

М.С. Красная, С.Н. Чепелев

**ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ДИСТАНТНОГО
ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕ-, ПЕР- И ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ
ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС**

Научный руководитель: д-р мед. наук,

чл.-кор. нац. академии, проф. Ф.И. Висмонт

Кафедра патологической физиологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

M.S. Krasnaya, S.N. Chepelev

**INFARCTION-LIMITING EFFICACY OF COMBINED REMOTE ISCHEMIC
PRE-, PER-, AND POSTCONDITIONING DURING MYOCARDIAL ISCHEMIA-
REPERFUSION IN YOUNG AND OLD RATS**

***Tutor: doctor of Sciences, corresponding member of the National Academy of Sciences,
professor F.I. Vismont***

Department of Pathological Physiology

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Основные методы дистантного ишемического кондиционирования ограничивают зону инфаркта левого желудочка сердца, однако их эффективность снижается с возрастом. Максимальную кардиопротекцию обеспечивает выполнение дистантного ишемического прекодиционирования, при этом комбинирование методик не дает синергического эффекта и не превышает защиту от базового дистантного ишемического прекодиционирования.

Ключевые слова: методики дистантного ишемического кондиционирования, комбинированное применение, кардиопротекция, возраст.

Resume. Basic remote ischemic conditioning methods limit the left ventricular infarction zone, but their effectiveness declines with age. Remote ischemic preconditioning provides maximum cardioprotection, but combining these methods does not provide a synergistic effect and does not exceed the protection provided by basic remote ischemic preconditioning.

Keywords: remote ischemic conditioning techniques, combined use, cardioprotection, age.

Актуальность. Дистантное ишемическое кондиционирование (ДИК) является перспективным, неинвазивным и экономически доступным методом кардиопротекции, повышающим устойчивость сердца к ишемическим и реперфузионным повреждениям. Различные методики применения ДИК (пре- (ДИПре), пер- (ДИПер) и посткондиционирование (ДИПост)) позволяют эффективно использовать данный подход как в экстренной кардиологии, так и в кардиохирургии [1]. Вместе с тем, трансляция положительных результатов доклинических исследований ДИК в клиническую практику затруднена [2]. Принимая во внимание возрастные морфофункциональные изменения миокарда и снижение эндогенных резервов кардиопротекции у пожилых пациентов, старение организма может существенно ограничивать кардиопротекторную эффективность ДИПре, ДИПер и ДИПост, а также их комбинированных вариантов применения [3].

По данным научной литературы, выраженность кардиопротективного эффекта при использовании различных методов ДИК может определяться следующими ключевыми факторами: временем воздействия [4] и молекулярными механизмами

[5]. На основании этих данных можно предполагать, что комбинированное применение ДИПре, ДИПер и ДИПост способно значительно усилить инфаркт-лимитирующий эффект. При этом для объективной оценки кардиопротекции необходимо учитывать возрастные морфофункциональные особенности организма.

Цель: выяснить инфаркт-лимитирующую эффективность комбинированного применения ДИПре, ДИПер и ДИПост при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс.

Материалы и методы. Исследование проведено на 168 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах, разделенных на две возрастные группы: 69 молодых крыс массой 200-250 г в возрасте 3-5 мес. и 99 старых крыс массой 400-450 г в возрасте 23-25 мес. Эксперименты проводились в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными (протокол № 1 от 15.09.2022 и протокол № 1 от 22.01.2026 Комитета по биомедицинской этике УО «Белорусский государственный медицинский университет»). Животных вводили в наркоз альфа-хлоралозой (Sigma, США) в дозировке 60 мг/кг внутривенно. Для поддержания наркоза использовали непрерывную инфузию альфа-хлоралозы (30 (мг/кг)·ч) в левую яремную вену, осуществляемую с помощью инъекционного насоса (B. Braun, Германия). Животных переводили на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) через трахеостому с использованием аппарата Harvard Apparatus Rodent Ventilator 683 (Harvard Apparatus, США). В ходе эксперимента осуществлялась непрерывная регистрация электрокардиограммы (ЭКГ) во II стандартном отведении. Артериальное давление у животных измеряли прямым способом, введя катетер с электроманометром в правую общую сонную артерию. Данные обрабатывали с помощью программного обеспечения Spike2 ver.4 (CED, Великобритания).

