

*С.Н. Чепелев, Ф.И. Висмонт*

**КАРДИОПРОТЕКТОРНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДИСТАНТНОГО  
ИШЕМИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ У МОЛОДЫХ И  
СТАРЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ В ОРГАНИЗМЕ  
ЖИВОТНЫХ ИНГИБИТОРА NO-СИНТАЗЫ L-NAME**

*Кафедра патологической физиологии*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*S.N. Chepelev, F.I. Vismont*

**CARDIOPROTECTIVE EFFICACY OF REMOTE ISCHEMIC  
POSTCONDITIONING IN YOUNG AND OLD RATS UNDER SYSTEMIC  
ACTION OF THE NO-SYNTASE INHIBITOR L-NAME**

*Department of Pathological Physiology*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме:** установлено, что дистантное ишемическое посткондиционирование в условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME, который внутривенно вводился в дозе 25 мг/кг сразу после острой ишемии миокарда, оказывает инфаркт-лимитирующий эффект у старых, но не у молодых крыс.

**Ключевые слова:** кардиопротекция, дистантное ишемическое посткондиционирование, монооксид азота, NO-синтаза, возраст.

**Resume:** It was found that remote ischemic postconditioning under conditions of systemic action in animals of the NO-synthase inhibitor L-NAME, which was administered intravenously at a dose of 25 mg/kg immediately after acute myocardial ischemia, has an infarct size-limiting effect in old, but not in young rats.

**Keywords:** cardioprotection, remote ischemic postconditioning, nitric oxide, NO-synthase, age.

**Актуальность.** Поиск новых эффективных методов предотвращения или уменьшения ишемического и реперфузионного повреждения миокарда и выяснение механизмов их реализации является актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины [1–3].

Последние два десятилетия объектом повышенного интереса ведущих мировых исследователей в области кардиологии и экспериментальной медицины являются кардиопротекторные эффекты дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПост), которое воспроизводится ишемией конечностей, осуществляемой после острой ишемии миокарда [4, 5].

На сегодняшний день накоплен достаточно большой объем знаний о феномене ишемического кондиционирования и его защитном влиянии на миокард. Однако биохимические механизмы кардиопротекции, лежащие в основе кардиопротекторных эффектов ишемического кондиционирования и, особенно, ДИПост при ишемии-реперфузии миокарда, все еще остаются малоизученными [1–6].

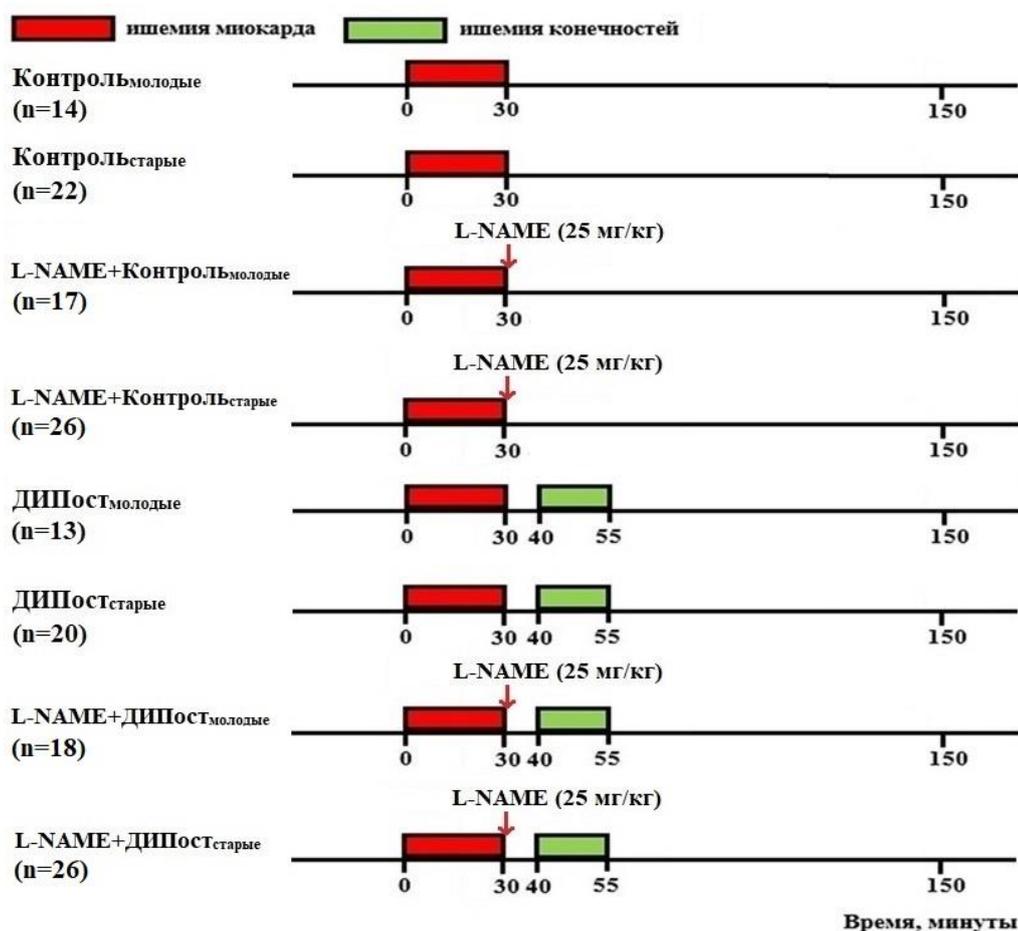
Известно, что процессы старения организма сопровождаются значительными морфофункциональными и биохимическими изменениями [7]. Можно было полагать,

