

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.127-005.4-092.4:612.8.04:616-092

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-3-290-299>

Поступила в редакцию 09.05.2022

Received 09.05.2022

С. Н. Чепелев<sup>1</sup>, Ф. И. Висмонт<sup>1</sup>, С. В. Губкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

## КАРДИОПРОТЕКТОРНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ С ПОМОЩЬЮ L-ЛАКТАТА ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ БЛОКАТОРА М-ХОЛИНОРЕАКТИВНЫХ СИСТЕМ АТРОПИНА

**Аннотация.** Защита миокарда от ишемических и реперфузионных повреждений – важная задача современной экспериментальной и клинической медицины. Данный тип повреждений является ключевым звеном патогенеза ишемической болезни сердца и прежде всего острого инфаркта миокарда – социально-экономически значимого заболевания, являющегося одной из основных причин потери трудоспособности и смертности взрослого населения Республики Беларусь.

Целью исследования являлось выяснение кардиопротекторной эффективности посткондиционирования (Пост) с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина.

В опытах на крысах установлено, что Пост с помощью L-лактата оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых животных, однако в условиях системного действия атропина (2 мг/кг) этот эффект частично сохраняется только у старых крыс. По-видимому, активность периферических М-холинореактивных систем имеет значение в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов Пост с помощью L-лактата у молодых, но не у старых крыс.

**Ключевые слова:** кардиопротекция, посткондиционирование, миокард, L-лактат, ишемия, реперфузия, инфаркт, атропин, М-холинореактивные системы, возраст, крысы

**Для цитирования:** Чепелев, С. Н. Кардиопротекторная эффективность посткондиционирования с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина / С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт, С. В. Губкин // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2022. – Т. 19, № 3. – С. 290–299. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-3-290-299>

Sergey N. Chepelev<sup>1</sup>, Frantishek I. Vismont<sup>1</sup>, Sergey V. Goubkin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

## CARDIOPROTECTIVE EFFICIENCY OF POSTCONDITIONING USING L-LACTATE DURING ISCHEMIA-REPERFUSION OF MYOCARDIUM IN YOUNG AND OLD RATS UNDER CONDITIONS OF THE SYSTEMIC ACTION IN THE ANIMAL BODY OF THE BLOCKER OF M-CHOLINERGIC SYSTEMS ATROPINE

**Abstract.** Myocardial protection from ischemic and reperfusion injury is an important task of modern experimental and clinical medicine. This type of damage is a key link in the pathogenesis of the coronary heart disease and, above all, acute myocardial infarction – a socio-economically significant disease that is one of the main causes of disability and mortality of the adult population in the Republic of Belarus.

The aim of the study was to elucidate the cardioprotective efficiency of postconditioning (Post) using L-lactate during ischemia–reperfusion of myocardium in young and old rats under the conditions of systemic action in the body of animals of the blocker of M-cholinergic systems atropine.

In experiments on rats, it was found that Post using L-lactate has an infarct-limiting effect during ischemia–reperfusion of myocardium in both young and old animals, however, under the conditions of systemic action of atropine (2 mg/kg), this effect was partially preserved only in old rats. Apparently, the activity of peripheral M-cholinergic systems is important in the mechanisms of implementation of the cardioprotective effects of Post using L-lactate in young, but not in old rats.

**Keywords:** cardioprotection, postconditioning, myocardium, L-lactate, ischemia, reperfusion, infarction, atropine, M-cholinergic systems, age, rats

**For citation:** Chepelev S. N., Vismont F. I., Goubkin S. V. Cardioprotective efficiency of postconditioning using L-lactate during ischemia-reperfusion of myocardium in young and old rats under conditions of the systemic action in the animal body of the blocker of M-cholinoreactive systems atropine. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 3, pp. 290–299 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2022-19-3-290-299>

**Введение.** В настоящее время одним из самых распространенных видов сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) является ишемическая болезнь сердца (ИБС). 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 и выяснение механизмов его реализации остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины [1, 2].

В последнее десятилетие объектом повышенного интереса ведущих мировых исследователей в области экспериментальной и клинической кардиологии являются кардиопротекторные (противоишемический и антиаритмический) эффекты дистантного ишемического пре- и посткондиционирования (ДПост), которые воспроизводятся ишемией конечностей, осуществляемой до или после острой коронароокклюзии соответственно [2, 3].

Для эффективного применения любого варианта преко́ндиционирования (Пре) как меры профилактической кардиопротекции необходимо точно знать, когда наступит ишемия, требующая защиты миокарда. Однако ввиду того, что это практически невозможно, мощный кардиопротекторный потенциал Пре, как правило, клинически не используется. Следовательно, ишемическое посткондиционирование (Пост), особенно ДПост, имеющее несомненное преимущество перед различными вариантами Пре, 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.

