

КАРДИОПРОТЕКТЕРНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕ- И ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА У КРЫС

В.В. Севрукевич, Ф.И. Висмонт

УО «Белорусский государственный медицинский университет»
E-mail: valersev@gmail.com

УДК 616.127-005.4-092.9

Ключевые слова: кардиопротектерный эффект, дистантное ишемическое прекондиционирование (ДИПреК), комбинированное применение, дистантное ишемическое посткондиционирование (ДИПостК), ишемия/реперфузия, ишемическое/реперфузионное повреждение миокарда.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ. В.В. Севрукевич, Ф.И. Висмонт. Кардиопротектерная эффективность комбинированного применения дистантного ишемического пре- и посткондиционирования при ишемии/реперфузии миокарда у крыс. *Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски*, 2020, Т. 4, № 2, С. 1045–1047.

Изучена кардиопротектерная эффективность комбинированного применения дистантного ишемического прекондиционирования (ДИПреК) с дистантным ишемическим посткондиционированием (ДИПостК) при экспериментальной ишемии/реперфузии миокарда у крыс. Экспериментальная ишемия/реперфузия миокарда воспроизводилась путем 30-минутной окклюзии левой коронарной артерии с последующим периодом 120-минутной реперфузии. Дистантное ишемическое кондиционирование выполнялось путем кратковременной окклюзии обеих бедренных артерий с последующей реперфузией конечностей, начинающихся в следующие моменты времени: ДИПреК – за 25 минут до периода ишемии миокарда, ДИПостК – че-

рез 10 минут после окончания периода ишемии миокарда, ДИПреК+ДИПостК – за 25 минут до начала и через 10 минут после окончания ишемии миокарда. Показано, что комбинированное применение ДИПреК с ДИПостК оказывает сопоставимый кардиопротектерный эффект в сравнении с каждой из этих методик, взятых в отдельности. К возможным причинам, объясняющим отсутствие потенцирования кардиопротектерного эффекта комбинированного применения ДИПреК с ДИПостК, можно предположительно отнести: 1) достижение максимальной кардиопротекции, т.е. невозможность дальнейшего уменьшения зоны ишемии миокарда, 2) воздействие на аналогичные внутриклеточные кардиопротектерные механизмы при различных режимах кондиционирования.

CARDIOPROTECTIVE EFFICIENCY OF THE COMBINED APPLICATION OF REMOTE ISCHEMIC PRE- AND POST-CONDITIONING IN RATS IN CASE OF MYOCARDIAL ISCHEMIA/REPERFUSION

V.V. Sevruckevitch, F.I. Vismont

Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Key words: cardioprotective effect, remote ischemic preconditioning (RIPreC), combined use, remote ischemic postconditioning (RIPostC), ischemia/reperfusion, ischemic/reperfusion injury of the myocardium.

FOR REFERENCES. V.V. Sevruckevitch, F.I. Vismont. Cardioprotective efficiency of the combined application of remote ischemic pre- and post-conditioning in rats in case of myocardial ischemia/reperfusion. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardiovaskulyarnye riski* [Emergency cardiology and cardiovascular risks], 2020, vol. 4, no. 2, pp. 1045–1047.

The cardioprotective efficacy of the combined use of remote ischemic preconditioning (RIPreC) and remote ischaemic postconditioning (RIPostC) in experimental myocardial ischemia/reperfusion was studied in rats. Experimental myocardial ischemia/reperfusion was reproduced by a 30-minute occlusion of the left coronary artery followed by a period of 120-minute reperfusion. Remote ischemic conditioning was reproduced by short-term occlusion of both femoral arteries followed by reperfusion of the extremities beginning at the following time points: RIPreC – 25 minutes before the end of the myocardial ischemia period, RIPostC – 10 minutes

after the end of the myocardial ischemia period, RIPreC + RIPostC – 25 minutes before the start and 10 minutes after the end of myocardial ischemia. It was shown that the combined use of RIPreC and RIPostC had a comparable cardioprotective effect in comparison with each of these methods taken separately. Possible reasons explaining the lack of potentiation of the cardioprotective effect of the combined use of RIPreC with RIPostC can presumably be attributed to: 1) achieving maximum cardioprotection, i.e. the impossibility to further reduce the area of myocardial ischemia, 2) the effect on similar intracellular cardioprotective mechanisms in different conditioning modes.

