

**С.Н. Чепелев, Ф.И. Висмонт, П.Ф. Юшкевич**  
**ЗНАЧИМОСТЬ МОНООКСИДА АЗОТА В РЕАЛИЗАЦИИ**  
**ПРОТОВОИШЕМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ**  
**ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ С ПОМОЩЬЮ L-ЛАКТАТА ПРИ**  
**ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

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

**S.N. Chepelev, F.I. Vismont, P.F. Yushkevich**  
**SIGNIFICANCE OF NITROGEN MONOXIDE IN REALIZATION OF THE**  
**ANTIISCHEMIC EFFICIENCY OF POSTCONDITIONING WITH L-LACTATE**  
**IN MYOCARDIAL ISCHEMIA-REPERFUSION IN RATS OF DIFFERENT AGES**

*Department of Pathological Physiology  
 Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** По результатам исследования установлено, что активность NO-синтаз и уровень NO в крови имеют значимость в механизмах реализации противоишемического эффекта посткондиционирования с помощью L-лактата (ПостЛ) у молодых, но не у старых крыс. В условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг противоишемический эффект ПостЛ сохранялся только у старых крыс.

**Ключевые слова:** противоишемическая эффективность, L-лактат, монооксид азота, NO-синтазы, возраст.

**Resume.** According to the results of the study, it was found that the activity of NO-synthase and the level of NO in the blood are significant in the mechanisms of realization of the antiischemic effect of postconditioning with L-lactate (PostL) in young, but not in old rats. Under conditions of systemic action in animals of the NO synthase inhibitor L-NAME at a dose of 25 mg/kg, the antiischemic effect of PostL was preserved only in old rats.

**Keywords:** antiischemic efficiency, L-lactate, nitric oxide, NO-synthase, age.

**Актуальность.** Поиск новых эффективных методов предупреждения или ослабления неблагоприятных последствий ишемического и реперфузионного повреждения миокарда и выяснение механизмов их реализации является актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины [1, 2].

Особое значение в процессах повреждения миокарда при его ишемии-реперфузии имеет реперфузия. Она может привести к парадоксальной дисфункции кардиомиоцитов, известной как ишемически-реперфузионное повреждение. Для улучшения результатов ранней реперфузии разработаны два основных способа кардиопротекции: ишемическое посткондиционирование и фармакологическое посткондиционирование [2].

Ишемическое посткондиционирование, особенно дистантное ишемическое посткондиционирование (ДИПост), имеет несомненное преимущество перед различными вариантами прекодиционирования и может быть успешно применено 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 реперфузионную терапию.

М. Basalay с соавт. в 2012 г. продемонстрировали в экспериментах на крысах, что кратковременная (15-минутная) ишемия задних конечностей оказывает выраженное противоишемическое действие на миокард при ее осуществлении на 10-й минуте после восстановления коронарного кровотока [3]. В последующие годы целым рядом экспериментальных и клинических исследований было показано, что ДИПост является эффективным методом снижения реперфузионного повреждения [4, 5].

Принимая во внимание известные факты о том, что гипоперфузия, ишемия органов и тканей приводит к повышению уровня L-молочной кислоты (L-лактата) в крови, а L-лактат, в свою очередь, оказывает коронарное сосудорасширяющее действие за счет выделения эндотелием сосудов монооксида азота (NO) [6], а также способен ингибировать перекисное окисление липидов и свободнорадикальные процессы [7], выраженность которых при реперфузии возрастает, были основания полагать, что повышенный уровень L-лактата в крови, возникающий во время 15-минутной ишемии обеих задних конечностей, что имело место при выполнении ДИПост, сможет уменьшить реперфузионное повреждение миокарда. В проведенных ранее исследованиях было показано, что ПостЛ эффективно в плане снижения размеров зоны некроза миокарда левого желудочка при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс [8].

В клинической практике необходимость защиты миокарда от повреждения, вызванного ишемией и реперфузией, чаще всего необходима пациентам с различными факторами риска ССЗ, к числу которых относится пожилой возраст.