Впервые ишемическое Пост было описано Z.-Q. Zhao с соавт. в 2003 г., которые сообщили, что ишемическое Пост, состоящее из коротких прерывистых циклов ишемии, чередующихся с реперфузией, после острой коронароокклюзии может смягчить последствия реперфузионного повреждения [4]. Несколько позже, в 2012 г., M. Basalay с соавт. в экспериментах на крысах обнаружили, что кратковременная (15-минутная) ишемия задних конечностей оказывает выраженное инфаркт-лимитирующее действие на миокард не только в первые минуты реперфузии, но и при ее осуществлении на 10-й минуте после восстановления коронарного кровотока [3].

За последнее десятилетие данные ряда фундаментальных научных и клинических исследований подтвердили, что ишемическое Пост является эффективным методом снижения реперфузионного повреждения [1–3].

К настоящему времени накоплен достаточно большой объем знаний о феномене ишемического кондиционирования и его защитном влиянии на миокард. Однако биохимические механизмы кардиопротекции, лежащие в основе инфаркт-лимитирующего эффекта ишемического кондиционирования и особенно ДПост при ишемии-реперфузии миокарда, все еще остаются малоизученными [1, 2, 5, 6].

Принимая во внимание известные факты о том, что гипоперфузия, ишемия органов и тканей приводят к повышению уровня молочной кислоты (лактата) в крови, а лактат в свою очередь оказывает коронарное сосудорасширяющее действие за счет выделения эндотелием сосудов монооксида азота (NO) [7], а также способен ингибировать перекисное окисление липидов и свободнорадикальные процессы [8], выраженность которых при реперфузии возрастает и может использоваться тканями, особенно миокардом, после гипоксии в большей степени, чем глюкоза [9], были основания полагать, что повышенный уровень лактата в крови (гиперлактатемия) сможет уменьшить реперфузионное повреждение миокарда. Так, в проведенном в 2020 г. авторами статьи исследовании было установлено, что после воспроизведения ДПост у экспериментальных живот-

ных в крови повышается уровень L-лактата, а введение нейтрального L-лактата на 25-й минуте реперфузии в дозе 10 мг/кг приводит к снижению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 28,2 % ( $p < 0,05$  по сравнению с их размерами у интактных животных), т. е. ослабляет реперфузионное повреждение сердца [10].

Достаточно долгое время лактат рассматривался как тупиковый метаболит, агент усталости или метаболический яд. В медицине было принято считать, что повышение уровня лактата в крови коррелирует с тяжестью заболевания или травмы. С появлением в последнее время в научной литературе сведений о ранее неизвестных эффектах лактата начали резко изменяться представления о его роли в физиологии и медицине. Так, в ряде исследований показано, что лактат участвует в регуляции метаболизма и играет ключевую роль в формировании различных биологических процессов [11]. Выявлено, что L-лактат постоянно образуется и используется в различных клетках организма в полностью аэробных условиях [11]. Лактат, перемещаясь между клетками-продуцентами и клетками-потребителями, выполняет по крайней мере три важные функции: является основным источником энергии, предшественником глюкозы в глюконеогенезе и сигнальной молекулой [11]. Концепции «лактатного челнока» описывают роль лактата в доставке окислительных и глюконеогенных субстратов, а также в передаче сигналов клетками [11].

В современной литературе имеются также немногочисленные экспериментальные исследования, посвященные выяснению механизмов влияния лактата на сердечную деятельность. J. Zhang с соавт. в опытах на мышцах показали, что лактат ускоряет поляризацию макрофагов M2, продуцирующих противовоспалительные цитокины, через сигнальный путь STAT3, а также оказывает кардиопротекторное действие после инфаркта миокарда за счет улучшения фракции выброса и фракционного укорочения, снижения апоптоза кардиомиоцитов и увеличения плотности микрососудов в зоне ишемии [12].

Клиническое исследование M. Nalos с соавт. показало, что инфузия полумолярного лактата натрия может улучшить работу сердца у пациентов с острой сердечной недостаточностью без какого-либо пагубного воздействия на функцию органов [13]. Кроме того, T. Kouyama с соавт. обнаружили, что Пост с помощью крови, обогащенной лактатом, обеспечивает потенциальную кардиопротекцию у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST на электрокардиограмме (ЭКГ). В дальнейшем данным пациентам выполнялось первичное чрескожное коронарное вмешательство [14]. Можно констатировать, что идет процесс накопления данных, свидетельствующих о том, что лактат может быть многообещающим средством лечения ССЗ.

На сегодняшний день имеется ряд исследований, посвященных вопросу влияния пожилого возраста на воспроизводимость инфаркт-лимитирующего эффекта Пост у экспериментальных животных, однако выводы, сделанные на их основании, неоднозначны и во многом противоречивы. Так, результаты одних исследований свидетельствуют об отсутствии у старых животных инфаркт-лимитирующего эффекта Пост [15], а данные других исследований, наоборот, указывают на наличие у них противоишемического эффекта Пост [16].