В настоящее время в Республике Беларусь сердечно-сосудистые заболевания занимают 1-е место среди причин смертности населения [1]. В структуре сердечно-сосудистой патологии, одним из самых распространенных заболеваний является ишемическая болезнь сердца (ИБС) [1, 2]. Одним из опасных осложнений данной патологии является развитие инфаркта миокарда, в основе развития которого, в свою очередь, лежит ишемическое и реперфузионное повреждение сердца. Размер необратимого ишемического и реперфузионного повреждения миокарда в период инфаркта определяет дальнейшее развитие сердечной недостаточности и прогноз заболевания. В виду этой причины, поиск методик, ограничивающих размер инфаркта, является одной из приоритетных задач современной кардиологии – в медицине появляется термин «кардиопротекция». Понятие «кардиопротекция» включает в себя все алгоритмы воздействия, а также медикаментозные средства, способствующие сохранению жизнеспособности миокарда путем уменьшения ишемического/реперфузионного повреждения [3]. Одними из самых эффективных методик кардиопротекции в настоящее время являются различные алгоритмы дистантного ишемического кондиционирования (ДИК) миокарда. [3, 4]. Существуют литературные данные, свидетельствующие о том, что различные методики ДИК, различающиеся в зависимости от времени применения относительно периода ишемии/реперфузии миокарда в эксперименте, оказывают различную степень кардиопротекции [4, 5, 6]. Такие данные, предположительно, можно объяснить вовлечением различных молекулярных механизмов кардиопротекции, присущих только определенным методикам ДИК. Логически, отсюда следует предположение о том, что комбинированное применение различных методик ДИК может приводить к потенцированию их кардиопротекторного эффекта.

Целью настоящей работы была экспериментальная проверка гипотезы потенцирования кардиопротекторного эффекта при комбинированном применении дистантного ишемического preconditionирования (ДИПреК) и дистантного ишемического postconditionирования (ДИПостК) при ишемии/реперфузии миокарда у крыс.

Материалы и методы

Исследование было выполнено на 38 белых крысах-самцах, массой 300 ± 20 г, возрастом 4 ± 1 мес. Животные были разделены на 4 группы: Контроль ($n = 8$), ДИПреК ($n = 12$), ДИПостК ($n = 10$), ДИПреК+ДИПостК ($n = 8$).

Общая анестезия проводилась тиопенталом натрия (вводная доза 50 мг/кг, поддерживающая 10 мг/кг/ч). Адекватная анестезия обеспечивалась поддержанием стабильного уровня артериального давления и частоты сердечных сокращений и контролировалась отсутствием реакции крысы на сухожильный рефлекс.

Правую сонную артерию и левую яремную вену катетеризировали для измерения артериального давления и введения анестетика соответственно. Трахею канюлировали и переводили крысу на аппарат ИВЛ. Стандартная ЭКГ регистрировалась по II-му стандартному отведению в течение всего эксперимента. Температуру тела поддерживали на уровне $37,0 \pm 0,2$ °C с помощью электрогрелки.

Вскрытие грудной клетки проводилось в IV-м межреберном промежутке. Далее, производилось прошивание стенки миокарда 5–0 моноволоконистой полипропиленовой нитью с целью кратковременной окклюзии нисходящей ветви левой коронарной артерии (ЛКА). Успешная окклюзия коронарной артерии подтверждалась подъемом сегмента ST и немедленным падением артериального давления на 15–30 мм. рт. ст.

Во всех выполненных моделях ишемического/реперфузионного повреждения миокарда методика эксперимента включала 30-минутную окклюзию ЛКА и последующую 120-минутную реперфузию.

Дистантное ишемическое кондиционирование вызывалось кратковременной окклюзией обеих бедренных артерий с последующей реперфузией конечностей, начинающихся в следующие моменты времени: ДИПреК – за 25 минут до периода ишемии миокарда, ДИПостК – через 10 минут после окончания ишемии миокарда, ДИПреК+ДИПостК – за 25 минут и через 10 минут после окончания ишемии миокарда.

В конце периода реперфузии производилось повторное пережатие ЛКА и введение 1 мл 1%-го р-ра синьки Эванса в яремную вену для оценки зоны риска. Затем животному вызывали передозировку анестетиком (тиопентал натрия в дозировке 250 мг/кг),

сердце вырезали, а левый желудочек выделяли, замораживали и разрезали на пять или шесть поперечных срезов от верхушки до основания сердца. Срезы взвешивали и сканировали. Зона риска была разграничена от здорового миокарда отсутствием окрашивания синькой Эванса.

Затем срезы левого желудочка инкубировали в 1% растворе 2,3,5-трифенилтетразолияхлорида в течение 15 минут при 37 °C, а далее фиксировали в 4% растворе формалина в течение 24 часов и снова сканировали.

Жизнеспособный миокард окрашивался красно-кирпичным цветом 2,3,5-трифенилтетразолием хлоридом, тогда как некротизированный миокард оставался бледно-желтым.

Зона риска и зона некроза были определены с помощью компьютерной планиметрии, нормализованной по весу каждого среза, причем степень некроза (то есть размер инфаркта) выражалась в процентах от зоны риска. Размеры зоны риска и зоны некроза определяли в программе AdobePhotoshop 13.

Статистическая значимость различий оценивалась при помощи дисперсионного анализа ANOVA. Данные представлены в виде $M \pm m$. Значения $p < 0,001$ расценивались как достоверные.

Результаты и обсуждение

Размер зоны некроза миокарда левого желудочка в контрольной группе составил $41 \pm 2\%$ ($p < 0,001$) (рис. 1).

