

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.127-005.4-092.9:546.17

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-353-363>

Поступила в редакцию 06.04.2020

Received 06.04.2020

**С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт**

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

## **О ЗНАЧИМОСТИ МОНООКСИДА АЗОТА В РЕАЛИЗАЦИИ ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС**

**Аннотация.** Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста сердечно-сосудистой патологии. Учитывая высокую медицинскую и социальную значимость проблемы лечения пациентов с ишемической болезнью сердца и острым инфарктом миокарда, поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда и механизмов их реализации является актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины.

Целью исследования было выяснить значимость монооксида азота в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПостК) при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс. В ходе исследования установлено, что ДИПостК оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых крыс, однако в условиях системного действия ингибитора NO-синтазы метилового эфира N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина в дозе 25 мг/кг (внутривенное введение за 5 мин до начала реперфузии и за 15 мин до ДИПостК) эффект сохраняется, хотя и не полностью, у старых, но не у молодых крыс. По-видимому, активность NO-синтазы и уровень монооксида азота в крови играют более значимую роль в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК у молодых крыс, чем у старых.

**Ключевые слова:** дистантное ишемическое посткондиционирование, инфаркт-лимитирующий эффект, зона риска, зона некроза, монооксид азота, крысы, ишемия-реперфузия, миокард

**Для цитирования:** Чепелев, С. Н. О значимости монооксида азота в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс / С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 353–363. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-353-363>

**Sergey N. Chepelev, F. Frantishek I. Vismont**

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

## **SIGNIFICANCE OF NITROGEN MONOXIDE IN THE IMPLEMENTATION OF THE INFARCT-LIMITING EFFECT OF REMOTE ISCHEMIC POSTCONDITIONING IN MYOCARDIAL ISCHEMIA-REPERFUSION IN YOUNG AND OLD RATS**

**Abstract.** Modern medicine faces the problem of a steady growth of cardiovascular pathology. Given the high medical and social significance of the problem of treating patients with coronary heart disease and acute myocardial infarction, the search for new effective methods to prevent or mitigate ischemic myocardial damage and mechanisms for their implementation is an urgent task of modern experimental and clinical medicine.

The aim of the study was to determine the significance of nitric monoxide in realizing the infarction-limiting effect of remote ischemic postconditioning (RIPostC) in myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats. The study revealed that RIPostC has a heart attack-limiting effect in myocardial ischemia-reperfusion in both young and old rats; however, under the conditions of the systemic action of the N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester inhibitor at a dose of 25 mg/kg (intravenous administration 5 min before the start of reperfusion and 15 min before RIPostC), the effect remains, although not completely, in old rats but not in young rats. Apparently, the NO synthase activity and the blood level of nitric monoxide play a more significant role in the mechanisms of the cardioprotective effects of RIPostC in young rats than in old rats.

**Keywords:** remote ischemic postconditioning, infarct-limiting effect, risk area, necrosis area, nitrogen monoxide, rats, ischemia-reperfusion, myocardium

**For citation:** Chepelev S. N., Vismont F. I. Significance of nitrogen monoxide in the implementation of the infarct-limiting effect of remote ischemic postconditioning in myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 353–363 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-353-363>

**Введение.** В настоящее время ишемическая болезнь сердца (ИБС) является основной причиной смертности в развитых странах мира и в Республике Беларусь в частности [1]. Учитывая большую частоту инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с инфарктом миокарда, ИБС представляет собой не только значимую медицинскую, но и важную государственную проблему. В связи с этим поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины [2–5].

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 ишемией конечностей, осуществляемой до и после острой ишемии миокарда (ОИМ) соответственно [4, 6–8].

В 2003 г. Z.-Q. Zhao с соавт. [9] сообщили, что ишемическое посткондиционирование, состоящее из коротких прерывистых циклов ишемии, чередующихся с реперфузией, после ишемического события смягчает последствия реперфузионного повреждения и миокард становится устойчивым к действию реперфузии. За последние годы данные ряда фундаментальных научных и клинических исследований подтвердили, что ишемическое посткондиционирование является эффективным методом снижения реперфузионного повреждения [10–14].

Для эффективного применения любого варианта преко́ндиционирования (локального или дистантного) как меры профилактической кардиопротекции необходимо точно знать, когда наступит ишемия, требующая защиты миокарда. Но поскольку это практически невозможно, то мощный кардиопротекторный потенциал преко́ндиционирования, как правило, клинически не используется. Следовательно, ишемическое посткондиционирование, особенно ДИПостК, имеющее несомненное преимущество перед различными вариантами преко́ндиционирования, можно успешно применять 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 реперфузионное лечение.

К настоящему времени накоплен определенный объем знаний о феномене ДИПостК и механизмах его защитного влияния на миокард. Показано, что ДИПостК значительно снижает проявления реперфузионного повреждения миокарда [4, 6, 14, 15]. В то же время имеющиеся сведения о противоишемической и антиаритмической эффективности ишемического посткондиционирования в условиях наличия такого сопутствующего фактора риска сердечно-сосудистого заболевания, как возраст, немногочисленны и весьма противоречивы [15–20]. Так, результаты ряда экспериментальных исследований указывают на то, что возраст животных является фактором, препятствующим воспроизведению противоишемического и антиаритмического эффектов ишемического посткондиционирования [18–20]. В то же время имеются сообщения о противоишемической эффективности посткондиционирования у старых животных [15–17, 21]. Причины такого расхождения результатов исследований до сих пор не выяснены.

