

Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКАЯ И АНТИАРИТМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРFUЗИИ МИОКАРДА У КРЫС С ГИПЕРХОЛЕСТЕРОЛЕМИЕЙ

Поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда является актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины. В клинической практике необходимость защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения чаще всего возникает у пациентов с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, к числу которых относится и гиперхолестеролемиа.

Целью исследования было выявление воспроизводимости противоишемического и антиаритмического эффектов дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПостК) миокарда у крыс с гиперхолестеролемией. Установлено, что ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с гиперхолестеролемией не эффективно в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка и эффективно в плане снижения продолжительности нарушений сердечного ритма. Длительность ишемических нарушений сердечного ритма уменьшалась на 85 % ($p < 0,05$). Результаты исследования имеют важное значение для практической медицины. Полученные данные свидетельствуют о необходимости дифференцированного подхода к назначению ДИПостК пациентам с острым инфарктом миокарда. Наличие такого фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний, как гиперхолестеролемиа, может служить критерием для исключения ДИПостК с целью снижения ишемических и реперфузионных повреждений миокарда у таких пациентов.

Ключевые слова: противоишемический эффект, антиаритмический эффект, дистантное ишемическое посткондиционирование, гиперхолестеролемиа, зона риска, зона некроза.

F. I. Vismont, S. N. Chepelev, P. F. Jushkevich

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

ANTIISCHEMIC AND ANTIARRHYTHMIC EFFICIENCY OF REMOTE ISCHEMIC POST-CONDITIONING DURING ISCHEMIA-REPERFUSION IN RATS WITH HYPERCHOLESTEROLEMIA

The search for new effective methods of preventing or reducing ischemic myocardial injury is an actual problem of modern experimental and clinical medicine. In clinical practice, the need to protect the myocardium from ischemic and reperfusion injury most often occurs in patients with various risk factors for cardiovascular diseases, including hypercholesterolemia.

The aim of the study was to determine the reproducibility of antiischemic and antiarrhythmic effects of the remote ischemic post-conditioning myocardium of rats with hypercholesterolemia. It was found that the remote ischemic post-conditioning is not effective in terms of necrosis area size limits in the left ventricle during ischemia-reperfusion in rats with hypercholesterolemia. The remote ischemic post-conditioning is effective in reducing the duration of cardiac arrhythmias during acute myocardial ischemia-reperfusion injury in rats with hypercholesterolemia. The duration of ischemic heart rhythm disturbances decreased by 85 % ($p < 0.05$). The results of the performed study are of great importance for practical medicine. The findings indicate the need for a differentiated approach to the appointment of the remote ischemic post-conditioning in patients with acute myocardial infarction. The existence of such a risk factor for cardiovascular diseases such as hypercholesterolemia can be a criterion for exclusion of the remote ischemic post-conditioning as a way of reducing ischemic and reperfusion injury of the myocardium in patients with acute myocardial infarction.

Keywords: antiischemic effect, antiarrhythmic effect, remote ischemic post-conditioning, hypercholesterolemia, risk area, necrosis area.

Введение. В настоящее время ишемическая болезнь сердца (ИБС) является важнейшей причиной смертности в развитых странах мира и в Республике Беларусь в частности [1]. Большая частота инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с инфарктом миокарда обусловили значимость ИБС не только как медицинской, но и как государственной проблемы. В связи с этим поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения

миокарда остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины [2, 3].

В последние годы объектом повышенного интереса ведущих мировых исследователей в области экспериментальной и клинической кардиологии являются кардиопротекторные (противоишемический и антиаритмический) эффекты дистантного ишемического пре- (ДИПК) и посткондиционирования (ДИПостК), которые воспроизводятся с помощью ишемии конечностей, осуществляемой до и после острой ишемии миокарда [4–6].

Важнейшее преимущество ДИПостК перед локальным, облегчающим его внедрение в клиническую практику, состоит в его малой инвазивности, технической простоте и оказании эффекта, сопоставимого с эффектом локального посткондиционирования [2, 5]. Более того, для эффективного применения любого варианта прекодиционирования (локального или дистантного) как меры профилактической кардиопротекции необходимо точно знать время наступления ишемии, что практически невозможно. В связи с этим мощный кардиопротекторный потенциал прекодиционирования остается по большей части клинически не использованным. Таким образом, ишемическое посткондиционирование, особенно дистантное, имеет несомненное преимущество перед различными вариантами прекодиционирования, так как может быть использовано после наступления продолжительной ишемии миокарда, в то время как попытка реализовать прекодиционирование в предынфарктный период осложняется непредсказуемостью времени развития инфаркта.

В клинической практике необходимость защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения чаще всего возникает у пациентов с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, к числу которых относится и гиперхолестеролемиа (ГХЕ).

Как известно, ГХЕ, одно из наиболее распространенных нарушений липидного обмена, является фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний [7]. В современной литературе данные экспериментальных исследований, касающихся воспроизводимости кардиопротекторных эффектов локального ишемического пре- и посткондиционирования у экспериментальных животных с ГХЕ весьма противоречивы. Так, результаты одних исследований указывают на отсутствие противоишемических эффектов локального ишемического пре- и посткондиционирования [8–11], а согласно данным других исследований, напротив, у экспериментальных животных с ГХЕ присутствует выраженный инфарктлимитирующий эффект указанных феноменов [12, 13]. Причины такого расхождения результатов исследований до сих пор не выяснены. В то же время изучение противоишемической и антиаритмической эффективности ДИПостК при наличии такого сопутствующего фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний до сих пор не было предметом специального исследования.