что возрастные изменения органов и тканей могут оказывать существенное влияние на кардиопротекторную эффективность посткондиционирования у старых крыс.

Как известно, большинство заболеваний сердца связаны с ишемией миокарда, одной из причин которой является дефицит монооксида азота (NO). В миокарде NO может регулировать функции органа как непосредственно, так и через влияние на сосуды. По современным данным, дефицит NO является ключевым звеном эндотелиальной дисфункции и развития сердечной недостаточности [8]. Таким образом, было предположено, что активность NO-синтазы и уровень NO в органах и тканях будут иметь значение в реализации кардиопротекторных эффектов ДИПост, а их выраженность зависеть от возраста животных.

**Цель:** выяснить кардиопротекторную эффективность ДИПост у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME.

**Материалы и методы.** Выяснение кардиопротекторной эффективности ДИПост выполнено на 156 наркотизированных тиопенталом натрия (50 мг/кг внутривенно) нелинейных белых крысах-самцах, разделенных на две возрастные группы, включавшие 62 молодые крысы массой 200–220 г в возрасте  $4 \pm 1$  месяцев и 94 старые крысы массой 400–450 г в возрасте  $24 \pm 1$  месяцев (рисунок 1).



**Рис. 1** – Схема протоколов экспериментов для изучения кардиопротекторной эффективности ДИПост у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME

Крыс переводили на искусственное дыхание через трахеостому при помощи аппарата ИВЛ. В ходе экспериментов непрерывно регистрировались ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД, полученные при этом данные обрабатывались с помощью компьютерной программы Spike 4 (Великобритания).

Во всех исследуемых группах животных с целью моделирования ишемически-реперфузионного повреждения миокарда вскрывали грудную клетку в IV межреберном промежутке слева. После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам выполнялось подведение лигатуры под переднюю нисходящую ветвь левой коронарной артерии (ЛКА) и отрезание атравматической иголки. Два свободных конца лигатуры проводились через полиэтиленовую трубку малого диаметра, после чего осуществлялось натяжение концов нитки с последующей их фиксацией с помощью наложения зажима на полиэтиленовую трубку. Продолжительность острой коронароокклюзии составляла 30 минут, далее выполнялась 120-минутная реперфузия путем снятия зажима с ЛКА.

ДИПост выполняли в соответствии с протоколом исследования, предложенным M. Basalau и соавт. [5], согласно которому животные в группах ДИПост подвергались воздействию 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий через 10 минут после 30-минутной острой ишемии миокарда.

Кардиопротекторная эффективность ДИПост у молодых и старых крыс в условиях депрессии NO-синтазы (в группах L-NAME) исследовалась путем внутривенного введения в левую внутреннюю яремную вену водного раствора L-NAME (Acros Organics, США) в дозе 25 мг/кг, которое осуществлялось сразу после острой ишемии миокарда.

Для выявления зоны риска в левую общую яремную вену вводили 0,5 мл 5% р-ра Evans Blue в конце реперфузии. Сердце извлекали и отделяли левый желудочек, который замораживали и разрезали на 6 поперечных срезов. Срезы взвешивали и сканировали с обеих сторон. Для определения зоны некроза срезы помещали в 1% р-р трифенилтетразолия хлорида на 15 мин (37°C), затем инкубировали 24 часа в 10% р-ре формалина, после чего повторно сканировали и определяли соотношения площадей зоны некроза и зоны риска.