Известно, что процессы старения организма сопровождаются значительными морфофункциональными и биохимическими изменениями [22–24]. Можно предположить, 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. А одной из причин ишемии является дефицит монооксида азота (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 [25]. Роль экзогенного NO в кардиопротекции при ишемии была продемонстрирована А. Накао с соавт. [26]. Результаты целого ряда исследований подтвердили роль NO в кардиопротекторном эффекте ишемического преко́ндиционирования [27–29]. Показано, что доноры NO оказывают кардиопротекторный эффект, уменьшая опосредованное реактивными формами кислорода повреждение тканей [26, 30]. Однако биохимические механизмы

кардиопротекции, лежащие в основе инфаркт-лимитирующего эффекта кондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда, несмотря на их интенсивное изучение, исследованы недостаточно и во многом не ясны [3, 4, 26, 28, 30].

Учитывая, что старение повышает чувствительность сердца к ишемическо-реперфузионному повреждению, а также данные о том, что в организме старых животных происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения, можно предположить, что возрастные изменения органов и тканей (в частности, изменения в активности L-аргинин-NO системы, ответственной за образование NO [25]) могут оказывать существенное влияние на кардиопротекторную эффективность ДИПостК у старых крыс.

Учитывая имеющиеся данные о возрастных изменениях, а также о том, что уровень NO оказывает влияние на процессы эндотелиальной дисфункции и механизмы реперфузионного повреждения миокарда, были основания полагать, что активность NO-синтазы в органах и тканях, уровень NO и возраст животных играют значимую роль в кардиопротекторных эффектах ДИПостК.

Цель исследования – выяснить значимость NO в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс.

**Материалы и методы исследования.** Исследование кардиопротекторной эффективности ДИПостК выполнено на 106 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах, разделенных на две возрастные группы:  $4 \pm 1$  мес. (44 молодые (молод) крысы массой 200–220 г) и  $24 \pm 1$  мес. (62 старые (стар) крысы массой 400–430 г). Все животные были разделены на 6 групп: Контроль<sub>молод</sub> ( $n = 10$ ), Контроль<sub>стар</sub> ( $n = 11$ ), ДИПостК<sub>молод</sub> ( $n = 16$ ), ДИПостК<sub>стар</sub> ( $n = 25$ ), L-NAME + ДИПостК<sub>молод</sub> ( $n = 18$ ), L-NAME + ДИПостК<sub>стар</sub> ( $n = 26$ ). Эксперименты выполняли в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также руководствуясь требованиями Директивы Европейского этического комитета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986, Европейской конвенции от 18.03.1986 г. «О защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» и ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 [31, 32].

Животные содержались в условиях вивария УО «Белорусский государственный медицинский университет» в соответствии с нормативами индивидуального размещения [33]. 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 животных состоял из комбикорма КК-92 / ПХЧ-5, количество которого определялось нормами кормления лабораторных животных [34]. Питьевой режим соответствовал принципу *ad libitum*. Все манипуляции с животными проводили в течение дня с 8:00 до 18:00. Формирование экспериментальных групп животных осуществляли методом случайной выборки.

Острую коронарную недостаточность у крыс воспроизводили по методике, описанной С. Clark с соавт. [35]. Для наркотизации животных использовали тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг·ч. Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом (частота дыхания 56–60 вдохов в минуту) при помощи аппарата искусственной вентиляции легких. 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 левой коронарной артерии (ЛКА) путем механического ее пережатия при помощи лигатуры. Согласно современным представлениям, длительность коронарной

окклюзии у крыс, равная 30–40 мин, является достаточной для формирования зоны некроза миокарда, составляющей около 50 % от зоны риска [2, 5, 6]. Окклюзия артерии подтверждалась цианозом ишемизированной области, снижением артериального давления (АД) на 10–20 мм рт. ст. и подъемом сегмента ST на электрокардиограмме (ЭКГ). Реперфузия миокарда достигалась снятием лигатуры, 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 [2, 4, 6].

ДИПостК выполняли в соответствии с протоколом исследования, представленным М. Basalay с соавт. [6], согласно которому животных опытных групп ДИПостК дополнительно подвергали воздействию 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий через 10 мин после 30-минутной ОИМ.

В ходе экспериментов непрерывно регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД. Полученные 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 ЛКА, в начале реперфузии, а также каждые 30 мин в течение реперфузии.

Зону риска выявляли путем введения в левую общую яремную вену 0,5 мл 5 %-ного раствора синьки Эванса (Sigma-Aldrich, США) в конце реперфузии при повторном кратковременном пережатии лигатурой ЛКА. Для идентификации зоны риска в миокарде левого желудочка крыс использовали метод, основанный на определении активности дегидрогеназ [36]. Зону риска определяли как зону, не окрашенную в синий цвет. Затем сердце извлекали и отделяли левый желудочек. После замораживания в морозильной камере (при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин) левый желудочек разрезали на 6 поперечных срезов. Срезы взвешивали на торсионных весах, а затем сканировали при помощи сканера Epson с обеих сторон.

При помощи компьютерной планиметрии с использованием программы Adobe Photoshop CC 2017 для каждого среза определяли отношение средней площади зоны риска в каждом срезе ( $\bar{s}_{\text{риска}}$ ) к средней площади всего среза ( $\bar{s}_{\text{среза}}$ ). Массу зоны риска в каждом срезе ( $m_{\text{риска}}$ ) для каждого отдельного среза вычисляли по формуле

$$m_{\text{риска}} = \frac{\bar{s}_{\text{риска}} \cdot m_{\text{среза}}}{\bar{s}_{\text{среза}}},$$

где  $m_{\text{среза}}$  – масса всего среза.

Для расчета общей зоны риска (в % от массы левого желудочка) использовали следующую формулу:

$$\text{Зона}_{\text{риска}} = \frac{\sum m_{\text{риска}} \cdot m_{\text{среза}}}{m_{\text{ЛЖ}}} \cdot 100 \%,$$

где  $\sum m_{\text{риска}}$  – арифметическая сумма значений масс зон риска всех срезов левого желудочка;  $m_{\text{ЛЖ}}$  – масса левого желудочка.