В настоящее время накоплено большое количество сведений, подчеркивающих важную роль парасимпатической регуляции сердечной деятельности в механизмах защиты миокарда от повреждений [17]. В частности, согласно современным представлениям, парасимпатическая регуляция сердечной деятельности имеет важное значение в механизмах защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения [18].

Известно, что процессы старения организма сопровождаются ослаблением влияния парасимпатической регуляции на сердце, что связано с деструкцией холинергических нервных окончаний, снижением интенсивности процессов синтеза ацетилхолина и числа M-холинорецепторов в миокарде [19].

Принимая во внимание тот факт, что в организме старых животных происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения, были основания полагать, что возрастные изменения органов и тканей, в частности активность в них периферических M-холинореактивных систем, могут оказывать существенное влияние на кардиопротекторную эффективность Пост с помощью L-лактата у старых крыс. В то же время в современной литературе отсутствуют сведения, касающиеся выяснения кардиопротекторной эффективности Пост с помощью L-лактата

при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина.

Цель исследования – выяснить кардиопротекторную эффективность посткондиционирования с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина.

**Материалы и методы исследования.** Исследование проведено на наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах ( $n = 101$ ), разделенных на две возрастные группы: 43 молодые (молод) крысы массой 200–250 г в возрасте  $4 \pm 1$  мес. и 58 старых (стар) крыс массой 400–450 г в возрасте  $24 \pm 1$  мес. Из них, с учетом выживаемости животных после острой ишемии миокарда (ОИМ) и последующих процедур, для обработки и анализа результатов исследования было отобрано 72 крысы (по 36 молодых и старых). Все животные в начале эксперимента (перед 30-минутной ишемией и последующей 120-минутной реперфузией миокарда) были разделены на 6 групп: 1-я (Контроль<sub>молод</sub>) – группа молодых крыс, которым проводилась ишемия-реперфузия миокарда ( $n = 14$ ); 2-я (Контроль<sub>стар</sub>) – группа старых крыс, которым проводилась ишемия-реперфузия миокарда ( $n = 22$ ); 3-я (Лактат<sub>молод</sub>) – группа молодых крыс, которым через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену L-лактат в дозе 10 мг/кг ( $n = 14$ ); 4-я (Лактат<sub>стар</sub>) – группа старых крыс, которым через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену L-лактат в дозе 10 мг/кг ( $n = 17$ ); 5-я (Атропин + Лактат<sub>молод</sub>) – группа молодых крыс, которым проводили ишемию-реперфузию миокарда и за 10 мин до воспроизведения Пост с помощью L-лактата вводили в левую общую яремную вену 0,2 %-ный раствор М-холиноблокатора атропина (Sigma-Aldrich, США) в дозе 2 мг/кг ( $n = 15$ ); 6-я (Атропин + Лактат<sub>стар</sub>) – группа старых крыс, которым проводили ишемию-реперфузию миокарда и за 10 мин до воспроизведения Пост с помощью L-лактата вводили в левую общую яремную вену 0,2 %-ный раствор М-холиноблокатора атропина (Sigma-Aldrich, США) в дозе 2 мг/кг ( $n = 19$ ).

Эксперименты проводили в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными. Животные содержались в стандартных условиях вивария УО «Белорусский государственный медицинский университет» и имели свободный доступ к пище и воде.

Для наркотизации животных использовали тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией в левую общую яремную вену поддерживающей дозы 10 мг/кг·ч с помощью инъекционного насоса В. Braun (Германия). Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом через трахеостому (частота дыхания 56–60 в минуту) при помощи аппарата искусственной вентиляции легких (Harvard, Великобритания). В ходе экспериментов непрерывно регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении и системное артериальное давление (АД), а полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Spike 4 (Великобритания). Для измерения АД прямым методом крысам канюлировали правую общую сонную артерию. 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 IV межреберном промежутке слева. После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам выполняли 30-минутную окклюзию передней нисходящей ветви левой коронарной артерии (ЛКА) путем механического ее пережатия при помощи лигатуры. Реперфузия миокарда достигалась снятием лигатуры. Длительность реперфузии составляла 120 мин.

На протяжении эксперимента у животных изучены следующие показатели гемодинамики: среднее АД ( $AD_{cp}$ ), частота сердечных сокращений (ЧСС) и двойное произведение (ДП).  $AD_{cp}$  рассчитывали как АД диастолическое + 1/3 (АД систолическое – АД диастолическое), ДП – как (ЧСС·АД систолическое)/100. Для оценки антиаритмического эффекта подсчитывали общую длительность нарушений 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 определяли наличие реперфузионных нарушений сердечного ритма.