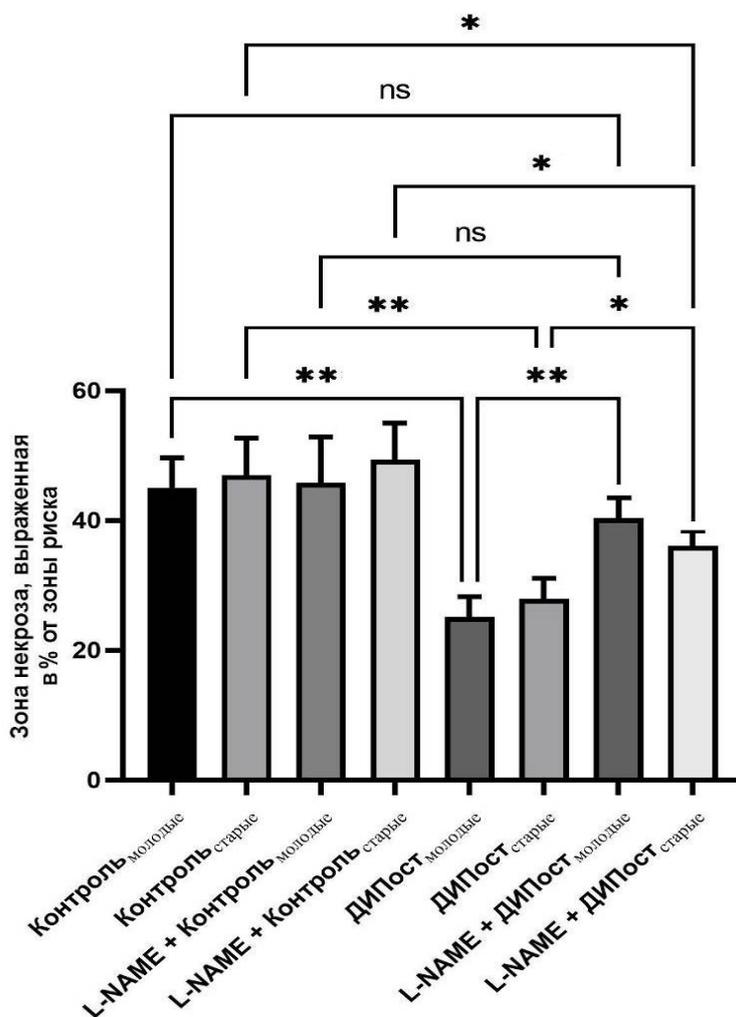
Полученные в исследовании результаты анализировались при помощи компьютерной программы GraphPad Prism 9. Уровень  $p < 0,05$  рассматривался как статистически значимый.

**Результаты и их обсуждение.** При изучении кардиопротекторной эффективности ДИПост при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных ингибитора NOS L-NAME общий показатель выживаемости у животных составил 61,5 % (60 крыс из 156 погибло во время острой коронарной недостаточности и последующей реперфузии). При этом показатель выживаемости у молодых крыс составил 77,4 % (14 крыс из 62 погибло во время ишемии-реперфузии миокарда), а среди старых крыс – 51,1 % (46 крыс из 94 погибло во время острой ишемии миокарда и периода реперфузии). В группах молодых крыс выживаемость животных была следующей: Контроль<sub>молодые</sub> составила 85,7 %, L-NAME + Контроль<sub>молодые</sub> составила 70,6 %, ДИПост<sub>молодые</sub> – 92,3 % и L-NAME + ДИПост<sub>молодые</sub> – 66,7 %. У старых животных показатели

выживаемости в исследуемых группах были следующими: Контроль<sub>старые</sub> составила 54,5 %, L-NAME + Контроль<sub>старые</sub> – 46,2 %, ДИПост<sub>старые</sub> – 60,0 % и L-NAME + ДИПост<sub>старые</sub> – 46,2 %. В результате из каждой группы молодых и старых крыс для последующего анализа данных было отобрано по 12 животных.

В анализируемых группах старых и молодых крыс отмечались сопоставимые размеры зоны риска в миокарде левого желудочка ( $p > 0,05$ ).