После этого для идентификации зоны некроза срезы помещали в 1 %-ный раствор 2,3,5-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 срезов в 10 %-ном растворе формалина срезы сканировали повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза. При помощи компьютерной планиметрии для каждого среза миокарда левого желудочка определяли отношение средней площади зоны некроза в каждом срезе ( $\bar{s}_{\text{некроза}}$ ) к средней пло-



щади всего среза ( $\bar{s}_{\text{среза}}$ ). Массу зоны некроза в каждом срезе ( $m_{\text{некроза}}$ ) для каждого отдельного среза вычисляли по формуле

$$m_{\text{некроза}} = \frac{\bar{s}_{\text{некроза}} \cdot m_{\text{среза}}}{\bar{s}_{\text{среза}}}$$

Для расчета общей зоны некроза (в % от массы зоны риска) в миокарде левого желудочка крыс использовали формулу

$$\text{Зона}_{\text{некроза}} = \frac{\sum m_{\text{некроза}} \cdot m_{\text{среза}}}{\sum m_{\text{риска}}} \cdot 100 \%,$$

где  $\sum m_{\text{некроза}}$  – арифметическая сумма значений масс зон некроза всех срезов левого желудочка.

Для оценки антиаритмического эффекта ДИПостК подсчитывали общую длительность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной острой коронарной окклюзии и 120-минутной реперфузии миокарда (длительность фибрилляции желудочков (ФЖ), пароксизмальной желудочковой тахикардии (ПЖТ), парной желудочковой экстрасистолии, желудочковой экстрасистолии по типу бигеминии).

Критериями исключения животных из опытов являлись ЧСС < 300 уд/мин до начала эксперимента и АД<sub>ср</sub> < 60 мм рт. ст.

Изучение кардиопротекторной эффективности ДИПостК при ишемии и реперфузии миокарда у старых и молодых крыс в условиях депрессии NO-синтазы проводилось у животных, которым за 5 мин до начала реперфузии и за 15 мин до воспроизведения ДИПостК внутривенно вводили в левую общую яремную вену водный раствор метилового эфира N<sup>G</sup>-нитро-L-аргинина (L-NAME, Acros Organics, США) в дозе 25 мг/кг.

Полученные в ходе исследования результаты анализировали с использованием стандартных пакетов статистических программ Statistica 13.3 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 представляли в виде среднего ± стандартная ошибка среднего (M ± m). При непараметрическом распределении результаты исследования были представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля). Для оценки статистической значимости различий качественных параметров применяли точный метод Фишера. Уровень  $p < 0,05$  рассматривали как статистически значимый.

**Результаты и их обсуждение.** Показатель выживаемости после ОИМ у старых крыс составил 51,6 % (30 старых крыс из 62 погибли во время острой коронарной окклюзии и периода реперфузии). При этом в группе Контроль<sub>стар</sub> выживаемость животных составила 72,7 %, в группе ДИПостК<sub>стар</sub> – 48,0, а в группе L-NAME + ДИПостК<sub>стар</sub> – 46,2 %. У молодых крыс показатель выживаемости после ОИМ составил 72,7 % (12 молодых крыс из 44 погибли в период острой коронарной окклюзии и реперфузии). Выживаемость в исследуемых группах молодых крыс была следующей: в группе Контроль<sub>молод</sub> – 80,0 %, в группе ДИПостК<sub>молод</sub> – 75,0, а в группе L-NAME + ДИПостК<sub>молод</sub> – 66,7 %. Более низкая выживаемость у старых крыс является следствием снижения устойчивости миокарда к повреждению, вызванному продолжительной ишемией и реперфузией. Таким образом, количество животных в экспериментальных группах с учетом их выживаемости стало следующим: Контроль<sub>молод</sub> – 8 крыс, Контроль<sub>стар</sub> – 8, ДИПостК<sub>молод</sub> – 12, ДИПостК<sub>стар</sub> – 12, L-NAME + ДИПостК<sub>молод</sub> – 12, L-NAME + ДИПостК<sub>стар</sub> – 12 крыс.

В группах Контроль<sub>стар</sub>, ДИПостК<sub>стар</sub>, а также Контроль<sub>молод</sub>, ДИПостК<sub>молод</sub> статистически значимых отличий АД<sub>ср</sub> и ЧСС на протяжении эксперимента по сравнению с их исходными значениями не выявлено. В группах молодых и старых крыс, которым за 5 мин до начала реперфузии и за 15 мин до воспроизведения ДИПостК осуществляли внутривенное введение ингибитора

NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг (L-NAME + ДИПостК<sub>молод</sub> и L-NAME + ДИПостК<sub>стар</sub>), показатели АД<sub>ср</sub> и ЧСС на протяжении эксперимента статистически значимо не отличались от своих исходных значений, хотя и отмечалась тенденция к повышению АД<sub>ср</sub> у животных, получивших L-NAME (см. таблицу).