Зону риска определяли путем введения в левую общую яремную вену 0,5 мл 5 %-ного раствора синьки Эванса (Sigma-Aldrich, США) в конце реперфузии при повторном кратковременном

перезагрузки лигатурой ЛКА и идентифицировали как ишемическую зону, не окрашенную в синий цвет. Затем сердце извлекали и отделяли от него левый желудочек. После замораживания в морозильной камере (при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин) левый желудочек разрезали на 6 поперечных срезов, которые в последующем взвешивали и сканировали с обеих сторон. Для идентификации зоны некроза в миокарде левого желудочка крыс использовали метод, основанный на определении активности дегидрогеназ. Для этого 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 бледно-желтой. После 24-часовой инкубации срезов в 10 %-ном растворе формалина в термостате при температуре  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  срезы сканировали повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза. Размеры зон риска и некроза определяли при помощи компьютерной планиметрии с использованием программы Adobe Photoshop CC 2017.

Изучение кардиопротекторной эффективности Пост с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у крыс проводилось у животных, которым через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену 0,5 мл 40 мМоль нейтрализованного раствора L-(+)-молочной кислоты (Sigma-Aldrich, США), т. е. в дозе 10 мг/кг. Для изготовления нейтрализованного L-лактата для инъекций молочную кислоту растворяли в 0,9 %-ном растворе NaCl с последующим доведением pH до 7,4 с помощью NaOH (10 N).

Доза L-лактата (10 мг/кг) была выбрана нами с целью обеспечить уровень L-лактата в крови, близкий к тому, что имел место после 15-минутного наложения лигатур на обеих бедренных артериях [10, 20]. Уровень L-лактата в цельной крови, взятой из левой общей яремной вены, определяли при помощи анализатора Lactate Pro 2 (Arkray, Япония) малообъемным методом, используя тест-полоски Lactate Pro 2 Test Strip для биохимических исследований (Arkray, Япония).

Изучение кардиопротекторной эффективности Пост с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у старых и молодых крыс в условиях блокады М-холинореактивных систем проводилось у животных, которым за 10 мин до воспроизведения Пост с помощью L-лактата вводили в левую общую яремную вену 0,2 %-ный раствор М-холиноблокатора атропина (Sigma-Aldrich, США) в дозе 2 мг/кг.

Полученные результаты анализировали с использованием программного пакета GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, США). Для оценки нормальности распределения анализируемых показателей применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий полученных данных – зон риска, зон некроза, показателей гемодинамики – между группами животных оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони. Результаты исследования при их параметрическом распределении представляли в виде среднего  $\pm$  стандартное отклонение. Для оценки статистической значимости различий данных в случае их непараметрического распределения использовали критерий Краскала–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна. При непараметрическом распределении результаты исследования были представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля). Уровень  $p < 0,05$  рассматривали как статистически значимый.

**Результаты и их обсуждение.** Выживаемость крыс после острой коронарной окклюзии составила 71,3 % (29 крыс из 101 погибли в период ОИМ и последующей реперфузии). При этом в группе Контроль<sub>молод</sub> выживаемость животных составила 85,7 %; в группе Контроль<sub>стар</sub> – 54,5; в группе Лактат<sub>молод</sub> – 85,7; в группе Лактат<sub>стар</sub> – 70,6; в группе Атропин + Лактат<sub>молод</sub> – 80,0; в группе Атропин + Лактат<sub>стар</sub> – 63,2 %. Так, у старых крыс за время 30-минутной коронароокклюзии и последующей 120-минутной реперфузии имело место значительное снижение выживаемости по сравнению с молодыми крысами (погибло 22 старых и 7 молодых животных), что свидетельствует о более чем двукратном снижении устойчивости миокарда старых крыс к повреждению, вызванному его длительной ишемией, а также реперфузией. Таким образом, с учетом выживаемости животных в экспериментальных группах осталось по 12 крыс в каждой.

Установлено, что в группах Контроль<sub>молод</sub>, Контроль<sub>стар</sub>, Лактат<sub>молод</sub>, Лактат<sub>стар</sub>, Атропин + Лактат<sub>молод</sub> и Атропин + Лактат<sub>стар</sub> во время ОИМ имело место статистически значимое снижение показателя АД<sub>ср</sub> ( $p < 0,05$ ) по сравнению с его исходными значениями. В начале реперфузии

в группах Контроль<sub>стар</sub>, Лактат<sub>стар</sub>, Атропин + Лактат<sub>молод</sub> и Атропин + Лактат<sub>стар</sub> также имело место статистически значимое снижение показателя АД<sub>ср</sub> ( $p < 0,05$ ) по сравнению с его исходными значениями. У животных, которым осуществлялось введение в левую общую яремную вену 0,2 %-ного раствора М-холиноблокатора атропина в дозе 2 мг/кг за 10 мин до Пост с помощью L-лактата, отмечалось статистически значимое повышение показателя ЧСС ( $p < 0,01$ ) по сравнению с его исходными значениями на 30, 60, 90 и 120-й минутах реперфузии. Изменение показателей гемодинамики на протяжении эксперимента у старых и молодых крыс представлено в таблице.

