

УДК 616.127-005.4-092.4:612.8.04:616-092

## УЧАСТИЕ М-ХОЛИНОРЕАКТИВНЫХ СИСТЕМ В РЕАЛИЗАЦИИ КАРДИОПРОТЕКТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ С ПОМОЩЬЮ L-ЛАКТАТА ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС

*Чепелев С. Н.<sup>1</sup>, Висмонт Ф. И.<sup>1</sup>, Губкин С. В.<sup>2</sup>, Висмонт А. Ф.<sup>1</sup>, Юшкевич П. Ф.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь;*

*<sup>2</sup>Государственное научное учреждение  
«Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Реферат.** Защита миокарда от ишемических и реперфузионных повреждений — важная задача современной экспериментальной и клинической медицины. Данный тип повреждения является ключевым звеном патогенеза ишемической болезни сердца, и прежде всего острого инфаркта миокарда — социально-экономически значимого заболевания, являющегося одной из основных причин потери трудоспособности и смертности среди взрослого населения в Республике Беларусь.

Целью исследования явилось выяснение участия М-холинореактивных систем в реализации кардиопротекторной эффективности посткондиционирования с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс.

В опытах на крысах установлено, что посткондиционирование с помощью L-лактата оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых животных, однако в условиях системного действия в организме атропина (2 мг/кг) инфаркт-лимитирующий эффект посткондиционирования с помощью L-лактата частично сохранялся только у старых крыс. По-видимому, активность периферических М-холинореактивных систем имеет значение в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов посткондиционирования с помощью L-лактата у молодых, но не у старых крыс.

**Ключевые слова:** кардиопротекция, L-лактат, ишемия, реперфузия, атропин.

**Введение.** В настоящее время одним из самых распространенных видов сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) является ишемическая болезнь сердца (ИБС). 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 его 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 ишеми-

ческого пре- и посткондиционирования (ДПост), которые воспроизводятся ишемией конечностей, осуществляемой до или после острой коронароокклюзии соответственно.

Для эффективного применения любого варианта прекодиционирования (Пре) как меры профилактической кардиопротекции необходимо точно знать, когда наступит ишемия, требующая защиты миокарда. Однако ввиду того, что это практически невозможно, мощный кардиопротекторный потенциал Пре, как правило, клинически не используется. Следовательно, ишемическое посткондиционирование (Пост), особенно ДПост, имеющее несомненное преимущество перед различными вариантами Пре, 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.

Впервые ишемическое Пост было описано Z.-Q. Zhao с соавт. (2003), которые сообщили, что ишемическое Пост, состоящее из коротких прерывистых циклов ишемии-реперфузии миокарда после острой коронароокклюзии может смягчить последствия реперфузионного повреждения. Данный феномен получил название «локальное ишемическое Пост».

Так, G. Andreka с соавт. (2007) в экспериментах на свиньях продемонстрировал ограничение размеров зоны некроза миокарда при воздействии четырьмя последовательными 5-минутными эпизодами ишемии/реперфузии задней конечности, осуществляемыми непосредственно после окончания окклюзии инфаркт-связанной коронарной артерии. Этот феномен получил название ДПост.

До недавнего времени считалось, что способность ДПост оказывать кардиопротекторное действие ограничена первыми минутами после восстановления коронарного кровотока. Однако несколько позже M. Basalay с соавт. (2012) в экспериментах на крысах обнаружил, что кратковременная (15-минутная) ишемия задних конечностей оказывает выраженное инфаркт-лимитирующее действие на миокард не только в первые минуты реперфузии, но и при ее осуществлении на 10-й минуте после восстановления коронарного кровотока.

За последнее десятилетие данные ряда фундаментальных научных и клинических исследований подтвердили, что ишемическое Пост является эффективным методом снижения реперфузионного повреждения [1].

К настоящему времени накоплен достаточно большой объем знаний о феномене ишемического кондиционирования и его защитном влиянии на миокард. Однако биохимические механизмы кардиопротекции, лежащие в основе инфаркт-лимитирующего эффекта ишемического кондиционирования и особенно ДПост при ишемии-реперфузии миокарда, все еще остаются малоизученными [1].