#### Изменение показателей гемодинамики у старых и молодых крыс на протяжении эксперимента

##### Changes in the hemodynamic parameters in old and young rats during the experiment

Экспериментальная группа		Старые крысы			Молодые крысы		
		Контроль (n = 8)	ДИПостК (n = 12)	L-NAME + ДИПостК (n = 12)	Контроль (n = 8)	ДИПостК (n = 12)	L-NAME + ДИПостК (n = 12)
До начала ОИМ	АД <sub>ср</sub>	89 ± 6	87 ± 7	86 ± 8	88 ± 5	85 ± 3	86 ± 6
	ЧСС	442 ± 15	436 ± 24	440 ± 22	412 ± 7	410 ± 16	422 ± 14
Начало ОИМ	АД <sub>ср</sub>	72 ± 4	71 ± 5	73 ± 6	76 ± 5	74 ± 4	75 ± 7
	ЧСС	415 ± 31	425 ± 15	405 ± 8	419 ± 6	427 ± 12	413 ± 15
Начало реперфузии	АД <sub>ср</sub>	72 ± 6	74 ± 5	76 ± 10	73 ± 3	72 ± 4	76 ± 6
	ЧСС	410 ± 46	415 ± 15	386 ± 14	413 ± 17	412 ± 21	408 ± 18
30' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	75 ± 3	73 ± 3	80 ± 6	75 ± 6	77 ± 4	80 ± 6
	ЧСС	401 ± 40	423 ± 17	366 ± 12	416 ± 14	401 ± 12	382 ± 19
60' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	77 ± 4	76 ± 6	82 ± 9	76 ± 3	78 ± 4	81 ± 5
	ЧСС	404 ± 34	434 ± 24	382 ± 14	423 ± 16	415 ± 21	388 ± 17
90' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	78 ± 6	80 ± 5	83 ± 8	78 ± 2	79 ± 5	84 ± 6
	ЧСС	410 ± 31	432 ± 19	398 ± 15	431 ± 15	399 ± 21	405 ± 21
120' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	80 ± 5	81 ± 4	84 ± 6	83 ± 6	84 ± 4	85 ± 5
	ЧСС	421 ± 22	437 ± 22	412 ± 17	417 ± 18	431 ± 26	432 ± 16

В ходе исследования установлено, что значения ДП в анализируемых группах старых и молодых крыс до начала острой коронарной окклюзии статистически значимо не различались. Кроме того, на протяжении всего эксперимента во всех экспериментальных группах старых и молодых крыс показатель ДП не отличался от своих исходных значений ( $p > 0,05$ ). Следовательно, были основания полагать, что потребность миокарда в кислороде у старых и молодых животных всех анализируемых групп до начала эксперимента была сходной. На протяжении исследования потребность миокарда в кислороде у старых и молодых крыс экспериментальных групп также не изменялась.

При изучении антиаритмической эффективности ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс в условиях системного действия в организме животных L-NAME (25 мг/кг) установлено, что длительность ишемических нарушений сердечного ритма в группе Контроль<sub>стар</sub> составила 81 (51; 173) с, в группе ДИПостК<sub>стар</sub> – 78 (41; 235), в группе L-NAME + ДИПостК<sub>стар</sub> – 56 (29; 162) с. Во время 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у молодых крыс имели место нарушения сердечного ритма, продолжительность которых составила: в группе Контроль<sub>молод</sub> – 184 (20; 231) с, в группе ДИПостК<sub>молод</sub> – 149 (105; 164), в группе L-NAME + ДИПостК<sub>молод</sub> – 121 (67; 151) с (рис. 1).

В ходе исследования также установлено, что в группе Контроль<sub>стар</sub> у старых крыс во время ОИМ у 5 из 8 крыс отмечалась ФЖ, а у 7 животных – ПЖТ. Реперфузионные нарушения сердечного ритма имели место у 7 крыс группы Контроль<sub>стар</sub>. В группе ДИПостК<sub>стар</sub> в период острой коронарной окклюзии у 9 из 12 крыс отмечалась ФЖ ( $p > 0,05$ ), а ПЖТ имела место у 10 крыс ( $p > 0,05$ ). Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 11 животных группы ДИПостК<sub>стар</sub> ( $p > 0,05$ ). В группе L-NAME + ДИПостК<sub>стар</sub> в период 30-минутной ишемии миокарда ФЖ и ПЖТ были выявлены у 10 из 12 животных ( $p > 0,05$ ). Реперфузионные аритмии имели место у всех животных группы L-NAME + ДИПостК<sub>стар</sub> ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, у старых крыс длительность ишемических нарушений сердечного ритма в группах ДИПостК<sub>стар</sub> и L-NAME + ДИПостК<sub>стар</sub> сопоставима с таковой в группе Контроль<sub>стар</sub>, что вполне объяснимо, учитывая, что ДИПостК и введение животным за 5 мин до начала репер-

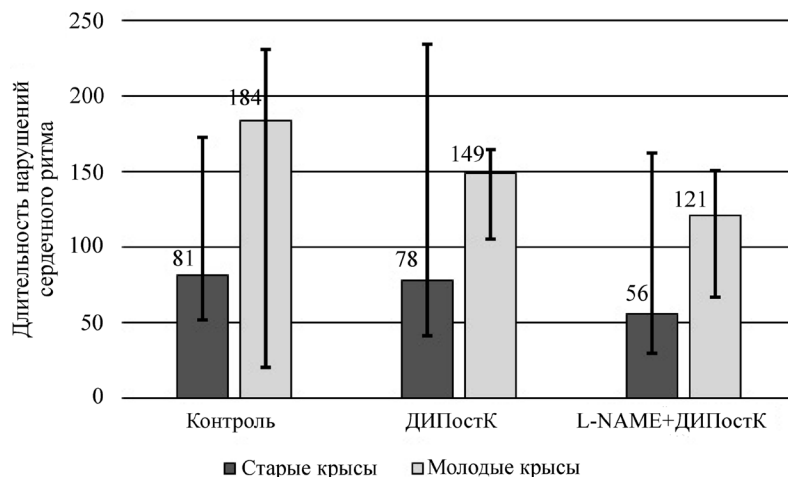


Рис. 1. Длительность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у старых и молодых крыс

Fig. 1. Duration of heart rhythm disturbances during 30-minute ischemia and 120-minute myocardial reperfusion in old and young rats

фузии L-NAME (25 мг/кг) не могли оказывать влияние на выраженность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной ишемии миокарда.