**Изменение показателей гемодинамики у крыс исследуемых групп на протяжении эксперимента**  
**Changes in the hemodynamic parameters in the rats of the study groups during the experiment**

Показатель гемодинамики		Контроль		Лактат		Атропин + Лактат	
		Молод (n = 12)	Стар (n = 12)	Молод (n = 12)	Стар (n = 12)	Молод (n = 12)	Стар (n = 12)
До начала ОИМ	АД <sub>ср</sub>	81 ± 5	88 ± 5	82 ± 3	87 ± 5	84 ± 3	89 ± 4
	ЧСС	415 ± 16	448 ± 17	410 ± 15	439 ± 18	415 ± 13	435 ± 19
Начало ОИМ	АД <sub>ср</sub>	68 ± 4*	70 ± 5*	69 ± 4*	71 ± 4*	68 ± 5*	72 ± 4*
	ЧСС	430 ± 14	408 ± 24	434 ± 16	404 ± 17	426 ± 19	424 ± 22
Начало реперфузии	АД <sub>ср</sub>	75 ± 5	73 ± 4*	76 ± 4	74 ± 5*	73 ± 3	77 ± 4*
	ЧСС	433 ± 23	407 ± 31	420 ± 23	399 ± 35	416 ± 17	427 ± 18
30' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	77 ± 4	76 ± 5	75 ± 4	77 ± 5	75 ± 5	78 ± 4
	ЧСС	439 ± 19	404 ± 24	424 ± 21	403 ± 29	495 ± 21**	514 ± 24**
60' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	76 ± 5	78 ± 6	78 ± 5	78 ± 4	76 ± 4	79 ± 5
	ЧСС	432 ± 16	398 ± 23	415 ± 21	406 ± 21	502 ± 20**	521 ± 23**
90' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	78 ± 4	78 ± 5	78 ± 4	80 ± 4	77 ± 5	81 ± 4
	ЧСС	420 ± 16	393 ± 25	417 ± 18	416 ± 24	491 ± 17**	512 ± 20**
120' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	80 ± 5	79 ± 5	80 ± 3	81 ± 5	81 ± 4	83 ± 3
	ЧСС	413 ± 17	387 ± 25	420 ± 17	421 ± 21	484 ± 22**	503 ± 19**

Примечание. Статистическая значимость различий по сравнению с исходными значениями: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ .

При проведении исследования установлено, что показатели ДП в анализируемых группах крыс до начала острой коронарной окклюзии статистически значимо не различались. Следовательно, были основания полагать, что животные всех анализируемых групп до начала эксперимента характеризовались сходной потребностью миокарда в кислороде.

При изучении антиаритмической эффективности Пост с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина (2 мг/кг) были получены следующие результаты продолжительности аритмий: Контроль<sub>молод</sub> – 167 (49; 233) с; Контроль<sub>стар</sub> – 237 (128; 331); Лактат<sub>молод</sub> – 145 (27; 192); Лактат<sub>стар</sub> – 97 (66; 154); Атропин + Лактат<sub>молод</sub> – 182 (54; 258) и Атропин + Лактат<sub>стар</sub> – 192 (77; 314) с.

В ходе исследования также установлено, что в группе Контроль<sub>молод</sub> у 9 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а у 11 животных данной группы была выявлена ПЖТ. Реперфузионные нарушения сердечного ритма имели место у 10 крыс данной группы. В группе Контроль<sub>стар</sub> в период острой коронарной окклюзии у 11 из 12 крыс отмечались ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались также у 11 животных данной группы. В группе Лактат<sub>молод</sub> в период острой коронарной окклюзии у 9 из 12 крыс отмечались ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 7 животных данной группы. В группе Лактат<sub>стар</sub> в период острой коронарной окклюзии у 11 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а ПЖТ имела место у 10 крыс. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 8 животных данной группы. В группе Атропин + Лактат<sub>молод</sub> в период 30-минутной ишемии миокарда ФЖ и ПЖТ были выявлены у 11 из 12 животных. Реперфузионные аритмии имели место у 12 животных данной группы. В группе Атропин + Лактат<sub>стар</sub> в период острой коронарной окклюзии