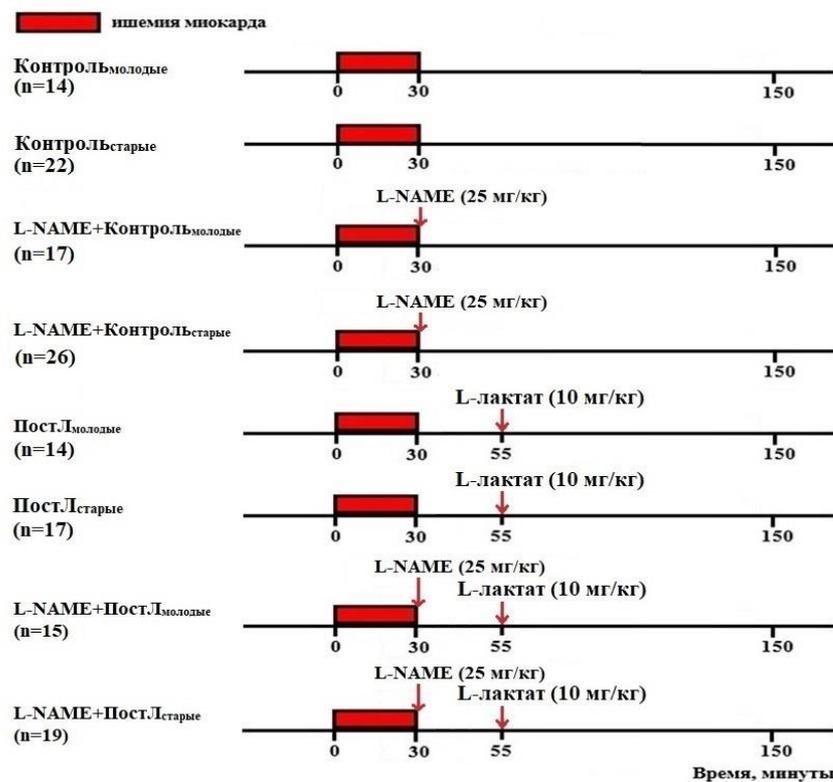
Как известно, большинство заболеваний сердца связаны с ишемией миокарда. А одной из причин ишемии является дефицит NO. В миокарде NO может регулировать функции органа как непосредственно, так и через влияние на сосуды. По современным представлениям, дефицит NO является ключевым звеном эндотелиальной дисфункции и развития сердечной недостаточности. Результаты ряда исследований свидетельствуют о значимости NO в механизмах реализации противоишемического эффекта ишемического пре- и посткондиционирования [9, 10]. Однако биохимические механизмы кардиопротекции, лежащие в основе противоишемического эффекта кондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда, несмотря на их интенсивное изучение, исследованы недостаточно и во многом не ясны.

Учитывая имеющиеся в научной литературе сведения о том, что с возрастом в организме происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения, а также о том, что уровень NO оказывает влияние на процессы эндотелиальной дисфункции и реперфузионного повреждения миокарда, были основания полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO в органах и тканях будут иметь значение в реализации кардиопротекторных эффектов ПостЛ, а их выраженность зависеть от возраста животных.

**Цель:** выяснить значимость NO в реализации противоишемического эффекта ПостЛ при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс.

**Материалы и методы.** Выяснение противоишемической эффективности ПостЛ выполнено на 144 наркотизированных тиопенталом натрия (50 мг/кг внутривенно) неллинейных белых крысах-самцах, разделенных на две

возрастные группы, включавшие 60 молодых крыс массой 200–220 г в возрасте  $4 \pm 1$  месяцев и 84 старые крысы массой 400–450 г в возрасте  $24 \pm 1$  месяцев (рисунок 1).



**Рис. 1** – Схема протокола эксперимента для изучения противоишемической эффективности Пост. I у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора 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 и выполняли подведение лигатуры под переднюю нисходящую ветвь левой коронарной артерии (ЛКА) и отрезание атрауматической 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 коронарнокклюзии составляла 30 минут, далее выполнялась 120-минутная реперфузия путем снятия зажима с ЛКА.

Изучение кардиопротекторной эффективности Пост. I при ишемии-реперфузии миокарда у крыс проводилось у животных, которым через 25 минут от начала реперфузии вводили в левую внутреннюю яремную вену 0,5 мл 40 мМоль нейтрализованного раствора L-молочной кислоты (Sigma-Aldrich, США), т. е. в дозе 10 мг/кг.

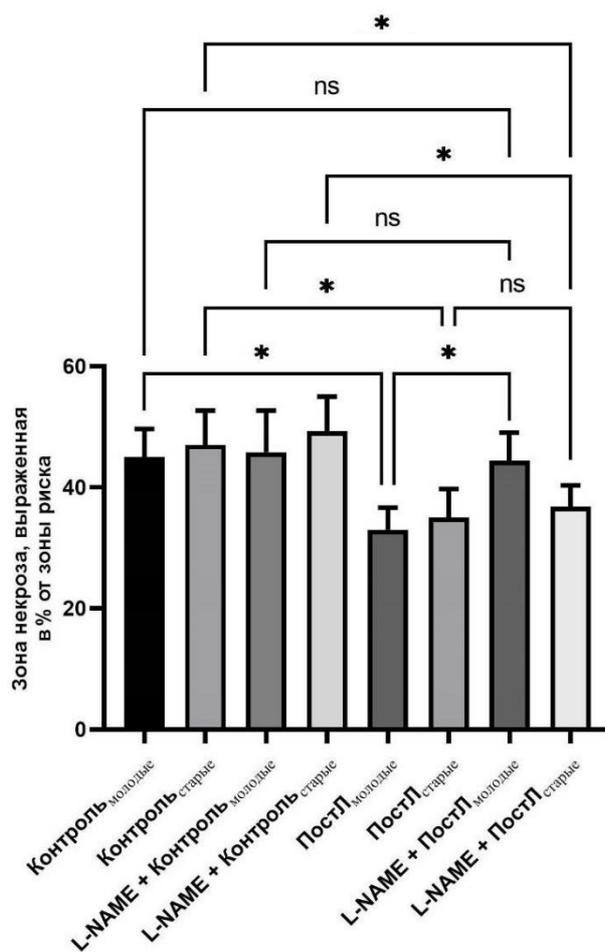
Определение уровня L-лактата в плазме крови у животных проводилось спектрофотометрическим методом с использованием набора реагентов (BioSystems