У молодых крыс длительность нарушений сердечного ритма во время ОИМ в группах ДИПостК<sub>молад</sub> и L-NAME + ДИПостК<sub>молад</sub> также статистически значимо не отличалась от таковой в группе Контроль<sub>молад</sub>.

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

При изучении противоишемической эффективности ДИПостК при ишемии и реперфузии миокарда у старых крыс в условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME установлено, что размер зоны некроза в миокарде левого желудочка в группе Контроль<sub>стар</sub> составил  $49 \pm 3$  %, в группе ДИПостК<sub>стар</sub> –  $28 \pm 3$  % ( $p < 0,05$ ), в группе L-NAME + ДИПостК<sub>стар</sub> –  $36 \pm 2$  % ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

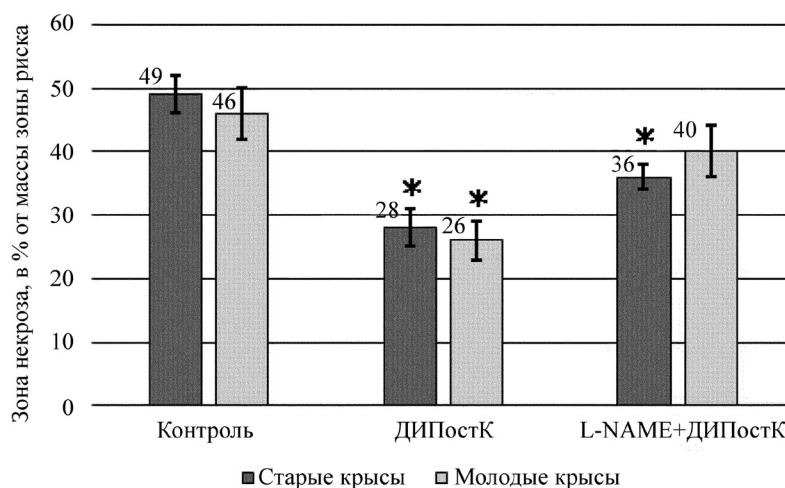


Рис. 2. Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка у старых и молодых крыс.

Статистически значимые отличия размеров зоны некроза в группах ДИПостК и L-NAME + ДИПостК по сравнению с соответствующими группами Контроль: \* –  $p < 0,05$  у молодых и старых крыс

Fig. 2. Necrosis zone sizes in the left ventricular myocardium in old and young rats. Statistically significant differences in the necrosis area size in the RIPostC and L-NAME + RIPostC groups compared with the corresponding control groups: \* –  $p < 0.05$  in young and old rats

Результаты исследования свидетельствуют о том, что у старых крыс после воспроизведения как ДИПостК, так и ДИПостК в условиях внутривенного введения животным L-NAME, которое осуществлялось за 5 мин до начала реперфузии и за 15 мин до выполнения ДИПостК, при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались менее обширные зоны некроза по сравнению с группой Контроль<sub>стар</sub>. Таким образом, у старых крыс имел место выраженный противоишемический эффект ДИПостК. В условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME у старых крыс ДИПостК также оказывал противоишемический эффект, но менее выраженный.

У молодых крыс выявлены следующие размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка: в группе Контроль<sub>молод</sub> –  $46 \pm 4\%$ , в группе ДИПостК<sub>молод</sub> –  $26 \pm 3$  ( $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>молод</sub>), в группе L-NAME + ДИПостК<sub>молод</sub> –  $40 \pm 4\%$  (рис. 2).

В ходе исследования установлено, что у молодых крыс после воспроизведения ДИПостК имело место статистически значимое снижение размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка по сравнению с группой Контроль. Однако после внутривенного введения животным L-NAME, которое осуществлялось за 5 мин до начала реперфузии и за 15 мин до воспроизведения ДИПостК, у молодых крыс при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались сопоставимые по размерам с группой Контроль зоны некроза.

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

Полученные данные дают основания полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO имеют большую значимость в механизмах реализации противоишемического эффекта ДИПостК у молодых, но не у старых крыс.

**Заключение.** ДИПостК оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых крыс, однако в условиях системного действия L-NAME этот эффект ДИПостК сохраняется только у старых крыс, хотя он менее выражен. Установлено, что ДИПостК 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 26,5 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с таковой у старых крыс контрольной группы. По-видимому, активность NO-синтазы и уровень NO играют более значимую роль в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК у молодых, чем у старых крыс, что указывает на необходимость дифференцированного подхода к применению ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда в молодом и пожилом возрасте.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. Сердечно-сосудистые заболевания в Республике Беларусь: анализ ситуации и стратегии контроля / А. Г. Мрочек [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2011. – 340 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. Галагудза // Креатив. кардиология. – 2007. – № 1–2. – С. 75–101.
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. Кардиопротективный эффект дистантного посткондиционирования: механизмы и возможность клинического применения / Л. Н. Маслов [и др.] // Клин. медицина. – 2016. – Т. 94, № 9. – С. 650–656.
5. Balakumar, P. Pre-conditioning and postconditioning to limit ischemia-reperfusion-induced myocardial injury: what could be the next footprint? / P. Balakumar, A. Rohilla, M. Singh // Pharm. Res. – 2008. – Vol. 57, N 6. – P. 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.006>
6. 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. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
7. Кардиопротекторная эффективность дистантного ишемического преко́ндиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с экспериментальной дислипидемией / Ф. И. Висмонт [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 2. – С. 215–221.