Цель настоящей работы – выявление воспроизводимости противоишемического и антиаритмического эффектов дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с гиперхолестеролемией.

Материалы и методы исследования. Эффективность ДИПостК изучена на 58 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах массой 200–250 г. Возраст животных – 4 ± 1 мес. Эксперименты выполняли в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также требованиями Директивы Европейского этического комитета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 г. [14], Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, от 18.03.1986 г. и ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 г. [15].

Животных содержали в условиях вивария УО «БГМУ» согласно нормативам индивидуального размещения [16]. Световой режим соответствовал естественному уровню освещенности в течение суток. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20–25 °С, что находится в пределах термонейтральной зоны для крыс. Относительная влажность воздуха составляла 50–70 %. Температуру и относительную влажность воздуха регистрировали ежедневно с помощью гигрометра психрометрического ВИТ-1. При выполнении работы особое внимание уделяли шумовому режиму содержания животных, так как высокий уровень шума способствует развитию стресса у крыс. Рацион крыс состоял из комбикорма КК-92/ПХЧ-5, количество которого

определялось нормами кормления лабораторных животных [17]. Питьевой режим соответствовал принципу *ad libitum*. Все манипуляции с крысами в течение дня проводили с 8.00 до 18.00. Формирование экспериментальных групп животных осуществляли методом случайной выборки.

ГХЕ вызывали путем интрагастрального введения крысам ($n = 37$) с помощью металлического атравматического зонда длиной 8 см и оливкой диаметром 2 мм 10 %-ного раствора холестерина (Sigma, США), приготовленного на оливковом масле, в дозе 10 мл/кг 1 раз в сутки в течение 10 сут. Контролем служили животные с аналогичными характеристиками ($n = 21$), которым в течение 10 сут интрагастрально вводили оливковое масло в дозе 10 мл/кг (крысы без ГХЕ). Для подтверждения наличия ГХЕ у животных выполняли биохимическое исследование сыворотки крови с помощью биохимического анализатора Olympus (8 крыс с ГХЕ, 8 крыс без ГХЕ). С этой целью из левой общей яремной вены осуществляли забор крови в объеме 1 мл. При проведении биохимического исследования в сыворотке крови крыс с помощью ферментативного метода определяли содержание общего холестерина (ОХ) и триглицеридов (ТГ), используя наборы реагентов научно-технического производственного кооператива «Анализ Х» (Беларусь).

Острую коронарную недостаточность у крыс воспроизводили по методике, описанной С. Clark и соавт. [18]. Моделирование острой коронарной недостаточности у крыс с ГХЕ/без ГХЕ выполняли через 24 ч после последнего введения животным холестерина/оливкового масла. Для наркотизации животных использовали этаминал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг·ч. Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом при помощи аппарата ИВЛ (частота дыхания составляла 56–60 в минуту). Наличие проходимости дыхательных путей контролировали по давлению в трахее, нормальным значением которого на вдохе считалось 10–15 мм рт. ст. 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 четвертом межреберном промежутке слева. После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам выполняли 30-минутную окклюзию передней нисходящей коронарной артерии (ПНКА) путем механического ее пережатия при помощи фишки. Согласно современным экспериментальным данным, считается, что длительность коронарной окклюзии у крыс, равная 30–40 мин, является достаточной для формирования зоны некроза миокарда, составляющей около 50 % от зоны риска [5]. Окклюзия артерии подтверждалась цианозом ишемизированной области, снижением артериального давления (АД) на 10–20 мм рт. ст. и подъемом сегмента ST на ЭКГ. Реперфузия миокарда достигалась путем удаления фишки и подтверждалась исчезновением цианоза и возвращением сегмента ST к изолинии. Длительность реперфузии составляла 120 мин, поскольку, согласно имеющимся литературным данным, указанный интервал времени является достаточным для формирования в миокарде крыс зоны некроза [19].

ДИПостК выполняли в соответствии с протоколом исследования, представленным М. Basalay и соавт. [5], согласно которому животные опытных групп с ГХЕ (ДИПостК, $n = 12$) дополнительно подвергались воздействию 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий через 10 мин после 30-минутной острой ишемии миокарда. Через 24 ч после последнего введения оливкового масла по этому же протоколу выполняли эксперименты на крысах без ГХЕ (контроль, $n = 7$; ДИПостК, $n = 7$).

В ходе экспериментов непрерывно регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД, полученные при этом данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Spike 4. Для определения АД крысам канюлировали правую общую сонную артерию. Изучали также следующие показатели гемодинамики: среднее АД (AD_{cp}), частоту сердечных сокращений (ЧСС), двойное произведение (ДП). AD_{cp} рассчитывали как АД диастолическое + 1/3 (АД систолическое – АД диастолическое), ДП – как ЧСС×АД систолическое/100. Показатели гемодинамики регистрировали непрерывно в течение эксперимента и оценивали в конце 15-минутной стабилизации гемодинамики после вскрытия грудной клетки, в начале 30-минутной окклюзии ПНКА, в начале реперфузии, а также каждые 30 мин в течение реперфузии.