S. A., Испания) с помощью биохимического автоматического анализатора A25 Random Access Analyzer (BioSystems S. A., Испания) при длине волны 600 нм.

Противоишемическая эффективность ПостЛ у 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.

Количественную оценку повреждений миокарда определяли по соотношению зоны некроза к зоне риска [3]. Полученные в исследовании результаты анализировались при помощи компьютерной программы GraphPad Prism 9.3.1. Уровень  $p < 0,05$  рассматривался как статистически значимый.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что размер зоны некроза в миокарде левого желудочка в исследуемых группах был следующим: 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> –  $49 \pm 5 \%$ , ПостЛ<sub>молодые</sub> –  $33 \pm 3 \%$  ( $p < 0,01$  по сравнению с группами Контроль<sub>молодые</sub> и L-NAME + Контроль<sub>молодые</sub>), ПостЛ<sub>старые</sub> –  $35 \pm 4 \%$  ( $p < 0,01$  по сравнению с группами Контроль<sub>старые</sub> и L-NAME + Контроль<sub>старые</sub>), L-NAME + ПостЛ<sub>молодые</sub> –  $44 \pm 4 \%$  и в группе L-NAME + ПостЛ<sub>старые</sub> –  $37 \pm 3 \%$  ( $p < 0,01$  по сравнению с группами Контроль<sub>старые</sub> и L-NAME + Контроль<sub>старые</sub>) (рисунок 2).



**Рис. 2** – Размеры ЗН в миокарде левого желудочка у молодых и старых крыс с ПостЛ и без в условиях системного действия в организме животных L-NAME (25 мг/кг)

Примечание: \* –  $p < 0,01$  – различия статистически значимы; ns – различия не достоверны

Таким образом выявлено, что в условиях системного действия в организме молодых животных ингибитора NO-синтазы L-NAME (25 мг/кг) ослабляется противоишемический эффект ПостЛ, так как в левом желудочке сердца имела место более обширная (на 33,3 %,  $p < 0,01$ ) зона некроза по сравнению с группой ПостЛ<sub>молодые</sub>. У старых крыс после воспроизведения ПостЛ в условиях угнетения активности NOS L-NAME (25 мг/кг) при ишемии-реперфузии миокарда противоишемический эффект L-лактата сохранялся. Следовательно, результаты исследования дают основания полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO имеют значимость в механизмах реализации противоишемического эффекта ПостЛ у молодых, но не у старых крыс.

**Выводы:** активность NO-синтазы и уровень NO имеют значимость в механизмах реализации противоишемического эффекта ПостЛ у молодых, но не у старых крыс. ПостЛ у старых крыс в условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME приводит к снижению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 21,3 % ( $p < 0,01$ ) в сравнении с контрольной группой старых крыс. У молодых крыс после внутривенного введения L-NAME ПостЛ сопровождалось формированием в левом желудочке сопоставимых по размеру с группой контроль зон некроза.

#### 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. 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.
3. 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.
4. Donato, M. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning / M. Donato, P. Evelson, R. J. Gelpi // *Curr Opin Cardiol*. – 2017. – Vol. 32, N 6. – P. 784–790.
5. Маслов, Л. Н. Феномен ишемического посткондиционирования сердца. Анализ клинических данных / Л. Н. Маслов, А. Ю. Подоксёнов, И. Г. Халиулин // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2017. – Т. 23, № 1. – С. 21–28.
6. 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, N 4. – P. 392–398.
7. Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an in vitro study / C. Groussard [et al.] // *J. Appl Physiol* (1985). – 2000. – Vol. 89, N 1. – P. 169–175.
8. Висмонт, Ф. И. Инфаркт-лимитирующий эффект посткондиционирования с помощью L-лактата у молодых и старых крыс при блокаде М-холинорецепторов атропином / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, С. В. Губкин // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. – 2022. – Т. 58, № 5. – С. 391–401.
9. NO в сигнальном каскаде фармакологического прекодиционирования при ишемии-реперфузии миокарда / Л. Н. Даниленко [и др.] // *Вестник Науч. центра экспертизы средств мед. применения*. – 2015. – № 2. – С. 40–44.
10. 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.