8. Schmidt, M. R. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation / M. R. Schmidt, S. B. Kristiansen, H. E. Bøtker // *Circ. Res.* – 2013. – Vol. 113, N 12. – P. 1278–1280. <https://doi.org/10.1161/circresaha.113.302942>
9. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning / Z.-Q. Zhao [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – Vol. 285, N 2. – P. H579–H588. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01064.2002>
10. Ischaemic postconditioning protects the heart against ischemia-reperfusion injury, via neuronal nitric oxide synthase in the sarcoplasmic reticulum and mitochondria / L. Hu [et al.] // *Cell Death Dis.* – 2016. – Vol. 7, N 5. – P. e2222. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.108>
11. Адаптивний феномен ішемічного посткондиціонування серця. Перспективи клінічного застосування / Л. Н. Маслов [и др.] // *Вестн. Рос. акад. мед. наук.* – 2013. – Т. 68, № 1. – С. 10–20.
12. Посткондиціонування серця: аналіз експериментальних і клінічних даних / Л. Н. Маслов [и др.] // *Вестн. Рос. акад. мед. наук.* – 2016. – Т. 71, № 1. – С. 25–30.
13. Кардіопротективні ефекти феномена ішемічного посткондиціонування міокарда / Е. В. Шляхто [и др.] // *Кардіологія.* – 2005. – Т. 45, № 7. – С. 44–48.
14. Vinten-Johansen, J. The science and clinical translation of remote postconditioning // *J. Vinten-Johansen, W. Shi // J. Cardiovasc. Med.* – 2013. – Vol. 14, N 3. – P. 206–213. <https://doi.org/10.2459/JCM.0b013e32835cecc6>
15. Кардіопротекторна ефективність дистантного ішемічного посткондиціонування при ішемії-реперфузії міокарда у старих крыс / Ф. И. Висмонт [и др.] // *БГМУ в авангарде медичинської науки і практики : сб. рец. науч. работ / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. А. В. Сикорского, О. К. Дорониной.* – Минск, 2017. – Вып. 7. – С. 181–186.
16. Zhou, C. Stenting technique, gender, and age are associated with cardioprotection by ischaemic postconditioning in primary coronary intervention: a systematic review of 10 randomized trials / C. Zhou [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2012. – Vol. 33, N 24. – P. 3070–3077. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs265>
17. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning / P. Ferdinandy [et al.] // *Pharmacol. Rev.* – 2014. – Vol. 66, N 4. – P. 1142–1174. <https://doi.org/10.1124/pr.113.008300>
18. Boengler, K. Loss of cardioprotection with ageing / K. Boengler, R. Schulz, G. Heusch // *Cardiovasc. Res.* – 2009. – Vol. 83, N 2. – P. 247–261. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp033>
19. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with postconditioning / K. Przyklenk [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2008. – Vol. 51, N 14. – P. 1393–1398. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.11.070>
20. Conditioning-induced cardioprotection: aging as a confounding factor / K. R. Puneet [et al.] // *Korean J. Physiol. Pharmacol.* – 2018. – Vol. 22, N 5. – P. 467–479. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2018.22.5.467>
21. Висмонт, Ф. И. Периферические М-холинореактивные системы в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемічного посткондиціонування при ішемії-реперфузії міокарда в експерименте / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук.* – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 424–433.
22. Биология старения / В. В. Фролькис [и др.] ; редкол. : В. В. Фролькис (отв. ред.) [и др.]. – Ленинград : Наука, Ленингр. отд-ние, 1982. – 618 с.
23. Фролькис, В. В. Нервная регуляция функции сердца при старении / В. В. Фролькис, Н. С. Верхратский, В. Г. Шевчук // *Физиол. журн. СССР.* – 1977. – Т. 63, № 8. – С. 1134–1143.
24. Acetylcholine as an age-dependent non-neuronal source in the heart / O. R. Rana [et al.] // *Autonom. Neurosci.* – 2010. – Vol. 156, N 1–2. – P. 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.04.011>
25. Оксид азота (NO) и цикл NO в миокарде: молекулярные, биохимические и физиологические аспекты / В. П. Реутов [и др.] // *Успехи физиол. наук.* – 2007. – Т. 38, № 4. – С. 39–58.
26. Exogenous nitric oxide can trigger a preconditioned state through a free radical mechanism, but endogenous nitric oxide is not a trigger of classic ischemic preconditioning / A. Nakano [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2000. – Vol 32, N 7. – P. 1159–1167. <https://doi.org/10.1006/jmcc.2000.1152>
27. NO в сигнальном каскаде фармакологического прекодиціонування при ішемії-реперфузії міокарда / Л. Н. Даниленко [и др.] // *Ведомости Науч. центра экспертизы средств мед. применения.* – 2015. – № 2. – С. 40–44.
28. Даниленко, Л. М. Роль оксида азота в сигнальном каскаде ішемічного прекодиціонування при ішемічних-реперфузійних пошкодженнях міокарда / Л. М. Даниленко // *Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. Сер. Медицина. Фармация.* 2014. – № 11–1. – С. 5–18.
29. Attenuation of myocardial ischemia/reperfusion injury by superinduction of inducible nitric oxide synthase / S. Kanno [et al.] // *Circulation.* – 2000. – Vol. 101, N 23. – P. 2742–2748. <https://doi.org/10.1161/01.cir.101.23.2742>
30. Роль свободных радикалов кислорода в механизмах локального и дистантного ишемічного прекодиціонування міокарда / Н. Н. Петрищев [и др.] // *Вестн. РАМН.* – 2006. – № 8. – С. 10–15.
31. 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](http://www.eur-lex.europa.eu). – Date of access: 10.03.2020.
32. Технический кодекс установившейся практики 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утв. постановлением М-ва здравоохран. Респ. Беларусь № 56 от 28.03.2008 г. – Минск, 2008. – 35 с.
33. Ветеринарно-санитарные правила по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станциях, лабораториях, учебных заведениях, а также в питомниках // *Нац. фонд техн. норм. правовых актов Респ. Беларусь [Электронный ресурс].* – Режим доступа: <http://www.tnpr.by/#!/FileText/348641/250983>. – Дата доступа: 10.03.2020.