Принимая во внимание известные факты о том, что гипоперфузия, ишемия органов и тканей приводят к повышению уровня молочной кислоты (лактата) в крови, а лактат в свою очередь оказывает коронарное сосудорасширяющее действие за счет выделения эндотелием сосудов монооксида азота (NO) [2], а также способен ингибировать перекисное окисление липидов и свободнорадикальные процессы [3], выраженность которых при реперфузии возрастает

и может использоваться тканями, особенно миокардом, после гипоксии в большей степени, чем глюкоза [4], были основания полагать, что повышенный уровень лактата в крови (гиперлактатемия) сможет уменьшить реперфузионное повреждение миокарда. Так, в проведенном авторами статьи исследовании в 2020 г. было установлено, что после воспроизведения ДПост у экспериментальных животных в крови повышается уровень L-лактата, а введение нейтрального L-лактата на 25-й минуте реперфузии в дозе 10 мг/кг приводит к снижению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 28,2 % ( $p < 0,05$  по сравнению с интактными животными), т. е. ослабляет реперфузионное повреждение сердца [5].

Достаточно долгое время лактат рассматривался как тупиковый метаболит, агент усталости или метаболический яд. В медицине было принято считать, что повышение уровня лактата в крови коррелирует с тяжестью заболевания или травмы. В последнее время в научной литературе стали появляться сведения о ранее неизвестных эффектах лактата и начали резко изменяться представления о роли лактата в физиологии и медицине. Так, в ряде исследований показано, что лактат участвует в регуляции метаболизма и играет ключевую роль в регулировании различных биологических процессов [6]. Выявлено, что L-лактат постоянно образуется и используется в различных клетках организма в полностью аэробных условиях. Лактат, перемещаясь между клетками-продуцентами и клетками-потребителями, выполняет, по крайней мере, три важные функции: является основным источником энергии, предшественником глюкозы в глюконеогенезе и сигнальной молекулой. Концепции «лактатного челнока» описывают роль лактата в доставке окислительных и глюконеогенных субстратов, а также в передаче сигналов клетками [6].

В современной литературе имеются также, хотя и немногочисленные, экспериментальные исследования, посвященные выяснению механизмов влияния лактата на сердечную деятельность. J. Zhang с соавт. (2021) в опытах на мышах показал, что лактат ускоряет поляризацию макрофагов M2, продуцирующих противовоспалительные цитокины, через сигнальный путь STAT3, а также оказывает кардиозащитное действие после инфаркта миокарда за счет улучшения фракции выброса и фракционного укорочения, снижения апоптоза кардиомиоцитов и увеличения плотности микрососудов в зоне ишемии.

В клинической практике в исследовании M. Nalos с соавт. (2014) показано, что инфузия полумолярного лактата натрия может улучшить работу сердца у пациентов с острой сердечной недостаточностью без какого-либо пагубного воздействия на функцию органов. Кроме того, исследования Т. Коуата с соавт. выявили, что Пост с кровью, обогащенной лактатом, обеспечивает потенциальную кардиопротекцию у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST, которым выполнялось первичное чрескожное коронарное вмешательство (2016). Можно констатировать, что идет процесс накопления данных, свидетельствующих о том, что лактат может быть многообещающим средством лечения ССЗ.

Сегодня имеется ряд исследований, посвященных вопросу влияния пожилого возраста на воспроизводимость инфаркт-лимитирующего эффекта Пост у экспериментальных животных, однако выводы, сделанные на их основании, неоднозначны и во многом являются противоречивыми.

В настоящее время накоплено большое количество сведений, подчеркивающих важную роль парасимпатической регуляции сердечной деятельности в механизмах защиты миокарда от повреждений. В частности, согласно современным представлениям, парасимпатическая регуляция сердечной деятельности имеет важное значение в механизмах защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждений [7].

Известно, что процессы старения организма сопровождаются ослаблением влияния парасимпатической регуляции на сердце, что связано с деструкцией холинергических нервных окончаний, снижением интенсивности процессов синтеза ацетилхолина и числа М-холинорецепторов в миокарде.

Принимая во внимание тот факт, что в организме старых животных происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения, были основания полагать, что возрастные изменения органов и тканей, и в частности, изменения в них активности периферических М-холинореактивных систем могут оказывать существенное влияние на кардиопротекторную эффективность Пост с помощью L-лактата у старых крыс. В то же время в современной литературе отсутствуют сведения, касающиеся выяснению кардиопротекторной эффективности Пост с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина.

