, 8].

Цель: выяснить проитвоишемическую эффективность фармакологического посткондиционирования с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда.

Материал и методы. Исследование выполнено на 22 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах массой 210 ± 20 г, возрастом 4 ± 1 мес. Все животные изначально были разделены на 2 группы: ишемия-реперфузия (И/Р) – ишемия (30 минут) и последующая реперфузия (120 минут) миокарда ($n = 10$) и И/Р + Лактат – внутривенное введение нейтрального L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда ($n = 12$).

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-минутной стабилизации гемодинамики животным выполнялась 30-минутная окклюзия левой главной коронарной артерии путем ее механического пережатия лигатурой, после чего следовало 120 минут реперфузии. В ходе экспериментов постоянно регистрировалась ЭКГ во II стандартном отведении.

Группе И/Р + Лактат через 25 минут 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 % растворе NaCl для инъекций с последующим доведением рН до 7,4 с помощью NaOH (10 N). Доза лактата (10 мг/кг) была выбрана с целью обеспечить уровень лактата в крови близкий к тому, что имел место после ишемии конечностей – окклюзия (15 минут) обеих бедренных артерий [9, 10].

Определение уровня лактата в цельной крови, взятой из левой общей яремной вены, осуществлялось при помощи анализатора «Lactate Pro 2» (Arkray, Japan) малообъемным методом (0,3 мкл крови) с использованием тест-полосок для биохимических исследований (Lactate Pro 2 Test Strip, Arkray, Japan).

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°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°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.

Полученные в исследовании результаты анализировались с использованием стандартных пакетов статистических программы Statistica 13.3. Уровень $p < 0,05$ рассматривался как статистически значимый.

Результаты и их обсуждение. Статистически значимых различий между анализируемыми группами крыс по показателю зоны риска в миокарде левого желудочка не выявлено ($p > 0,05$). Так, ишемическая зона в группе И/Р составила $54 \pm 2 \%$, а в группе И/Р + Лактат – $52 \pm 3 \%$.

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 И/Р составил $46 \pm 4 \%$, а в группе И/Р + Лактат – $33 \pm 3 \%$ ($p < 0,05$) (рисунок 1).

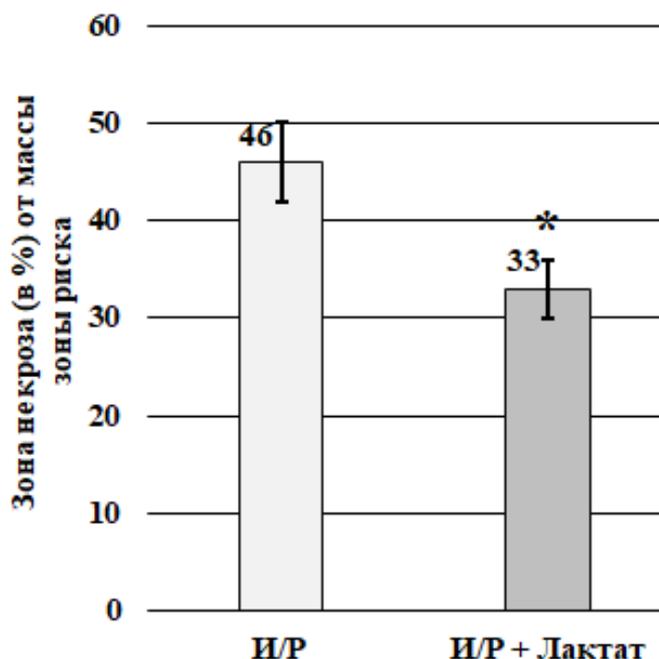


Рис. 1 – Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка в исследуемых группах

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой И/Р

Таким образом, у крыс в условиях ишемии-реперфузии миокарда гиперлактатемия оказывают инфаркт-лимитирующий эффект.

Выводы: установлено, что нейтральный лактат после введения в кровоток животным в дозе 10 мг/кг через 25 минут после начала реперфузии приводит к уменьшению размера зоны некроза в миокарде левого желудочка на 28,3 % по сравнению с контрольной группой крыс, которой осуществлялась 30-минутная острая ишемии с последующей 120-минутной реперфузией.

Полученные знания о биохимических механизмах кардиопротекторной эффективности дистантного ишемического посткондиционирования послужат научным обоснованием для дальнейшей разработки новых подходов к профилактике и лечению сердечно-сосудистых заболеваний, патогенез которых связан с недостаточным кровоснабжением миокарда и тканевой гипоксии.

Литература

1. Сердечно-сосудистые заболевания в Республике Беларусь: анализ ситуации и стратегии контроля / А. Г. Мрочек [и др.]. – Минск : Беларус. навука. – 2011. – 340 с.
2. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay [et al.] // *Experimental Physiology*. – 2012. – Vol. 97, N 8. – P. 908–917.
3. Donato, M. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning / M. Donato, P. Evelson, R. J. Gelpi // *Current Opinion in Cardiology*. – 2017. – Vol. 32, № 6. – P. 784–790.
4. 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.
5. Кардиопротекторная эффективность дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс / Ф. И. Висмонт [и др.] // *БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : сб. рецензир. науч. работ / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. А. В. Сикорского, О. К. Дорониной*. – Минск, 2017. – Вып. 7. – С. 181–186.
6. Висмонт, Ф. И. Периферические M-холинореактивные системы в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич // *Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук*. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 424–433.
7. 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.
8. 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 // *Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук*. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 353–364.
9. 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.
10. Чепелев, С. Н. Инфаркт-лимитирующая эффективность фармакологического посткондиционирования с помощью молочной кислоты при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте / С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт // *Медицинский журнал*. – 2021. – № 1 (75). – С. 104–109.