34. О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов: приказ М-ва здравоохранения СССР от 10 марта 1966 г. № 163 // Правовая Россия [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://lawru.info/dok/1966/03/10/n1190735.htm>. – Дата доступа: 10.03.2020.

35. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size / C. Clark [et al.] // *J. Pharmacol. Meth.* – 1980. – Vol. 3, N 4. – P. 357–368. [https://doi.org/10.1016/0160-5402\(80\)90077-7](https://doi.org/10.1016/0160-5402(80)90077-7)

36. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique / M. C. Fishbein [et al.] // *Am. Heart J.* – 1981. – Vol. 101, N 5. – P. 593–600. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(81\)90226-x](https://doi.org/10.1016/0002-8703(81)90226-x)

## 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, Belaruskaya navuka Publ., 2011. 340 p. (in Russian).

2. Shlyakhto E. V., Nifontov E. M., Galagudza M. M. Limitation of ischemic and reperfusion injury of the myocardium using pre- and postconditioning: molecular mechanisms and targets for pharmacotherapy. *Kreativnaya kardiologiya = Creative cardiology*, 2007, no. 1–2, pp. 75–101 (in Russian).

3. Bautin A. E., Karpova L. I., Marichev A. O., Tashkhanov D. M., Naumenko V. S., Galagudza M. M. Cardioprotective effects of ischemic conditioning: current concepts of mechanisms, experimental evidence, clinical implementation. *Translyatsionnaya meditsina = Translational medicine*, 2016, vol. 3, no. 1, pp. 50–62 (in Russian).

4. Maslov L. N., Tsubul'nikov S. Yu., Tsepokina A. V., Khutornaya M. V., Kutikhin A. G., Gurin A. V., Basalai M. V., Mrochek A. G. Cardioprotective effect of distant postconditioning: mechanisms and clinical applicability. *Klinicheskaya meditsina = Clinical medicine*, 2016, vol. 94, no. 9, pp. 650–656 (in Russian).

5. Balakumar P., Rohilla A., Singh M. Pre-conditioning and postconditioning to limit ischemia-reperfusion-induced myocardial injury: what could be the next footstep? *Pharmacological Research*, 2008, vol. 57, no. 6, pp. 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.006>

6. Basalai 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. *Experimental Physiology*, 2012, vol. 97, no. 8, pp. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>

7. Vismont F. I., Chepelev S. N., Glebov A. N., Vismont A. F., Yushkevich P. F. Cardioprotective efficacy of distant ischemic preconditioning in myocardial ischemia-reperfusion in rats with experimental dyslipidemia. *Vestsi Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 2, pp. 215–221 (in Russian).

8. Schmidt M. R., Kristiansen S. B., Bøtker H. E. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation. *Circulation Research*, 2013, vol. 113, no. 12, pp. 1278–1280. <https://doi.org/10.1161/circresaha.113.302942>

9. Zhao Z.-Q., Corvera J. S., Halcos M. E., Kerendi F., Wang N. P., Guyton R. A., Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 2003, vol. 285, pp. H579–H588. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01064.2002>

10. Hu L., Wang J., Zhu H., Wu X., Zhou L., Song Y., Zhu S., Liu C., Fan J., Wang Y., Li Q. Ischaemic postconditioning protects the heart against ischemia-reperfusion injury, via neuronal nitric oxide synthase in the sarcoplasmic reticulum and mitochondria. *Cell Death and Diseases*, 2016, vol. 7, no. 5, pp. e2222. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.108>

11. Maslov L. N., Mrochek A. G., Khaliulin I. G., Khanush L., Pei Zh. M., Zhang I. The adaptive phenomenon of ischemic postconditioning of the heart. Prospects for clinical use. *Vestnik Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian academy of medical sciences*, 2013, vol. 68, no. 1, pp. 10–20 (in Russian).

12. Maslov L. N., Tsubul'nikov S. Yu., Mukhomedzyanov A. V., Sementsov A. S., Tsepokina A. V., Khutornaya M. V., Kutikhin A. G., Nam I. F. Postconditioning of the heart: analysis of experimental and clinical data. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2016, vol. 71, no. 1, pp. 25–30 (in Russian). <https://doi.org/10.15690/vramn628>

13. Shlyakhto E. V., Galagudza M. M., Syrenskii A. V., Nifontov E. M. Cardioprotective effects of the phenomenon of ischemic postconditioning of the myocardium. *Kardiologiya = Cardiology*, 2005, vol. 45, no. 7, pp. 44–48 (in Russian).

14. Vinten-Johansen J., Shi W. The science and clinical translation of remote postconditioning. *Journal of Cardiovascular Medicine*, 2013, vol. 14, no. 3, pp. 206–213. <https://doi.org/10.2459/JCM.0b013e32835cecc6>

15. Vismont F. I., Chepelev S. N., Glebov A. N., Yushkevich P. F. Cardioprotective efficiency of remote ischemic postconditioning during ischemia-reperfusion in old rats. *Belorusskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet v avangarde meditsinskoi nauki i praktiki: sbornik retsenziruemykh nauchnykh rabot. Vypusk 7* [Belarusian State Medical University at the forefront of medical science and practice: a collection of peer-reviewed scientific papers. Iss. 7]. Minsk, 2017, pp. 181–186 (in Russian).