**Цель работы** — выяснение участия М-холинореактивных систем в реализации кардиопротекторной эффективности Пост с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на 101 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах, разделенных на две возрастные группы: 43 молодых (молод.) крыс массой 200–250 г в возрасте  $4 \pm 1$  мес. и 58 старых (стар.) крыс массой 400–450 г в возрасте  $24 \pm 1$  мес. Из них, с учетом выживаемости животных после острой ишемии миокарда (ОИМ) и последующих процедур, для обработки и анализа результатов исследования было отобрано 72 крысы (по 36 молодых и старых). Все животные в начале эксперимента перед 30-минутной ишемией и последующей 120-минутной реперфузией миокарда были разделены на 6 групп: 1-я (Контроль<sub>молод</sub>) — группа молодых крыс, которым проводилась ишемия-реперфузия миокарда ( $n = 14$ ); 2-я (Контроль<sub>стар</sub>) — группа старых крыс, которым проводилась ишемия-реперфузия миокарда ( $n = 22$ ); 3-я (Лактат<sub>молод</sub>) — группа молодых крыс, которым через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену L-лактат в дозе 10 мг/кг ( $n = 14$ ); 4-я (Лактат<sub>стар</sub>) — группа старых крыс, которым через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену L-лактат в дозе 10 мг/кг ( $n = 17$ ); 5-я (Атропин + Лактат<sub>молод</sub>) — группа молодых крыс, которым проводилась ишемия-реперфузия миокарда и за 10 мин до воспроизведения Пост с помощью L-лактата вводили в левую общую яремную вену атропин (Sigma-Aldrich, США) в дозе 2 мг/кг ( $n = 15$ ); 6-я (Атропин + Лактат<sub>стар</sub>) — группа старых крыс, которым проводилась ишемия-реперфузия миокарда и за 10 мин до воспроизведения Пост с помощью L-лактата вводили в левую общую яремную вену атропин (Sigma-Aldrich, США) в дозе 2 мг/кг ( $n = 19$ ).

Эксперименты проводились в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными. Животные содержались в стандартных условиях вивария УО «Белорусский государственный медицинский университет» с свободным доступом к пище и воде.

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 Braun (Германия). Крыс переводили на искусственное дыхание атмос-

ферным воздухом через трахеостому (частота дыхания  $56 \cdot 60$  в мин) при помощи аппарата искусственной вентиляции легких (Harvard, Великобритания). В ходе экспериментов непрерывно регистрировали электрокардиограмму (ЭКГ) во II стандартном отведении и системное артериальное давление (АД), а полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Spike 4 (Великобритания). Для измерения АД прямым методом крысам канюлировали правую общую сонную артерию. Температуру тела измеряли в прямой кишке с помощью электротермометра (Harvard, Великобритания) и поддерживали 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. Реперфузия миокарда достигалась снятием лигатуры. Длительность реперфузии составляла 120 мин.

На протяжении эксперимента у животных изучены следующие показатели гемодинамики: среднее АД ( $AD_{cp}$ ), частота сердечных сокращений (ЧСС) и двойное произведение (ДП).  $AD_{cp}$  рассчитывали как АД диастолическое +  $1/3$  (АД систолическое — АД диастолическое), ДП — как  $(ЧСС \cdot АД \text{ систолическое})/100$ . 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, а 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 в последующем взвешивали и сканировали с обеих сторон. 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. Размеры зон риска и некроза определяли при помощи компьютерной планиметрии с использованием программы Adobe Photoshop CC 2017.

Изучение кардиопротекторной эффективности Пост с помощью L-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 L-(+)-молочной кислоты (Sigma-Aldrich, США), т. е. в дозе 10 мг/кг. Для изготовления нейтрализованного L-лактата для инъекций молочную кислоту растворяли в 0,9%-м растворе NaCl с последующим доведением pH до 7,4 с помощью NaOH (10 N).