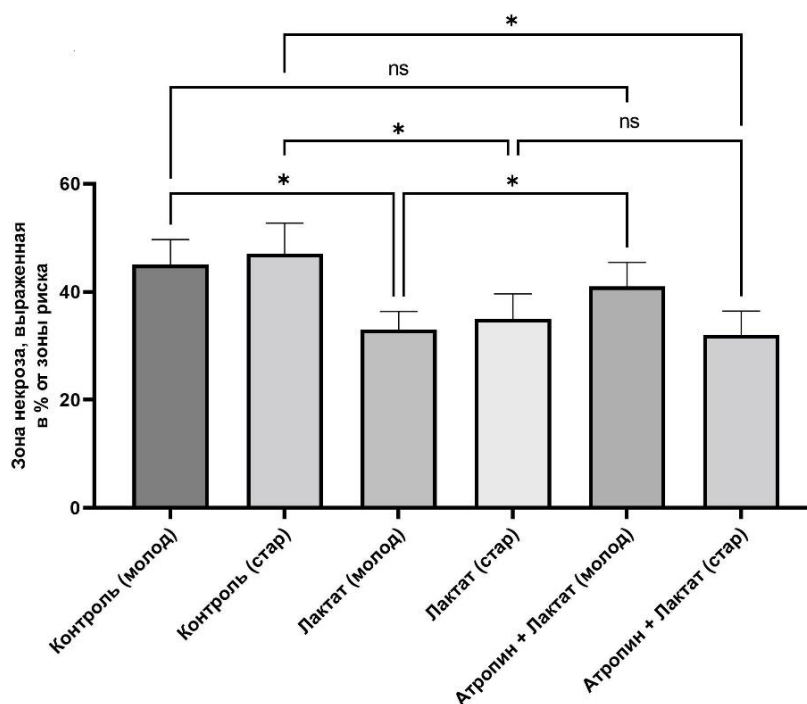
у 11 из 12 крыс отмечались ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 11 животных данной группы.

Таким образом, длительность ишемических нарушений сердечного ритма в исследуемых группах старых и молодых крыс, подвергнутых атропинизации и Пост с помощью L-лактата, сопоставима с таковой в группах контроля.

При изучении инфаркт-лимитирующего эффекта Пост с помощью L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина статистически значимых различий между анализируемыми группами по показателю размера зоны риска в миокарде левого желудочка не выявлено. Так, зона ишемии в группе Контроль<sub>молод</sub> составила  $54 \pm 3\%$ , в группе Контроль<sub>стар</sub> –  $55 \pm 3\%$ ; в группе Лактат<sub>молод</sub> –  $52 \pm 4\%$ ; в группе Лактат<sub>стар</sub> –  $53 \pm 3\%$ ; в группе Атропин + Лактат<sub>молод</sub> –  $50 \pm 4\%$ ; в группе Атропин + Лактат<sub>стар</sub> –  $54 \pm 5\%$ . Таким образом, во всех анализируемых группах крыс размеры зоны риска в миокарде левого желудочка были сопоставимы.

Размер инфаркта является важным показателем повреждения миокарда из-за его влияния на сократимость сердца. Установлено, что размер зоны некроза в миокарде левого желудочка у животных в группе Контроль<sub>молод</sub> составил  $45 \pm 4\%$ , а в группе Контроль<sub>стар</sub> –  $47 \pm 5\%$ . После внутривенного введения животным L-лактата (10 мг/кг), которое осуществлялось через 25 мин после начала реперфузии, у крыс при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались следующие размеры зон некроза: в группе Лактат<sub>молод</sub> –  $33 \pm 3\%$  ( $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>молод</sub>), а в группе Лактат<sub>стар</sub> –  $35 \pm 4\%$  ( $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>стар</sub>). Размер зоны некроза в группах молодых и старых животных, которым на 15-й минуте реперфузии вводили блокатор М-холинореактивных систем атропин (2 мг/кг), а затем внутривенно L-лактат, был следующим: в группе Атропин + Лактат<sub>молод</sub> –  $41 \pm 4\%$ , а в группе Атропин + Лактат<sub>стар</sub> –  $32 \pm 4\%$  ( $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>стар</sub>) (см. рисунок).

Полученные результаты исследования свидетельствуют о наличии выраженного инфаркт-лимитирующего эффекта Пост с помощью L-лактата у молодых и старых крыс. Однако в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина (2 мг/кг)



Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка крыс в исследуемых группах. \* – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ); ns – различия не достоверны

Necrosis area sizes in the myocardium of the left ventricle of rats in the study groups. \* – statistically significant differences ( $p < 0.05$ ); ns – no statistically significant differences

у молодых крыс Пост с помощью L-лактата оказывало менее выраженный противоишемический эффект. У старых животных в условиях системного действия в их организме атропина инфаркт-лимитирующий эффект Пост с помощью L-лактата сохранялся.

Таким образом, учитывая имеющиеся литературные данные о том, что у старых крыс имеет место выраженное снижение интенсивности процессов синтеза ацетилхолина и активности ацетилхолинтрансферазы, свидетельствующее о нарушении процессов холинергической регуляции сердечной деятельности у таких животных, данные выполненных исследований дают основания полагать, что активность периферических М-холинореактивных систем имеет значение в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта Пост с помощью L-лактата у молодых, но не у старых крыс. В пользу данного предположения свидетельствуют и такие имеющиеся в литературе сведения, что при старении организма у животных происходит деструкция холинергических нервных окончаний и уменьшение числа М-холинорецепторов в миокарде, что в конечном итоге ведет к ослаблению парасимпатических влияний на сердце у старых животных [19].