Установлено, что размер зоны некроза в миокарде левого желудочка у животных в группе Контроль<sub>молодые</sub> составил  $45 \pm 4$  %, Контроль<sub>старые</sub> –  $47 \pm 5$  %, L-NAME + Контроль<sub>молодые</sub> –  $46 \pm 6$  %, L-NAME + Контроль<sub>старые</sub> –  $49 \pm 5$  %, ДИПост<sub>молодые</sub> –  $25 \pm 3$  % ( $p < 0,001$  по сравнению с группами Контроль<sub>молодые</sub> и L-NAME + Контроль<sub>молодые</sub>), ДИПост<sub>старые</sub> –  $28 \pm 3$  % ( $p < 0,001$  по сравнению с группами Контроль<sub>старые</sub> и L-NAME + Контроль<sub>старые</sub>), L-NAME + ДИПост<sub>молодые</sub> –  $40 \pm 3$  % и L-NAME + ДИПост<sub>старые</sub> –  $36 \pm 2$  % ( $p < 0,01$  по сравнению с группами Контроль<sub>старые</sub> и L-NAME + Контроль<sub>старые</sub>) (рисунок 2).



Примечание: \* / \*\* –  $p < 0,01$  /  $p < 0,001$  – различия статистически значимы

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

Результаты исследования свидетельствуют о том, что у старых крыс после воспроизведения как ДИПост, так и ДИПост после внутривенного введения животным L-NAME, которое осуществлялось сразу после острой ишемии миокарда, при ишемии-реперфузии миокарда в левом желудочке формировались менее обширные зоны некроза по сравнению с группами Контроль<sub>старые</sub> и L-NAME + Контроль<sub>старые</sub>. Таким образом, у старых крыс имеет место выраженный противоишемический эффект ДИПост. В условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME у старых крыс ДИПост также оказывал противоишемический эффект, но менее выраженный.

В ходе исследования установлено, что у молодых крыс после воспроизведения ДИПост имело место статистически значимое снижение размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка по сравнению с группой Контроль<sub>молодые</sub>. Однако после внутривенного введения животным L-NAME в дозе 25 мг/кг у молодых крыс при ишемии-реперфузии миокарда в левом желудочке формировались сопоставимые по размерам с группами Контроль<sub>молодые</sub> и L-NAME + Контроль<sub>молодые</sub> зоны некроза.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о наличии выраженного противоишемического эффекта ДИПост у молодых крыс. Однако в условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME (25 мг/кг) у молодых крыс ДИПост не оказывало противоишемического эффекта.

Следовательно, результаты исследования дают основания полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO имеют большую значимость в механизмах реализации противоишемического эффекта ДИПост у молодых, но не у старых крыс.

**Выводы:** установлено, что ДИПост у старых крыс в условиях системного действия в организме животных L-NAME в дозе 25 мг/кг приводит к уменьшению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 23,4% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с таковой у контрольной группы старых крыс. Полученные данные свидетельствуют о том, что, активность NO-синтазы и уровень NO играет более значимую роль в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов ДИПост у молодых, чем у старых крыс, что позволяет говорить о необходимости дифференцированного подхода к применению ДИПост при ишемии-реперфузии миокарда в молодом и пожилом возрасте.

### Литература

1. Островский, Ю. П. Ишемическое посткондиционирование миокарда / Ю. П. Островский, А. В. Гореликов, Г. М. Карпелёв ; Нац. акад. наук Беларуси, Отд-ние мед. наук. – Минск : Беларуская навука, 2021 – 171 с.
2. Висмонт, Ф. И. Инфаркт-лимитирующий эффект посткондиционирования с помощью L-лактата у молодых и старых крыс при блокаде M-холинорецепторов атропином / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, С. В. Губкин // Журнала эволюционной биохимии и физиологии. – 2022. – Т. 58, № 5. – С. 391–401.
3. Кардиопротективные эффекты ишемического кондиционирования: современные представления о механизмах, экспериментальные подтверждения, клиническая реализация / А. Е. Баутин [и др.] // Трансляц. медицина. – 2016. – Т. 3, № 1. – С. 50–62.

4. Heusch, G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning / G. Heusch // *Circ. Res.* – 2015. – Vol. 116, № 4. – P. 674–699.
5. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay [et al.] // *Exp. Physiol.* – 2012. – Vol. 97, N 8. – P. 908–917.
6. Кардиопротективный эффект дистантного посткондиционирования: механизмы и возможность клинического применения / Л. Н. Маслов [и др.] // *Клин. медицина.* – 2016. – Т. 94, № 9. – С. 650–656.
7. Conditioning-induced cardioprotection: Aging as a confounding factor / K. R. Puneet [et al.] // *Korean Journal of Physiology and Pharmacology.* – 2018. – Vol. 22 (5). – P. 467–479.
8. Totzeck, M. Nitrite-Nitric Oxide Signaling and Cardioprotection / M. Totzeck, U. B. Hendgen-Cotta, T. Rassaf // *Advances in Experimental Medicine & Biology.* – 2017. – Vol. 982. – P. 335–346.