Доза L-лактата (10 мг/кг) была выбрана нами с целью обеспечить уровень L-лактата в крови, близкий к тому, что имел место после 15-минутного наложения лигатур на обеих бедренных артериях [5]. Уровень L-лактата в цельной крови, взятой из левой общей яремной вены, определяли при помощи анализатора Lactate Pro 2 (Arkray, Япония) малообъемным методом с помощью тест-полосок Lactate Pro 2 Test Strip для биохимических исследований (Arkray, Япония).

Изучение кардиопротекторной эффективности Пост с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у старых и молодых крыс в условиях блокады M-холинореактивных систем проводилось у животных, которым за 10 мин до воспроизведения Пост с помощью L-лактата вводили в левую общую яремную вену 0,2%-го раствора M-холиноблокатора атропина (Sigma-Aldrich, США). Доза препарата составила 2 мг/кг.

Полученные результаты анализировались с использованием программного пакета GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, США). Для оценки нормальности распределения анализируемых показателей применяли критерий Колмогорова — Смирнова. Статистическую значимость различий полученных данных — зон риска, зон некроза, показателей гемодинамики — между группами животных оценивали при помощи однофакторного дисперсионного



анализа с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони. Результаты исследования при их параметрическом распределении представляли в виде среднее  $\pm$  стандартное отклонение. 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 71,3 % (29 крыс из 101 погибли в период ОИМ и последующей реперфузии). При этом в группе Контроль<sub>молод</sub> выживаемость животных составила 85,7 %; в группе Контроль<sub>стар</sub> — 54,5 %; в группе Лактат<sub>молод</sub> — 85,7 %; в группе Лактат<sub>стар</sub> — 70,6 %; в группе Атропин + Лактат<sub>молод</sub> — 80,0 %; в группе Атропин + Лактат<sub>стар</sub> — 63,2 %. Так, у старых крыс за время 30-минутной коронароокклюзии и последующей 120-минутной реперфузии имело место значительное снижение выживаемости по сравнению с молодыми крысами (погибло

22 старых и 7 молодых крыс), что свидетельствует о более чем двукратном снижении устойчивости миокарда старых крыс к повреждению, вызванному его длительной ишемией, а также реперфузией. Таким образом, с учетом выживаемости животных в экспериментальных группах осталось по 12 крыс в каждой.

Установлено, что в группах Контроль<sub>молод</sub>, Контроль<sub>стар</sub>, Лактат<sub>молод</sub>, Лактат<sub>стар</sub>, Атропин + Лактат<sub>молод</sub> и Атропин + Лактат<sub>стар</sub> во время ОИМ имело место статистически значимое снижение показателя АД<sub>ср</sub> ( $p < 0,05$ ) по сравнению с его исходными значениями. В начале реперфузии в группах Контроль<sub>стар</sub>, Лактат<sub>стар</sub>, Атропин + Лактат<sub>молод</sub> и Атропин + Лактат<sub>стар</sub> также имело место статистически значимое снижение показателя АД<sub>ср</sub> ( $p < 0,05$ ) по сравнению с его исходными значениями. У животных, которым осуществлялось введение в левую общую яремную вену 0,2%-го раствора М-холиноблокатора атропина в дозе 2 мг/кг за 10 мин до Пост с помощью лактата, отмечалось статистически значимое повышение показателя ЧСС ( $p < 0,01$ ) по сравнению с его исходными значениями на 30, 60, 90 и 120 мин реперфузии. Изменение показателей гемодинамики на протяжении эксперимента у старых и молодых крыс представлено в таблице.

Таблица — Изменение показателей гемодинамики у крыс исследуемых групп на протяжении эксперимента