**Заключение.** Пост с помощью L-лактата оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых крыс, однако в условиях системного действия в их организме атропина этот эффект Пост с помощью L-лактата сохранялся только у старых крыс. Установлено, что Пост с помощью L-лактата у старых крыс после введения в их организм атропина в дозе 2 мг/кг приводит к уменьшению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 31,9 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой старых крыс. По-видимому, активность периферических М-холинореактивных систем имеет значение в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов Пост с помощью L-лактата у молодых, но не у старых крыс.

Полученные знания о биохимических механизмах кардиопротекторной эффективности Пост с помощью L-лактата послужат научным обоснованием для разработки новых подходов к профилактике и лечению ССЗ, патогенез которых связан с недостаточным кровоснабжением миокарда и тканевой гипоксии.

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

### Список использованных источников

1. 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.
2. Heusch, G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning / G. Heusch // *Circ. Res.* – 2015. – Vol. 116, N 4. – P. 674–699. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.305348>
3. 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>
4. 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>
5. Эффективность дистантного ишемического посткондиционирования миокарда у крыс с индуцированным метаболическим синдромом зависит от уровня лептина / Н. В. Нарыжная [и др.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук.* – 2022. – Т. 19, № 1. – С. 38–47.
6. 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. 353–364.
7. Nitric oxide-mediated relaxation to lactate of coronary circulation in the isolated perfused rat heart / J. J. Montoya [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 58, N 4. – P. 392–398. <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e318226bcf7>
8. Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an *in vitro* study / C. Groussard [et al.] // *J. Appl. Physiol.* (1985). – 2000. – Vol. 89, N 1. – P. 169–175. <https://doi.org/10.1152/jappl.2000.89.1.169>
9. Клинические аспекты динамики лактата крови во время операции на сердце и аорте в условиях искусственного кровообращения / Н. А. Трекова [и др.] // *Анестезиология и реанимация.* – 2016. – Т. 61, № 5. – С. 324–329.
10. Чепелев, С. Н. О значимости гиперлактатемии в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте / С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт, С. В. Губкин // *Докл. Нац. акад. наук Беларусі.* – 2020. – Т. 64, № 3. – С. 332–340.
11. Brooks, G. A. The science and translation of lactate shuttle theory / G. A. Brooks // *Cell Metabolism.* – 2018. – Vol. 27, N 4. – P. 757–785. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.008>
12. Sodium lactate accelerates M2 macrophage polarization and improves cardiac function after myocardial infarction in mice / J. Zhang [et al.] // *Cardiovasc. Therapeutics.* – 2021. – Vol. 2021. – Art. ID 5530541. <https://doi.org/10.1155/2021/5530541>



13. Half-molar sodium lactate infusion improves cardiac performance in acute heart failure: a pilot randomised controlled clinical trial / M. Nalos [et al.] // *Crit. Care.* – 2014. – Vol. 18, N 2. – P. R48. <https://doi.org/10.1186/cc13793>
14. Impact of postconditioning with lactate-enriched blood on in-hospital outcomes of patients with ST-segment elevation myocardial infarction / T. Koyama [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2016. – Vol. 220. – P. 146–148. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.06.176>
15. Donato, M. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning / M. Donato, P. Evelson, R. J. Gelpi // *Curr. Opin. Cardiol.* – 2017. – Vol. 32, N 6. – P. 784–790. <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000447>
16. Ischaemic post-conditioning protects both adult and aged Sprague-Dawley rat heart from ischaemia-reperfusion injury through the phosphatidylinositol 3-kinase-AKT and glycogen synthase kinase-3beta pathways / Z. Yin [et al.] // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2009. – Vol. 36, N 8. – P. 756–763.
17. 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>
18. Revisiting the cardioprotective effects of acetylcholine receptor activation against myocardial ischemia/reperfusion injury / K. Intachai [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, N 9. – P. 2466. <https://doi.org/10.3390/ijms19092466>
19. Фролькис, В. В. Нервная регуляция функции сердца при старении / В. В. Фролькис, Н. С. Верхратский, В. Г. Шевчук // *Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова.* – 1977. – Т. 63, № 8. – С. 1134–1143.
20. Кардиопротекторная эффективность фармакологического посткондиционирования с помощью молочной кислоты при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с транзиторной гиперхолестеринемией / С. Н. Чепелев [и др.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук.* – 2021. – Т. 18, № 2. – С. 135–146.