Зону риска выявляли путем внутривенного введения в левую общую яремную вену 0,5 мл 5 %-ного раствора синьки Эванса (Sigma, США). Для идентификации зоны риска в миокарде ле-

вого желудочка крыс использовали метод, основанный на выявлении активности дегидрогеназ [19]. Зона риска определялась как зона, не окрашенная в синий цвет. Затем сердце извлекали и отделяли правый желудочек. После замораживания в морозильной камере (при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин) левый желудочек разрезали на 6 поперечных срезов, которые затем взвешивали на торсионных весах и сканировали при помощи сканера HP с обеих сторон. После этого для идентификации зоны некроза срезы помещали в 1 %-ный раствор трифенилтетразолия хлорида на 15 мин при температуре $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Жизнеспособный миокард (клетки, сохранившие дегидрогеназную активность) окрашивался в кирпично-красный цвет, а некротизированная ткань была белесой. После 24-часовой инкубации в 10 %-ном растворе формалина срезы сканировали повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза. При помощи компьютерной планиметрии и взвешивания срезов миокарда левого желудочка определяли соотношение масс зон риска и зон некроза с использованием программы Adobe Photoshop 6.0.

Для оценки антиаритмического эффекта ДИПостК определяли общую длительность нарушенный 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 оценивали наличие реперфузионных нарушений сердечного ритма. На основе полученных данных рассчитывали медиану (Me) и интерквартильный размах (25-й; 75-й процентиля). При сравнении групп использовали критерий Крускала–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна.

Критериями исключения животных из опытов являлись ЧСС < 300 уд/мин и АД_{ср} < 60 мм рт. ст. до начала эксперимента.

Полученные в ходе исследования результаты анализировали с использованием стандартных пакетов статистических программ Statistica 8.0 и GraphPad Prism. Для оценки нормальности распределения анализируемых показателей применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий полученных данных в случае их параметрического распределения оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони. Результаты исследования при их параметрическом распределении представлялись в виде $M \pm m$ (среднее \pm стандартная ошибка среднего). Для оценки статистической значимости различий в случае непараметрического распределения данных использовали критерий Крускала–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна. При непараметрическом распределении результаты исследования представляли в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля). Статистическую значимость различий качественных параметров оценивали с помощью точного метода Фишера (ТМФ). Уровень $p < 0,05$ рассматривался как статистически значимый.

Результаты и их обсуждение. Выживаемость крыс с ГХЕ после острой коронарной окклюзии составила 56,8 % (16 крыс из 37 погибли во время острой ишемии миокарда). Причем показатель выживаемости в контрольной группе составил 63,6 %, в группе ДИПостК – 58,3 %.

У крыс с ГХЕ ($n = 8$) содержание ОХ в сыворотке крови составило $5,74 \pm 0,44$ ммоль/л ($p < 0,01$), ТГ – $1,21 \pm 0,17$ ммоль/л ($p < 0,01$). У крыс без ГХЕ ($n = 8$) содержание ОХ составило $1,61 \pm 0,14$ ммоль/л, ТГ – $0,50 \pm 0,05$ ммоль/л. Таким образом, результаты биохимического исследования сыворотки крови свидетельствовали о наличии ГХЕ у крыс, которым в течение 10 сут интрагастрально вводили 10 %-ный раствор холестерина.

Изменения показателей гемодинамики на протяжении эксперимента (после вскрытия грудной клетки, в начале 30-минутной ишемии миокарда, в начале реперфузии и далее каждые 30 мин в течение реперфузии) у крыс с ГХЕ ($n = 7$) и крыс без ГХЕ ($n = 7$) представлены в таблице.

В группах крыс с ГХЕ в течение первых минут после окклюзии ПНКА отмечалось кратковременное (3–5 мин), статистически не значимое снижение АД_{ср} (примерно на 10–15 мм рт. ст.). В дальнейшем в период реперфузии миокарда показатель АД_{ср} во всех группах крыс с ГХЕ оставался относительно стабильным по сравнению с его исходным значением ($p < 0,05$). Статистически значимых отличий по показателю ЧСС между крысами с ГХЕ в исследуемых группах на протяжении всего эксперимента не выявлено ($p > 0,05$). В начале реперфузии миокарда во всех группах крыс с ГХЕ отмечалось статистически не значимое повышение ЧСС (примерно на 20–30 уд/мин).

**Показатели гемодинамики (АД_{ср}, мм рт. ст., и ЧСС, уд/мин) у животных контрольной группы
Hemodynamics indices (AP_{mean}, mm Hg, and HR, bpm) of the animals of the control group and in the remote
ischemic post-conditioning groups of rats with hypercholesterolemia and without hypercholesterolemia**

Показатель		Контроль		ДИПостК	
		Крысы с ГХЕ	Крысы без ГХЕ	Крысы с ГХЕ	Крысы без ГХЕ
До начала ОИМ	АД _{ср}	76 ± 5	86 ± 5	73 ± 3	73 ± 3
	ЧСС	424 ± 16	417 ± 9	456 ± 11	410 ± 16
Начало ОИМ	АД _{ср}	73 ± 3	77 ± 8	64 ± 3	74 ± 4
	ЧСС	425 ± 12	439 ± 6	433 ± 19	429 ± 14
Начало реперфузии	АД _{ср}	78 ± 5	74 ± 2	67 ± 2	74 ± 4
	ЧСС	446 ± 25	413 ± 16	44 ± 8	410 ± 23
30' реперфузии	АД _{ср}	83 ± 7	74 ± 4	72 ± 4	75 ± 4
	ЧСС	466 ± 20	411 ± 12	446 ± 19	404 ± 22
60' реперфузии	АД _{ср}	77 ± 8	73 ± 4	73 ± 5	78 ± 4
	ЧСС	433 ± 13	413 ± 15	467 ± 24	410 ± 22
90' реперфузии	АД _{ср}	71 ± 6	78 ± 3	69 ± 6	77 ± 4
	ЧСС	432 ± 13	433 ± 14	462 ± 25	396 ± 19
120' реперфузии	АД _{ср}	70 ± 5	82 ± 5	67 ± 6	85 ± 3
	ЧСС	434 ± 10	436 ± 20	435 ± 19	426 ± 16