Показатель гемодинамики	Контроль		Лактат		Атропин + Лактат		
	Молодые (n = 12)	Старые (n = 12)	Молодые (n = 12)	Старые (n = 12)	Молодые (n = 12)	Старые (n = 12)	
До начала ОИМ	АД <sub>ср</sub>	81 $\pm$ 5	88 $\pm$ 5	82 $\pm$ 3	87 $\pm$ 5	84 $\pm$ 3	89 $\pm$ 4
	ЧСС	415 $\pm$ 16	448 $\pm$ 17	410 $\pm$ 15	439 $\pm$ 18	415 $\pm$ 13	435 $\pm$ 19
Начало ОИМ	АД <sub>ср</sub>	68 $\pm$ 4*	70 $\pm$ 5*	69 $\pm$ 4*	71 $\pm$ 4*	68 $\pm$ 5*	72 $\pm$ 4*
	ЧСС	430 $\pm$ 14	408 $\pm$ 24	434 $\pm$ 16	404 $\pm$ 17	426 $\pm$ 19	424 $\pm$ 22
Начало реперфузии	АД <sub>ср</sub>	75 $\pm$ 5	73 $\pm$ 4*	76 $\pm$ 4	74 $\pm$ 5*	73 $\pm$ 3	77 $\pm$ 4*
	ЧСС	433 $\pm$ 23	407 $\pm$ 31	420 $\pm$ 23	399 $\pm$ 35	416 $\pm$ 17	427 $\pm$ 18
30' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	77 $\pm$ 4	76 $\pm$ 5	75 $\pm$ 4	77 $\pm$ 5	75 $\pm$ 5	78 $\pm$ 4
	ЧСС	439 $\pm$ 19	404 $\pm$ 24	424 $\pm$ 21	403 $\pm$ 29	495 $\pm$ 21**	514 $\pm$ 24**
60' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	76 $\pm$ 5	78 $\pm$ 6	78 $\pm$ 5	78 $\pm$ 4	76 $\pm$ 4	79 $\pm$ 5
	ЧСС	432 $\pm$ 16	398 $\pm$ 23	415 $\pm$ 21	406 $\pm$ 21	502 $\pm$ 20**	521 $\pm$ 23
90' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	78 $\pm$ 4	78 $\pm$ 5	78 $\pm$ 4	80 $\pm$ 4	77 $\pm$ 5	81 $\pm$ 4
	ЧСС	420 $\pm$ 16	393 $\pm$ 25	417 $\pm$ 18	416 $\pm$ 24	491 $\pm$ 17**	512 $\pm$ 20
120' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	80 $\pm$ 5	79 $\pm$ 5	80 $\pm$ 3	81 $\pm$ 5	81 $\pm$ 4	83 $\pm$ 3
	ЧСС	413 $\pm$ 17	387 $\pm$ 25	420 $\pm$ 17	421 $\pm$ 21	484 $\pm$ 22**	503 $\pm$ 19**

\*  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  — различия статистически значимы по сравнению с исходными значениями.

При проведении исследования установлено, что величина ДП в анализируемых группах крыс до начала острой коронарной окклю-

зии статистически значимо не различалась. Следовательно, были основания полагать, что животные всех анализируемых групп до начала

эксперимента характеризовались сходной потребностью миокарда в кислороде.

При изучении антиаритмической эффективности Пост с помощью L-лактата при

ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина (2 мг/кг) были получены следующие результаты продолжи-

тельности аритмий: Контроль<sub>молод</sub> — 167 (49; 233) с; Контроль<sub>стар</sub> — 237 (128; 331) с; Лактат<sub>молод</sub> — 145 (27; 192) с; Лактат<sub>стар</sub> — 97 (66; 154) с; Атропин + Лактат<sub>молод</sub> — 182 (54; 258) с и Атропин + Лактат<sub>стар</sub> — 192 (77; 314) с (рисунок 1).

В ходе исследования также установлено, что в группе Контроль<sub>молод</sub> 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<sub>стар</sub> 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<sub>молод</sub> в период острой коронарной окклюзии у 9 из 12 крыс отмечались ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 7 животных данной группы. В группе Лактат<sub>стар</sub> 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 Атропин + Лактат<sub>молод</sub> в период 30-минутной ишемии миокарда ФЖ и ПЖТ были выявлены у 11 из 12 животных. Реперфузионные аритмии имели место у 12 животных данной группы. В группе Атропин + Лактат<sub>стар</sub> в период острой коронарной окклюзии у 11 из 12 крыс отмечалась ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 11 животных данной группы.

Таким образом, длительность ишемических нарушений сердечного ритма в исследуемых группах старых и молодых крыс, подвергнутых атропинизации и Пост с помощью лактата, сопоставима с таковой в группах контроля.