16. Zhou C., Yuntai Y., Zhe Z., Junsong G., Weipeng W., Shengshou H., Lihuan L. Stenting technique, gender, and age are associated with cardioprotection by ischaemic postconditioning in primary coronary intervention: a systematic review of 10 randomized trials. *European Heart Journal*, 2012, vol. 33, no. 24, pp. 3070–3077. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs265>

17. Ferdinandy P., Hausenloy D. J., Heusch G., Baxter G. F., Schulz R. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning. *Pharmacological Reviews*, 2014, vol. 66, no. 4, pp. 1142–1174. <https://doi.org/10.1124/pr.113.008300>

18. Boengler K., Schulz R., Heusch G. Loss of cardioprotection with ageing. *Cardiovascular Research*, 2009, vol. 83, no. 2, pp. 247–261. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp033>
19. Przyklenk K., Maynard M., Darling C. E., Whittaker P. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with postconditioning. *Journal of the American College of Cardiology*, 2008, vol. 51, no. 14, pp. 1393–1398. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.11.070>
20. Randhawa P. K., Bali A., Virdi J. K., Jaggi A. S. Conditioning-induced cardioprotection: Aging as a confounding factor. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 2018, vol. 22, no. 5, pp. 467–479. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2018.22.5.467>
21. Vismont F. I., Chepelev S. N., Yushkevich P. F. Peripheral M-choline-reactive systems in the infarct-limited effect implementation of remote ischemic postconditioning during ischemia-reperfusion of myocardium in experiment. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 424–433 (in Russian).
22. Frol'kis V. V. (ed.). *Biology of aging*. Leningrad, Nauka, Leningradskoe otdelenie Publ., 1982. 618 p. (in Russian).
23. Frol'kis V. V., Verkhatskii N. S., Shevchuk V. G. Nervous regulation of heart function during aging. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR im. I. M. Sechenova* [Sechenov physiological journal of the USSR], 1977, vol. 63, no. 8, pp. 1134–1143 (in Russian).
24. Rana O. R., Schauerte P., Kluttig R., Schröder J. W., Koenen R. R., Weber C., Nolte K. W., Weis J., Hoffmann R., Marx N., Saygili E. Acetylcholine as an age-dependent non-neuronal source in the heart. *Autonomic Neuroscience*, 2010, vol. 156, no. 1–2, pp. 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.04.011>
25. Reutov V. P., Okhotin V. E., Shuklin A. V., Sorokina E. G., Kositsyn N. S., Gurin V. N. Nitric oxide (NO) and the NO cycle in the myocardium: molecular, biochemical and physiological aspects. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk* [Frontiers of physiology sciences], 2007, vol. 38, no. 4, pp. 39–58 (in Russian).
26. Nakano A., Liu G. S., Heusch G., Downey J. M., Cohen M. V. Exogenous nitric oxide can trigger a preconditioned state through a free radical mechanism, but endogenous nitric oxide is not a trigger of classic ischemic preconditioning. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2000, vol. 32, no. 7, pp. 1159–1167. <https://doi.org/10.1006/jmcc.2000.1152>
27. Danilenko L. M., Pokrovskii M. V., Denisjuk T. A., Kolesnik I. M., Alekhin S. A NO in the signaling cascade of pharmacological preconditioning for myocardial ischemia-reperfusion. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* [Vedomosti scientific center for expertise in medical applications], 2015, no. 2, pp. 40–44.
28. Danilenko L. M. The role of nitric oxide in the signaling cascade of ischemic preconditioning for ischemic-reperfusion injury of the myocardium. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya* [Scientific reports of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy], 2014, no. 11–1, pp. 5–18 (in Russian).
29. Kanno S., Lee P. C., Zhang Y., Ho Ch., Griffith B. P., Shears L. L., Billiar T. R. Attenuation of myocardial ischemia/reperfusion injury by superinduction of inducible nitric oxide synthase. *Circulation*, 2000, vol. 101, no. 23, pp. 2742–2748. <https://doi.org/10.1161/01.cir.101.23.2742>
30. Petrishchev N. N., Shlyakhto E. V., Tsyrlin V. A., Vlasov T. D., Syrenskii A. V., Galagudza M. M. Role of oxygen free radicals in the mechanisms of local and distant ischemic myocardial preconditioning. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk* [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences], 2006, no. 8, pp. 10–15 (in Russian).
31. *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 10.03.2020).
32. *Technical Code of Good Practice 125-2008. Good Laboratory Practice, approved by the Republic of Belarus Ministry of Health decree № 56 from 28.03.2008*. Minsk, 2008. 35 p. (in Russian).
33. The animal health rules for the reception, care and dissection of the experimental animals in the vivarium research institutes, stations, laboratories, schools and nurseries. *National Fund of Technical Legal Acts of the Republic of Belarus*. Available at: <http://www.tnpu.by/#!/FileText/348641/250983> (accessed 10.03.2020) (in Russian).
34. On the norms of feeding laboratory animals and producers: order of the USSR Ministry of Health on March 10, 1966 N 163. *Legal Russia*. Available at: <http://lawru.info/dok/1966/03/10/n1190735.htm> (accessed 10.03.2020) (in Russian).
35. Clark C., Foreman M. I., Kane K. A., McDonald F. M., Parratt J. R. 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. [https://doi.org/10.1016/0160-5402\(80\)90077-7](https://doi.org/10.1016/0160-5402(80)90077-7)
36. Fishbein M. C., Meerbaum S., Rit J., Lando U., Kanmatsuse K., Mercier J. C., Corday E., Ganz W. 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. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(81\)90226-x](https://doi.org/10.1016/0002-8703(81)90226-x)

### Информация об авторах

Чепелев Сергей Николаевич – ст. преподаватель. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: drserge1991@gmail.com

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

### Information about the authors

Sergey N. Chepelev – Senior Lecturer. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: drserge1991@gmail.com

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