В дальнейшем в период реперфузии ЧСС у крыс с ГХЕ оставалась относительно стабильной по сравнению с исходными значениями данного показателя ($p < 0,05$).

При сравнении ДП, характеризующего потребность миокарда в кислороде, во всех группах крыс с ГХЕ и крыс без ГХЕ до начала эксперимента статистически значимых различий не выявлено ($p > 0,05$). На протяжении эксперимента значения ДП в группах крыс с ГХЕ и крыс без ГХЕ статистически значимо не отличались от исходных ($p > 0,05$).

Длительность нарушений ритма сердца во время 30-минутной ишемии миокарда у крыс с ГХЕ и крыс без ГХЕ представлена на рис. 1.

У крыс с ГХЕ во время 30-минутной ишемии миокарда продолжительность нарушений сердечного ритма в контрольной группе составила 315 (157; 563) с, в группе после ДИПостК – 96 (76; 156) с ($p < 0,05$). У крыс без ГХЕ длительность аритмии во время острой ишемии миокарда в контрольной

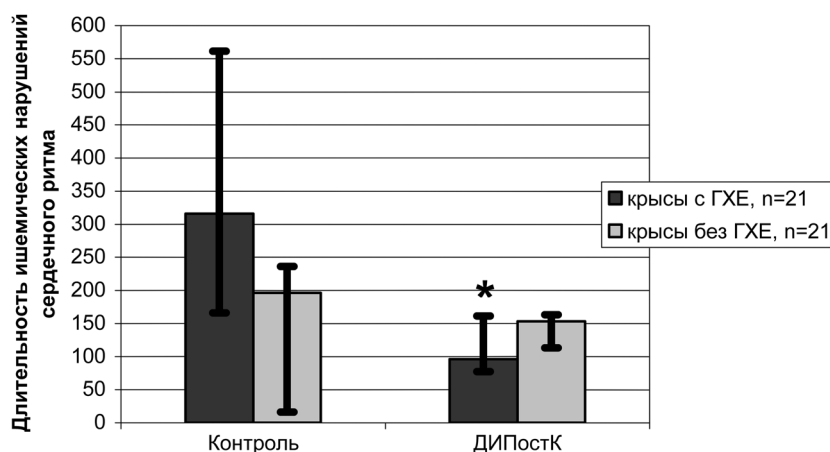


Рис. 1. Длительность нарушений сердечного ритма (в секундах) во время 30-минутной ишемии миокарда у животных контрольной группы и у крыс, которым воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГХЕ и крысы без ГХЕ).
* – статистически значимые отличия длительности ишемических нарушений сердечного ритма у крыс с ГХЕ в группе ДИПостК по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе ($p < 0,05$)

Fig. 1. Duration of ischemic heart rhythm disturbances (in seconds) for 30-min myocardium ischemia of the animals of the remote ischemic post-conditioning groups (rats with hypercholesterolemia and rats without hypercholesterolemia).
* – statistically important differences of the duration of ischemic heart rhythm disturbances of rats with hypercholesterolemia in the remote ischemic post-conditioning group in comparison to the same index in the control group ($p < 0,05$)

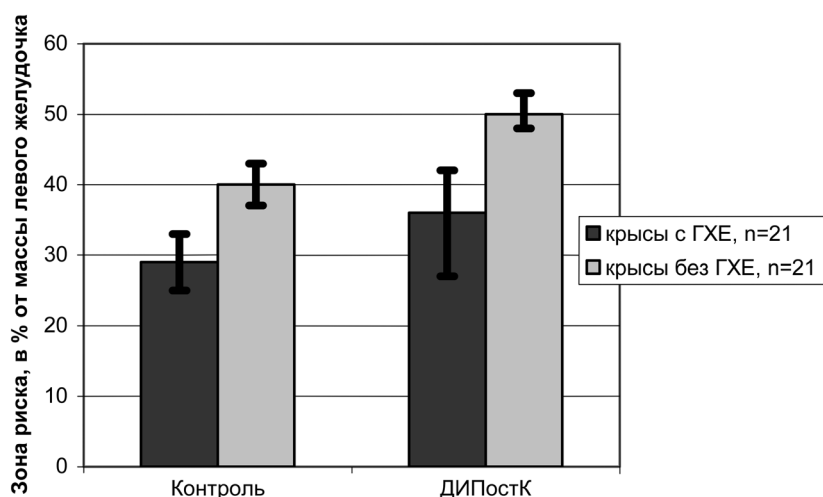


Рис. 2. Размеры зоны риска (в % от массы левого желудочка) в контрольной группе и в группах крыс, в которых воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГХЕ и крысы без ГХЕ)

Fig. 2. Risk area sizes (% of the mass of the left ventricle) in the control group and in the remote ischemic post-conditioning groups (rats with hypercholesterolemia and rats without hypercholesterolemia)

группе составила 198 (14; 239) с, в группе с ДИПостК – 153 (109; 166). При этом у 5 из 7 крыс отмечалась ФЖ, а у 6 из 7 – ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма имели место у 6 крыс контрольной группы. В группе крыс с ГХЕ, в которой воспроизводилось ДИПостК, во время острой ишемии миокарда отмечались нарушения ритма сердца продолжительностью от 19 до 188 с. Лишь у 1 из 7 крыс данной группы выявлена ФЖ, а ПЖТ – у 5. Реперфузионные нарушения сердечного ритма выявлены у 3 животных группы ДИПостК.