Все животные в начале эксперимента перед 30-минутной ишемией и последующей 120-минутной реперфузией миокарда были разделены на 16 групп: 1-я (Контроль_{молодые}) – группа молодых крыс, которым выполнялась ишемия-реперфузия миокарда ($n = 10$); 2-я (Контроль_{старые}) – группа старых крыс, которым выполнялась ишемия-реперфузия миокарда ($n = 15$); 3-я (ДИПре_{молодые}) – группа молодых крыс, которым выполнялось ДИПре ($n = 8$); 4-я (ДИПре_{старые}) – группа старых крыс, которым выполнялось ДИПре ($n = 12$); 5-я (ДИПер_{молодые}) – группа молодых крыс, которым выполнялось ДИПер ($n = 9$); 6-я (ДИПер_{старые}) – группа старых крыс, которым выполнялось ДИПер ($n = 13$); 7-я (ДИПост_{молодые}) – группа молодых крыс, которым выполнялось ДИПост ($n = 9$); 8-я (ДИПост_{старые}) – группа старых крыс, которым выполнялось ДИПост ($n = 14$); 9-я (ДИПре+ДИПер_{молодые}) – группа молодых крыс, которым выполнялось комбинированно ДИПре и ДИПер ($n = 9$); 10-я (ДИПре+ДИПер_{старые}) – группа старых крыс, которым выполнялось комбинированно ДИПре и ДИПер ($n = 11$); 11-я (ДИПре+ДИПост_{молодые}) – группа молодых крыс, которым выполнялось комбинированно ДИПре и ДИПост ($n = 8$); 12-я (ДИПре+ДИПост_{старые}) – группа старых крыс, которым выполнялось комбинированно ДИПре и ДИПост ($n = 11$); 13-я (ДИПер+ДИПост_{молодые}) – группа молодых крыс, которым выполнялось комбинированно ДИПер и ДИПост ($n = 8$); 14-я (ДИПер+ДИПост_{старые}) – группа старых крыс, которым выполнялось комбинированно ДИПер и ДИПост ($n = 12$); 15-я (ДИПре+ДИПер+ДИПост_{молодые}) – группа молодых крыс, которым выполнялось комбинированно ДИПре, ДИПер и

ДИПост ($n = 8$); 16-я (ДИПре+ДИПер+ДИПост_{старые}) – группа старых крыс, которым выполнялось комбинированно ДИПре, ДИПер и ДИПост ($n = 11$).

Для моделирования ишемии-реперфузии миокарда под сочетанным наркозом на фоне ИВЛ проводилась левосторонняя торакотомия в IV межреберье. После послойного рассечения грудных мышц, вскрытия грудной клетки, а затем перикарда и выведения сердца в рану, визуализировали левую коронарную артерию. Под переднюю нисходящую ветвь левой коронарной артерии (ПНВЛКА) на уровне нижнего края ушка левого предсердия (в средней трети) подводили лигатуру (Prolene 6/0). Для предотвращения повреждения миокарда и травматизации сосуда при затягивании лигатуры под нее укладывали силиконовый/полиэтиленовый спейсер (кусочек полиэтиленовой трубки типа РЕ-10). Оба свободных конца лигатуры проводили через полиэтиленовую трубку малого диаметра. Оклюзию осуществляли путем натяжения нитей с последующей фиксацией зажимом (окклюдер). Длительность ишемии составляла 30 мин. При реперфузии зажим снимали, длительность реперфузии составляла 120 мин.

ДИПре, ДИПер и ДИПост моделировали путем трех чередующихся циклов (по 5 мин каждый) ишемии и реперфузии задних конечностей у крыс путем наложения жгутов на них в области тазобедренного сустава за 30 мин до ОИМ (ДИПер), сразу после начала ОИМ (ДИПер) и сразу после ОИМ (ДИПост).