## References

1. 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).
2. Heusch G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre, post, and remote conditioning. *Circulation Research*, 2015, vol. 116, no. 4, pp. 674–699. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.305348>
3. 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. *Experimental Physiology*, 2012, vol. 97, no. 8, pp. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
4. 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, no. 2, pp. H579–H588. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01064.2002>
5. Naryzhnaya N. V., Logvinov S. V., Kurbatov B. K., Mukhomedyanov A. V., Sirotnina M. A., Chepelev S. N., Vismont F. I., Maslov L. N. The efficiency of remote ischemic postconditioning of the myocardium in rats with induced metabolic syndrome depends on the leptin level. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 1, pp. 38–47 (in Russian).
6. 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. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 353–364 (in Russian).
7. Montoya J. J., Fernández N., Monge L., Diéguez G., Villalón A. L. Nitric oxide-mediated relaxation to lactate of coronary circulation in the isolated perfused rat heart. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2011, vol. 58, no. 4, pp. 392–398. <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e318226bcf7>
8. Groussard C., Morel I., Chevanne M., Monnier M., Cillard J., Delamarche A. Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an *in vitro* study. *Journal of Applied Physiology (1985)*, 2000, vol. 89, no. 1, pp. 169–175. <https://doi.org/10.1152/jappl.2000.89.1.169>
9. Trekova N. A., Aksel'rod B. A., Yudichev I. I., Gus'kov D. A., Markin A. V., Popov A. M. Clinical aspects of the dynamics of blood lactate during surgery on the heart and aorta under conditions of cardiopulmonary bypass. *Anesteziologiya i reanimatologiya* [Anesthesia and resuscitation], 2016, vol. 61, no. 5, pp. 324–329.
10. Chepelev S. N., Vismont F. I., Goubkin S. V. On the significance of hyperlactatemia in the implementation of the infarct-limiting effect of remote ischemic postconditioning in myocardial ischemia-reperfusion in the experiment. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 3, pp. 332–340 (in Russian).
11. Brooks G. A. The science and translation of lactate shuttle theory. *Cell Metabolism*, 2018, vol. 27, no. 4, pp. 757–785. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.008>
12. Zhang J., Huang F., Chen L., Li G., Lei W., Zhao J., Liao Y., Li Y., Li C., Chen M. Sodium lactate accelerates M2 macrophage polarization and improves cardiac function after myocardial infarction in mice. *Cardiovascular Therapeutics*, 2021, vol. 2021, art. ID 5530541. <https://doi.org/10.1155/2021/5530541>
13. Nalos M., Leverve X. M., Huang S. J., Weisbrodt L., Parkin R., Seppelt I. M., Ting I., Mclean A. S. Half-molar sodium lactate infusion improves cardiac performance in acute heart failure: a pilot randomised controlled clinical trial. *Critical Care*, 2014, vol. 18, no. 2, p. R48. <https://doi.org/10.1186/cc13793>
14. Koyama T., Munakata M., Akima T., Kageyama T., Shibata M., Moritani K., Kanki H., Ishikawa S., Mitamura H. Impact of postconditioning with lactate-enriched blood on in-hospital outcomes of patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *International Journal of Cardiology*, 2016, vol. 220, pp. 146–148. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.06.176>

15. Donato M., Evelson P., Gelpi R. J. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning. *Current Opinion in Cardiology*, 2017, vol. 32, no. 6, pp. 784–790. <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000447>

16. Yin Z., Gao H., Wang H., Li L., Di C., Luan R., Tao L. Ischaemic post-conditioning protects both adult and aged Sprague-Dawley rat heart from ischaemia-reperfusion injury through the phosphatidylinositol 3-kinase-AKT and glycogen synthase kinase-3 $\beta$  pathways. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2009, vol. 36, no. 8, pp. 756–763.

17. 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>

18. Intachai K., Chattapakorn S. C., Chattapakorn N., Shinlapawittayatorn K. Revisiting the cardioprotective effects of acetylcholine receptor activation against myocardial ischemia/reperfusion injury. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, vol. 19, no. 9, p. 2466. <https://doi.org/10.3390/ijms19092466>

19. Frol'kis V. V., Verkhatskii N. S., Shevchuk V. G. Nervous regulation of heart function during aging. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR imeni I. M. Sechenova* [Physiological Journal of the USSR named after I. M. Sechenov], 1977, vol. 63, no. 8, pp. 1134–1143 (in Russian).

20. Chepelev S. N., Vismont F. I., Gubkin S. V., Maslov L. N. Cardioprotective efficiency of pharmacological postconditioning using lactic acid in ischemia-reperfusion of the myocardium in rats with transitional hypercholesterolemia. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 2, pp. 135–146 (in Russian).

### 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

*Губкин Сергей Владимирович* – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, директор. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: goubkin@yandex.ru

### Information about the authors

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

*Frantisek I. Vismont* – 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

*Sergey V. Goubkin* – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Director. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: goubkin@yandex.ru