Таким образом, установлено, что, несмотря на то что ДИПостК не оказывает влияния на нарушения сердечного ритма во время острой ишемии миокарда, в группе ДИПостК у крыс с ГХЕ имеет место статистически значимое снижение продолжительности ишемических нарушений сердечного ритма по сравнению с таковой у крыс с ГХЕ контрольной группы.

При воспроизведении ДИПостК у крыс без ГХЕ длительность аритмий во время острой коронарной ишемии в контрольной группе составила 230 (102; 302) с, в группе ДИПостК – 212 (99; 301) с. Следовательно, у крыс без ГХЕ показатели длительности аритмий во время острой коронарной ишемии в контрольной группе и в группе ДИПостК сопоставимы.

Несмотря на наличие тенденции к снижению размеров зоны риска в миокарде левого желудочка у крыс с ГХЕ всех групп по сравнению с крысами без ГХЕ, статистически значимых различий по данному показателю между анализируемыми группами крыс с ГХЕ и крыс без ГХЕ не выявлено ($p > 0,05$). Таким образом, размеры зоны риска во всех группах крыс были сопоставимы (рис. 2).

На рис. 3 представлены размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка у крыс с ГХЕ и у крыс без ГХЕ. Размер зоны некроза в миокарде левого желудочка в контрольной группе крыс с ГХЕ составил 38 ± 4 %, у крыс без ГХЕ – 44 ± 5 %. В группе крыс с ГХЕ, в которых воспроизводилось ДИПостК, отмечался сопоставимый с группой контроля размер зоны некроза – 43 ± 6 %. У крыс без ГХЕ контрольной группы выявлена зона некроза размером 46 ± 4 %, а в группе ДИПостК – размером 25 ± 2 % ($p < 0,01$).

Следовательно, данные исследования свидетельствуют об отсутствии противоишемического эффекта ДИПостК у крыс с ГХЕ. У крыс без ГХЕ, напротив, воспроизводится выраженный противоишемический эффект ДИПостК.

Согласно современным представлениям, размер очага некроза в миокарде зависит от множества факторов, в частности от длительности ишемии миокарда, размера зоны риска, температуры тела, состояния сосудистого русла, наличия сопутствующих заболеваний и нарушений обмена веществ, в том числе липидного обмена. В ходе исследования длительность ишемии миокарда и температура тела животных имели одинаковые значения во всех экспериментальных группах. Учитывая наличие тенденции к снижению размеров зоны риска в миокарде левого желудочка

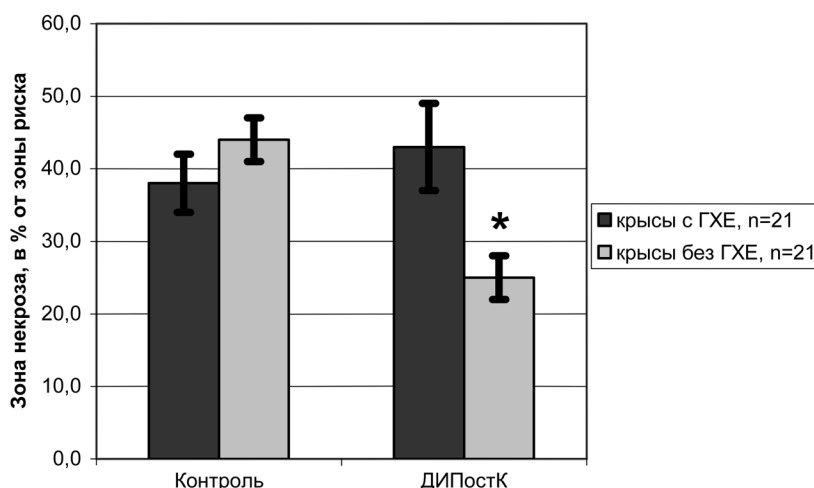


Рис. 3. Размеры зоны некроза (в % от зоны риска) в контрольной группе и в группах крыс, в которых воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГХЕ и крысы без ГХЕ). * – статистически значимые отличия размеров зоны некроза в группе ДИПостК по сравнению с контрольной группой крыс без ГХЕ ($p < 0,01$)

Fig. 3. Necrosis area sizes (% of the risk area) in the control group and in the remote ischemic post-conditioning groups (rats with hypercholesterolemia and rats without hypercholesterolemia). * – statistically important differences in the necrosis area sizes in the remote ischemic post-conditioning group of rats in comparison with the control group of rats without hypercholesterolemia ($p < 0.01$)