ДИПреК, применяемое за 25 минут до периода ишемии миокарда, приводило к уменьшению очага некроза в миокарде. Размер очага некроза составил $19 \pm 1\%$ ($p < 0,001$). ДИПостК, применяемое через 10 минут после периода ишемии миокарда, также приводило к уменьшению очага некроза миокарда. Размер очага некроза составил $18,3 \pm 3\%$ ($p < 0,001$). Комбинация ДИПреК и ДИПостК, применяемая до и после периода 30-минутной ишемии миокарда, также оказывала выраженный кардиопротекторный эффект. Размер очага некроза составил $28,3 \pm 2\%$ ($p < 0,001$).

Таким образом, результаты исследования показали, что комбинированное применение ДИПреК с ДИПостК не сопровождается потенцированием кардиопротекторного эффекта, по сравнению с каждой из этих методик взятой в отдельности.

Представленная модель ишемии/реперфузии отображает в основном те патофизиоло-

REFERENCES

1. Mrochek, A.G., Grakovich A.A., Kozlov I.D., Gorbachev V.V. *Serdechno-sosudistye zabolevaniya v Respublike Belarus: analiz situatsii i strategii kontrolya* [Cardiovascular diseases in the Republic of Belarus: situation analysis and control strategies]. Minsk: Belarus. navuka, 2011. 342 s. (in Russian).
2. Virani S.S., Alonso A., Benjamin E.J., Bittencourt M.S., Callaway C.W., Carson A.P., Chamberlain A.M., Chang A.R., Cheng S., Delling F.N., et al. Heart disease and stroke statistics – 2020 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*, 2020, vol. 141, no. 9, pp. e139–1596. doi: 10.1161/CIR.0000000000000757.

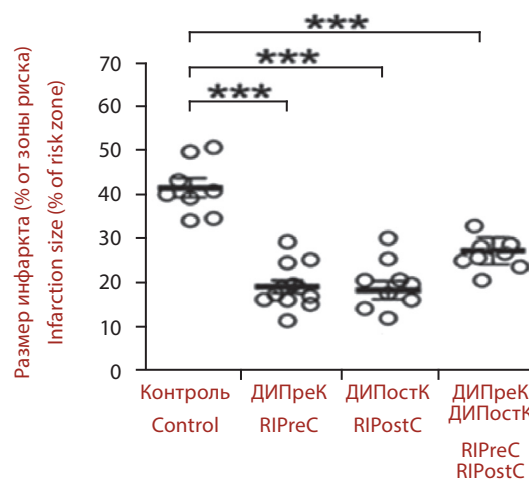


Рис. 1. Размер зоны некроза в миокарде левого желудочка при различных методиках ДИК миокарда у крыс (***) $p < 0,001$

Fig. 1. The size of the necrosis zone in the left ventricular myocardium in different RIC methods of the myocardium in rats (***) $p < 0,001$

логические, биохимические и ультраструктурные изменения, которые наблюдаются у пациентов с острым инфарктом миокарда.

Отсутствие потенцирования кардиопротекторного эффекта при комбинированном применении ДИПреК и ДИПостК остается не совсем понятным. При планировании настоящего исследования мы приняли во внимание исследования Basalay et al. (2012), свидетельствующие о том, что кардиопротекторные механизмы дистантного ишемического пре- и посткондиционирования различны [4]. В другом исследовании было показано, что такие известные молекулярные внутриклеточные механизмы кардиопротекции, как RISK и SAFE, лежат в основе ДИПреК, однако отсутствуют литературные данные, свидетельствующие об участии данных механизмов кардиопротекции при ДИПостК [5].

Заключение

Результаты исследования показали, что комбинированное применение ДИПреК с ДИПостК не сопровождается потенцированием кардиопротекторным эффектом.

К возможным причинам отсутствия потенцирования противоишемического эффекта комбинированной методики ДИК в данной работе можно предположительно отнести:

1. Достижение максимальной кардиопротекции, т.е. невозможность дальнейшего уменьшения зоны ишемии миокарда.

2. Воздействие на аналогичные внутриклеточные кардиопротекторные механизмы при различных режимах кондиционирования.

3. Kubler W., Haass M. Cardioprotection: definition, classification, and fundamental principles. *Heart*, 1996, vol. 75, no. 4, pp. 330–333. doi: 10.1136/hrt.75.4.330.
4. Basalay M., Barsukevich V., Mastitskaya S., Mrochek A., Pernow J., Sjöquist P.-O., Ackland G.L., Gourine A.V., Gourine A. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms. *Exp Physiol*, 2012, vol. 97, no. 8, pp. 908–917. doi: 10.1113/expphysiol.2012.064923.
5. Basalay M.V., Davidson S.M., Gourine A.V., Yellon D.M. Neural Mechanisms in Remote Ischaemic Conditioning in the Heart and Brain: Mechanistic and Translational Aspects. *Basic Res Cardiol*, 2018, vol. 113, no. 4, pp. 25–27. doi: 10.1007/s00395-018-0684-z.
6. Heusch G., Bøtker H.E., Przyklenk K., Redington A., Yellon D. Remote Ischemic Conditioning. *J Am Coll Cardiol*, 2015, vol. 65, no. 2, pp. 177–195. doi: 10.1016/j.jacc.2014.10.031.

Поступила 29.05.2020