Для определения зоны риска использовали 5 %-й раствор синьки Эванса (Sigma, США), который вводили в левую общую яремную вену (0,5 мл) в конце реперфузии на фоне повторного кратковременного пережатия зажимом ПНВЛКА. Зона интактного миокарда окрашивалась в синий цвет, в то время как отсутствие окрашивания части миокарда свидетельствовало об ишемии этой области сердца.

Для выявления зоны некроза в миокарде левого желудочка крыс применяли метод, основанный на определении активности дегидрогеназ (Fishbein M. C. и соавт., 1981). В соответствии с методом срезы миокарда левого желудочка инкубировали в 1 %-м растворе 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (Sigma, США) при температуре 37 °C в течение 30 мин. В результате жизнеспособный миокард, сохранивший ферментативную активность, окрашивался в темно-красный цвет, тогда как некротизированная ткань оставалась бледно-розовой (неокрашенной).

Площади зоны риска и зоны некроза измеряли методом компьютерной планиметрии в программе Adobe Photoshop CC 2017 (Adobe Systems Inc., США) с последующей нормализацией по массе каждого среза. Размер инфаркта рассчитывали как процентное отношение зоны некроза к зоне риска.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программных пакетов Statistica 13.3 и GraphPad Prism 9.3.1. Результаты представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего при нормальном распределении, и в виде медианы с интерквартильным размахом (25-й и 75-й процентиля) – при распределении, отличном от нормального. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что ДИПре, ДИПер, ДИПост и их комбинированные варианты ограничивают размер зоны некроза при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых животных. Так в исследуемых группах зоны некроза составляли: ДИПре_{молодые} – $17 \pm 1 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПре_{старые} –

$25 \pm 1 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПер_{молодые} – $22 \pm 2 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПер_{старые} – $29 \pm 4 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПост_{молодые} – $28 \pm 2 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПост_{старые} – $35 \pm 2 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПре+ДИПер_{молодые} – $17 \pm 1 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПре+ДИПер_{старые} – $25 \pm 1 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПре+ДИПост_{молодые} – $17 \pm 2 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПре+ДИПост_{старые} – $25 \pm 2 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПер+ДИПост_{молодые} – $22 \pm 1 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПер+ДИПост_{старые} – $28 \pm 2 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПре+ДИПер+ДИПост_{молодые} – $16 \pm 1 \%$ ($p < 0,0001$), ДИПре+ДИПер+ДИПост_{старые} – $24 \pm 2 \%$ ($p < 0,0001$) (рисунок 1).