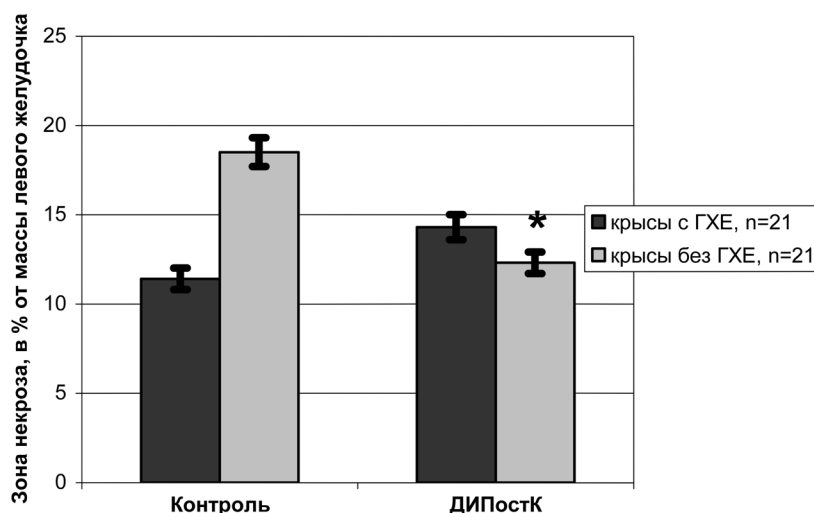


Рис. 4. Размеры зоны некроза (в % от массы левого желудочка) в контрольной группе и в группах крыс, в которых воспроизводилось ДИПостК (крысы с ГХЕ и крысы без ГХЕ). * – статистически значимые отличия размеров зоны некроза в группе ДИПостК по сравнению с контрольной группой у крыс без ГХЕ ($p < 0,01$)

Fig. 4. Necrosis area sizes (% of the mass of the left ventricle) in the control group and in the remote ischemic post-conditioning groups (rats with hypercholesterolemia and rats without hypercholesterolemia). * – statistically important differences in the necrosis area sizes in the remote ischemic post-conditioning group in comparison with the control group of rats without hypercholesterolemia ($p < 0.01$)

в группе крыс с ГХЕ по сравнению с крысами без ГХЕ, можно предполагать, что меньшие размеры зоны риска у крыс с ГХЕ способствовали формированию более низких значений размеров зоны некроза миокарда. Дополнительный расчет размеров зоны некроза миокарда (в % от массы левого желудочка) показал, что средняя зона некроза в контрольной группе крыс с ГХЕ $11,4 \pm 0,6 \%$, у крыс без ГХЕ – $18,5 \pm 0,8 \%$ (рис. 4). В группе крыс с ГХЕ, в которых воспроизводилось ДИПостК, размер зоны некроза составил $14,3 \pm 0,7 \%$, у крыс без ГХЕ – $12,3 \pm 0,6 \%$ ($p < 0,01$). Таким образом, в группах крыс с ГХЕ, в которых воспроизводилось ДИПостК, размеры зоны некроза также были сопоставимы с таковыми в контрольной группе. Следовательно, есть основания полагать, что в данной ситуации размеры зоны риска в миокарде левого желу-

дочка не оказывали существенного влияния на воспроизводимость противоишемического эффекта ДИПостК у крыс с ГХЕ.

Известно, что при наличии ГХЕ у экспериментальных животных отсутствие противоишемического эффекта локального ишемического пре- и посткондиционирования может быть связано с нарушением синтеза монооксида азота (NO), который также имеет важное значение в реализации кардиопротекторных эффектов указанных феноменов [20–22]. В частности, при ГХЕ нарастающая митохондриальная дисфункция сопровождается повышением оксидации тетрагидробиоптерина (ТГБП), что приводит к снижению его содержания в клетке. Потеря ТГБП как молекулы-кофактора эндотелиальной NO-синтазы вызывает значительное снижение активности данного фермента.

Таким образом, принимая во внимание возможную общность механизмов реализации кардиопротекторных эффектов феноменов локального и дистантного ишемического посткондиционирования, нарушение синтеза NO может объяснить отсутствие противоишемического эффекта ДИПостК у крыс с экспериментальной моделью ГХЕ.

Заключение. Установлено, что дистантное ишемическое посткондиционирование у крыс с ГХЕ не эффективно в плане ограничения размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка при ишемии-реперфузии миокарда и эффективно в плане снижения продолжительности нарушений сердечного ритма во время острой ишемии-реперфузии миокарда.