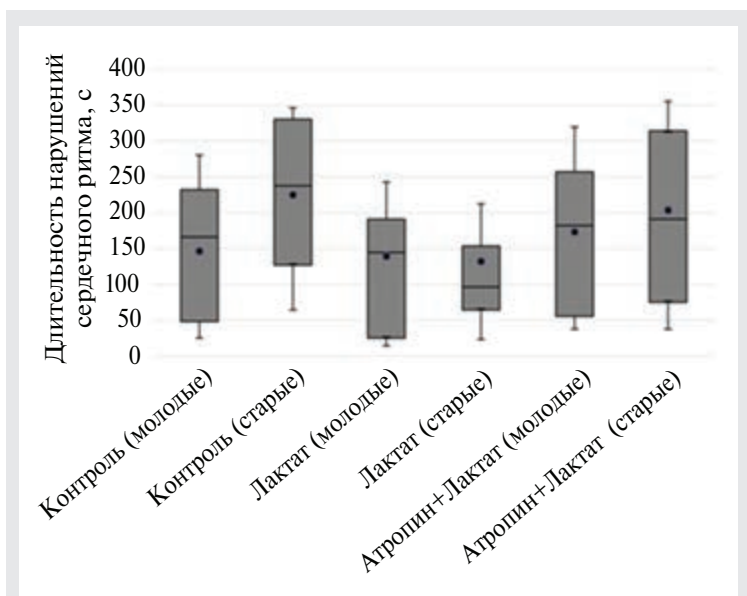


Рисунок 1 — Длительность нарушений сердечного ритма после 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у крыс исследуемых групп

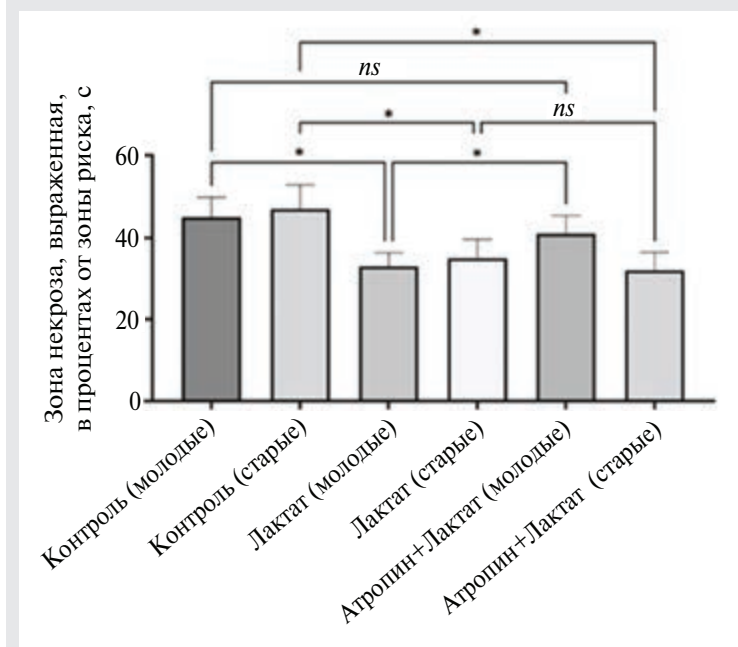


Рисунок 2 — Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка в исследуемых группах (\* Статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ); ns — различия не достоверны.)

При изучении инфаркт-лимитирующего эффекта Пост с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора M-холинореактивных систем атропина статистически значимых различий между анализируемыми группами по показателю размера зоны риска в миокарде левого желудочка не выявлено. Так, зона ишемии в группе Контроль<sub>молод</sub> составила  $54 \pm 3 \%$ , в группе Контроль<sub>стар</sub> —  $55 \pm 3 \%$ ; в группе Лактат<sub>молод</sub> —  $52 \pm 4 \%$ ; в группе Лактат<sub>стар</sub> —  $53 \pm 3 \%$ ; в группе Атропин + Лактат<sub>молод</sub> —  $50 \pm 4 \%$  и в группе Атропин + Лактат<sub>стар</sub> —  $54 \pm 5 \%$ . Таким образом, во всех анализируемых группах крыс размеры зоны риска в миокарде левого желудочка были сопоставимы.