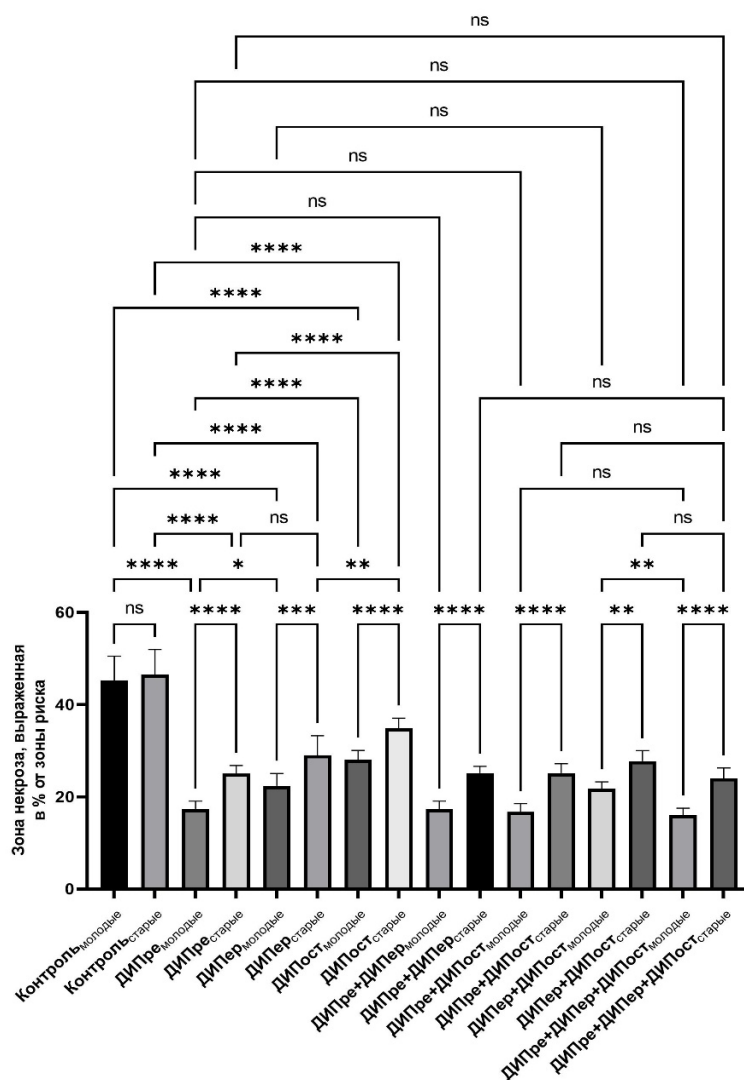


Рис. 1 – Размеры зон некроза в миокарде левого желудочка в исследуемых группах молодых и старых крыс, которым выполнялось ДИПре, ДИПер, ДИПост и их комбинированные варианты. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$, **** – $p < 0,0001$ – статистически значимые различия; ns – различия не достоверны

При этом обнаружено, что у молодых крыс инфаркт-лимитирующий эффект методик ДИК оказался более выраженным, что свидетельствует о более низкой кардиопротекторной эффективности ДИПре, ДИПер, ДИПост и их комбинаций в пожилом возрасте. ДИПре в сравнении с ДИПер, а ДИПер в сравнении с ДИПост также продемонстрировало более выраженный инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда.

Комбинированное воздействие ДИПре с другими методиками ДИК как у молодых, так и у старых животных не оказывает дополнительного инфаркт-лимитирующего эффекта по сравнению с эффектом, характерным для ДИПре в отдельности, что может свидетельствовать об общности внутриклеточных механизмов, лежащих в основе их развития, а также о достижении максимальной кардиопротекции, т.е. невозможности дальнейшего уменьшения размеров зоны некроза ишемизированного участка миокарда.

Выводы. Все методы дистантного ишемического кондиционирования (ДИК) эффективны для ограничения зоны некроза при ишемии-реперфузии, но их кардиопротекция снижена у старых особей. Наиболее действенен метод ДИПре, за ним следуют ДИПер и ДИПост. Комбинация методик ДИК не усиливает эффект, вероятно, из-за пересечения их механизмов или достижения предела ограничения некроза. У старых особей животных базовая эффективность всех методик ДИК достоверно снижается, что требует учета при разработке терапевтических стратегий для пациентов пожилого возраста.

Литература

1. Лупанов, В. П. Протективная ишемия в кардиологии. Формы кондиционирования миокарда / В. П. Лупанов, А. В. Максименко // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2011. – Т. 10, № 1. – С. 96–103.
2. Aging-induced biological changes and cardiovascular diseases / J. O. Fajemiroye, L. C. da Cunha, R. Saavedra-Rodríguez [et al.] // BioMed Research International. – 2018. – Vol. 2018. – Article ID 7156435. – P. 1–14.
3. 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 [et al.] // Pharmacological Reviews. – 2014. – Vol. 66, № 4. – P. 1142–1174.
4. Babiker, F. Effects of cardiac hypertrophy, diabetes, aging, and pregnancy on the cardioprotective effects of postconditioning in male and female rats / F. Babiker, A. Al-Jarallah, M. Al-Awadi // Cardiology Research and Practice. – 2019. – Vol. 2019. – Article ID 3403959. – P. 1–12.
5. Individual and combined effects of ischemic conditioning strategies on infarct size after myocardial ischemia reperfusion / A. Elmahdy, M. Krasnikova, A. Jha [et al.] // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15. – Article ID 32006. – P. 1–9.