Список использованных источников

1. Сердечно-сосудистые заболевания в Республике Беларусь: анализ ситуации и стратегии контроля / А. Г. Мрочек [и др.] ; Нац. акад. наук Беларуси, Отд-ние мед. наук, Респ. науч.-практ. центр «Кардиология». – Минск : Беларус. наука, 2011. – 341 с.
2. Шляхто, Е. В. Ограничение ишемического и реперфузионного повреждения миокарда с помощью пре- и посткондиционирования: молекулярные механизмы и мишени для фармакотерапии / Е. В. Шляхто, Е. М. Нифонтов, М. М. Галагурда // Креатив. кардиология. – 2007. – № 1/2. – С. 75–101.
3. Cokkinos, D. V. Myocardial protection in man – From research concept to clinical practice / D. V. Cokkinos, C. Pantos // Heart Fail. Rev. – 2007. – Vol. 12, N 3/4. – P. 345–362.
4. Hausenloy, D. J. Preconditioning and postconditioning: united at reperfusion / D. J. Hausenloy, D. M. Yellon // Pharmacol Ther. – 2007. – Vol. 116, iss. 2. – P. 173–191.
5. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay [et. al.] // J. Exp. Physiol. – 2012. – Vol. 97, N 8. – P. 908–917.
6. Schmidt, M. R. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation / M. R. Schmidt, S. B. Kristiansen, H. E. Botker // Circ. Res. – 2013. – Vol. 113, N 12. – P. 1278–1280.
7. Effect of hypercholesterolemia on myocardial necrosis and apoptosis in the setting of ischemia-reperfusion / R. M. Osipov [et al.] // Circulation. – 2009. – Vol. 120, suppl. 11. – P. 22–30.
8. The loss of pacing-induced preconditioning in atherosclerotic rabbits: role of hypercholesterolemia / Z. Szilvassy [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1995. – Vol. 27, iss. 12. – P. 2559–2569.
9. The cardioprotective effect of postconditioning is lost in cholesterol diet-induced hyperlipidemia in rats / K. Krisztina [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2006. – Vol. 40, iss. 6. – P. 976–977.
10. Hypercholesterolemia fibrogates the cardioprotection of ischemic postconditioning in isolated rat heart: roles of glycogen synthase kinase-3 β and the mitochondrial permeability transition pore / N. Wu [et al.] // Cell. Biochem. Biophys. – 2014. – Vol. 69, iss. 1. – P. 123–130.
11. High cholesterol diet effects on ischemia-reperfusion injury of the heart / V. D'Annunzio [et al.] // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 2012. – Vol. 90, iss. 9. – P. 1185–1196.
12. Preconditioning limits myocardial infarct size in hypercholesterolemic rabbits / D. T. Kremastinos [et al.] // Atherosclerosis. – 2000. – Vol. 150, iss. 1. – P. 81–89.
13. The effectiveness of postconditioning and preconditioning on infarct size in hypercholesterolemic and normal anesthetized rabbits / E. K. Iliodromitis [et al.] // Atherosclerosis. – 2006. – Vol. 188, iss. 2. – P. 356–362.
14. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes [Electronic resource]. – Mode of access: www.eur-lex.europa.eu. – Date of access: 21.05.2012.
15. Надлежащая лабораторная практика = Належная лабораторная практика = Good Laboratory Practice (GLP) : ТКП 125-2008 (02040). – Введ. 01.05.2008. – Минск : М-во здравоохранения Респ. Беларусь, 2008. – 35 с. – (Технический кодекс установившейся практики).
16. Ветеринарно-санитарные правила по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станциях, лабораториях, учебных заведениях, а также в питомниках [Электронный ресурс] : ВСП, 21 мая 2010 г., № 36 // Национальный фонд технических нормативных правовых актов Республики Беларусь. – Режим доступа: www.tnra.by. – Дата доступа: 11.05.2012.

17. О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов [Электронный ресурс] : приказ М-ва здравоохранения СССР, 10 марта 1966 г., № 163 // Полное собрание законодательства СССР. – Режим доступа: www.ussrdoc.com. – Дата доступа: 01.04.2012.
18. Clark, C. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size / C. Clark // *J. Pharmacol. Methods*. – 1980. – Vol. 3, N 4. – P. 357–368.
19. Fishbein, M. C. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique / M. C. Fishbein // *Am. Heart J.* – 1981. – Vol. 101, N 5. – P. 593–600.
20. Ischemic preconditioning and infarct mass: the effect of hypercholesterolemia and endothelial dysfunction / O. Jung [et al.] // *Clin. Exp. Hypertens.* – 2000. – Vol. 22, iss. 2. – P. 165–179.
21. Sack, M. The role of co-morbidities in cardioprotection / M. Sack, E. Murphy // *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 16, N 3/4. – P. 267–272.
22. Самойлов, М. О. Сигнальные молекулярные и гормональные механизмы формирования протективных эффектов гипоксического preconditionирования / М. О. Самойлов, Е. А. Рыбникова, А. В. Чурилова // *Патолог. физиология и эксперим. терапия*. – 2012, № 3. – С. 3–10.