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<sub>молод</sub> составил  $45 \pm 4 \%$ , а в группе Контроль<sub>стар</sub> —  $47 \pm 5 \%$ . После внутривенного введения животным L-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<sub>молод</sub> —  $33 \pm 3 \%$  ( $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>молод</sub>), а в группе Лактат<sub>стар</sub> —  $35 \pm 4 \%$  ( $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>стар</sub>). Размер зоны некроза в группах молодых и старых животных, которым на 15-й мин реперфузии вводили блокатора M-холинореактивных систем атропин (2 мг/кг), а затем внутривенно вводился лактат, был следующим: в группе Атропин + Лактат<sub>молод</sub> —  $41 \pm 4 \%$ , а в группе Атропин + Лактат<sub>стар</sub> —  $32 \pm 4 \%$  ( $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>стар</sub>) (рисунок 2).

Следовательно, данные исследования свидетельствуют о наличии выраженного инфаркт-лимитирующего эффекта Пост с помощью L-лактата у молодых крыс. Однако в условиях системного действия в организме животных блокатора M-холинореактивных систем атропина (2 мг/кг) у молодых крыс Пост с помощью L-лактата оказывало, но менее выражен-

ный противоишемический эффект. У старых животных в условиях системного действия в их организме атропина инфаркт-лимитирующий эффект Пост с помощью L-лактата сохранялся.

Таким образом, учитывая имеющиеся литературные данные о том, что у старых крыс имеет место выраженное снижение интенсивности процессов синтеза ацетилхолина и активности ацетилхолинтрансферазы, что может свидетельствовать о нарушении процессов холинергической регуляции сердечной деятельности у таких животных, данные выполненных исследований дают основания полагать, что активность периферических M-холинореактивных систем имеет значение в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта Пост с помощью L-лактата у молодых, но не у старых крыс. В пользу сделанного предположения свидетельствуют и такие имеющиеся в литературе сведения, что при старении организма у животных происходит деструкция холинергических нервных окончаний и уменьшение числа M-холинорецепторов в миокарде, что в конечном итоге ведет к ослаблению парасимпатических влияний на сердце у старых животных.

**Заключение.** Посткондиционирование с помощью L-лактата оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых крыс, однако в условиях системного действия в организме животных атропина этот эффект посткондиционирования с помощью L-лактата был менее выражен у молодых крыс и сохранялся у старых животных. По-видимому, активность периферических M-холинореактивных систем имеет значение в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов посткондиционирования с помощью L-лактата у молодых, но не у старых крыс.

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

### Список цитированных источников

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. Nitric oxide-mediated relaxation to lactate of coronary circulation in the isolated perfused rat heart / J. J. Montoya [et al.] // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 2011. — Vol. 58, № 4. — P. 392–398.
3. 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.



4. 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.

5 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.

6. Brooks, G. A. The science and translation of lactate shuttle theory / G. A. Brooks // Cell Metabolism. — 2018. — Vol. 27, № 4. — P. 757–785.

7. Revisiting the cardioprotective effects of acetylcholine receptor activation against myocardial ischemia/reperfusion injury / K. Intachai [et al.] // Int. J. Mol. Sci. — 2018. — Vol. 19, № 9. — P. 2466.

## **M-cholinoreactive system involvement in the implementation of the cardioprotective efficiency of postconditioning using L-lactate during ischemia-reperfusion of myocardium in young and old rats**

*Chepelev S. N.<sup>1</sup>, Vismont F. I.<sup>1</sup>, Goubkin S. V.<sup>2</sup>, Vismont A. F.<sup>1</sup>, Jushkevich P. F.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus;*

*<sup>2</sup> State Scientific Institution “Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus”,  
Minsk, Republic of Belarus*

The aim of the research was to research of the participation of M-cholinoreactive systems in the implementation of the cardioprotective efficiency of postconditioning using L-lactate during ischemia-reperfusion of myocardium in young and old rats.

In experiments on rats, it was found that postconditioning using L-lactate has an infarct-limiting effect during ischemia-reperfusion of myocardium in both young and old animals, however, under conditions of systemic action of atropine (2 mg/kg), the infarct-limiting effect of postconditioning using L-lactate partially maintained only in old rats. Apparently, the activity of peripheral M-cholinergic systems is important in the mechanisms of implementation of the cardioprotective effects of postconditioning using L-lactate in young, but not in old rats.

**Keywords:** cardioprotection, ischemia, reperfusion, L-lactate, atropine.