References

1. Mrochek A. G., Grakovich A. A., Kozlov I. D., Gorbachev V. V. *Cardiovascular diseases in the Republic of Belarus: the analysis of the situation and control strategy*. Minsk, Belaruskaja navuka [Belarusian science], 2011, 341 p. (in Russian).
2. Shliakhto E. V., Nifontov E. M., Galagurda M. M. Limitation of ischemic and reperfusion injury of the myocardium using pre- and postconditioning: molecular mechanisms and targets for pharmacotherapy. *Kreativnaia kardiologija* [Creative Cardiology], 2007, no. 1/2, pp. 75–101. (in Russian).
3. Cokkinos D. V., Pantos C. Myocardial protection in man – From research concept to clinical practice. *Heart Failure Reviews*, 2007, vol. 12, no. 3/4, pp. 345–362. doi: 10.1007/s10741-007-9030-5.
4. Haunsenloy D. J., Yellon D. M. Preconditioning and postconditioning: united at reperfusion. *Pharmacology & Therapeutics*, 2007, vol. 116, no. 2, pp. 173–191. doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.06.005.
5. 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. *Journal of Experimental Physiology*, 2012, vol. 97, no. 8, pp. 908–917. doi: 10.1113/expphysiol.2012.064923.
6. Schmidt M. R., Kristiansen S. B., Botker H. E. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation. *Circulation Research*, 2013, no. 12, pp. 1278–1280. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.302942.
7. Osipov R. M., Bianchi C., Feng J., Clements R. T., Liu Yu., Robich M. P., Glazer H. P., Sodha N. R., Sellke F. W. Effect of hypercholesterolemia on myocardial necrosis and apoptosis in the setting of ischemia-reperfusion. *Circulation*, 2009, vol. 120, no. 11, pp. 22–30. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.842724.
8. Szilvassy Z., Ferdinandy P., Szilvassy Ju., Nagy I., Karcso S., Lonovics J., Dux L., Koltai M. The loss of pacing-induced preconditioning in atherosclerotic rabbits: role of hypercholesterolemia. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 1995, vol. 27, no. 12, pp. 2559–2569. doi: <http://dx.doi.org/10.1006/jmcc.1995.0043>.
9. Krisztina K., Csonka C., Bencsik P., Fodor G., Ferdinandy P. The cardioprotective effect of postconditioning is lost in cholesterol diet-induced hyperlipidemia in rats. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2006, vol. 40, no. 6, pp. 976–977. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmcc.2006.03.168>.
10. Wu N., Zhang X., Guan Y., Shu W., Jia P., Jia D. Hypercholesterolemia fibrogates the cardioprotection of ischemic postconditioning in isolated rat heart: roles of glycogen synthase kinase-3 β and the mitochondrial permeability transition pore. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2014, vol. 69, no. 1, pp. 123–130. doi:10.1007/s12013-013-9778-2.
11. D'Annunzio V., Donato M., Buchholz B., Pérez V., Miksztowicz V., Berg G., Gelpi R. J. High cholesterol diet effects on ischemia-reperfusion injury of the heart. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2012, vol. 90, no. 9, pp. 1185–1196. doi: 10.1139/y2012-085.
12. Kremastinos D. T., Bofilis E., Karavolias G. K., Papalois A., Kaklamanis L., Iliodromitis E. K. Preconditioning limits myocardial infarct size in hypercholesterolemic rabbit. *Atherosclerosis*, 2000, vol. 150, no. 1, pp. 81–89.
13. Iliodromitis E. K., Zoga A., Vrettou A., Andreadou I., Paraskevaidis I. A., Kaklamanis L., Kremastinos D. T. The effectiveness of postconditioning and preconditioning on infarct size in hypercholesterolemic and normal anesthetized rabbits. *Atherosclerosis*, 2006, vol. 188, no. 2, pp. 356–362. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2005.11.023>.
14. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Available at: <http://www.eur-lex.europa.eu>. (Accessed 21 May 2012).
15. Good Laboratory Practice (GLP), TCP 125-2008 (02040), Technical Code of Good Practice. Minsk, Ministerstvo zdavoohranenija Respubliki Belarus' [Ministry of Health of the Republic of Belarus], 2008. 35 p. (in Russian).
16. The animal health rules for the reception, care and dissection of the experimental animals in the vivarium research institutes, stations, laboratories, schools and nurseries, VSP, May 21, 2010, no. 36. *The National Fund of Technical Legal Acts of the Republic of Belarus*. Available at: <http://www.tnpa.by> (Accessed 11 May 2012). (in Russian).
17. On the norms of feeding laboratory animals and producers, Order of Health of the USSR M-va, 10 March 1966, no. 163. *Complete Collection of legislation of the USSR*. Available at: <http://www.ussrdoc.com>. (Accessed 01 April 2012). (in Russian).
18. Clark C. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size. *Journal of Pharmacological Methods*, 1980, vol. 3, no. 4, pp. 357–368. (in Russian).

19. Fishbein M. C. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *American Heart Journal*, 1981, vol. 101, no. 5, pp. 593–600.

20. Jung O., Jung W., Malinski T., Wiemer G., Schoelkens B. A., Linz W. Ischemic preconditioning and infarct mass: the effect of hypercholesterolemia and endothelial dysfunction. *Clinical and Experimental Hypertension*, 2000, vol. 22, no. 2, pp. 165–179.

21. Sack M., Murphy E. The role of co-morbidities in cardioprotection. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 2011, vol. 16, no. 3/4, pp. 267–272.

22. Samoylov M. O., Rybnikova E. A., Churilova A. V. Signal molecular and hormonal mechanisms of formation of the hypoxic preconditioning protective effects. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya* [Pathological Physiology and Experimental Therapy], 2012, no. 3. pp. 3–10. (in Russian).

Информация об авторах

Висмонт Франтишек Иванович – чл.-кор. НАН Беларуси, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by.

Чепелев Сергей Николаевич – ассистент кафедры. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by.

Юшкевич Павел Францевич – канд. мед. наук, ассистент кафедры. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by.

Для цитирования

Висмонт, Ф. И. Противоишемическая и антиаритмическая эффективность дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с гиперхолестеролиемией / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2017. – № 2. – С. 16–25.

Information about the authors

Vismont Frantisek Ivanovich – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by.

Chepelev Sergey Nikolaevich – Assistant of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by.

Jushkevich Pavel Francevich – Ph. D. (Med.), assistant of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by.

For citation

Vismont F. I., Chepelev S. N., Jushkevich P. F. Antiischemic and antiarrhythmic efficiency of remote ischemic post-conditioning during ischemia-reperfusion in rats with hypercholesterolemia. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 2, pp. 16–25.