

Министерство здравоохранения Республики Беларусь
УО «Белорусский государственный медицинский университет»
Кафедра патологической физиологии

**ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКАЯ
ЭФФЕКТИВНОСТЬ
КОМБИНИРОВАННЫХ
МЕТОДИК ИШЕМИЧЕСКОГО
КОНДИЦИОНИРОВАНИЯ
МИОКАРДА У КРЫС**

Севрукевич Валерий Васильевич,
ассистент кафедры патологической
физиологии

Минск, 2020

Актуальность

В настоящее время в Республике Беларусь ишемическая болезнь сердца (ИБС) является основной причиной смертности среди населения. Принимая во внимание большую частоту летальности, а также долгий период реабилитации пациентов с инфарктом миокарда, ИБС становится не столько не медицинской проблемой, сколько проблемой государственного масштаба. Ввиду этого обстоятельства, поиски эффективных методов минимизации ишемического повреждения миокарда являются одной из самых приоритетных задач современной медицины.

Патогенез ишемического повреждения миокарда

В связи с нарушениями притока артериальной крови к тканям сердца, кардиомиоциты испытывают резкий недостаток в питательных веществах и кислороде, что приводит к метаболическим клеточным расстройствам, характеризующимся переходом клеток на анаэробный гликолиз, а также расстройствам ионного гомеостаза (обратимые стадии). В случае сохранения глубоких метаболических расстройств в миокарде повышается активность внутриклеточных протеаз и фосфолипаз, что в конечном счете приводит к гибели клеток (необратимая стадия)



Рис. 1 – Схема ишемического повреждения миокарда

В 1994 и 1996 г. учеными Массачусетского и Вашингтонского медицинских университетов Карин Пшыкленк и Чарльзом Мюреем впервые были описаны одни из основных методик кардиопротекции, чье изучение и по сей день ведется на мировом уровне экспериментальной медицины. Описанными методиками кардиопротекции являются методики дистантного ишемического preconditionирования (ДИПреК) и дистантного ишемического postconditionирования миокарда (ДИПостК)



Рис. 2 – Карин Пшыкленк, изобретатель методики ДИПреК

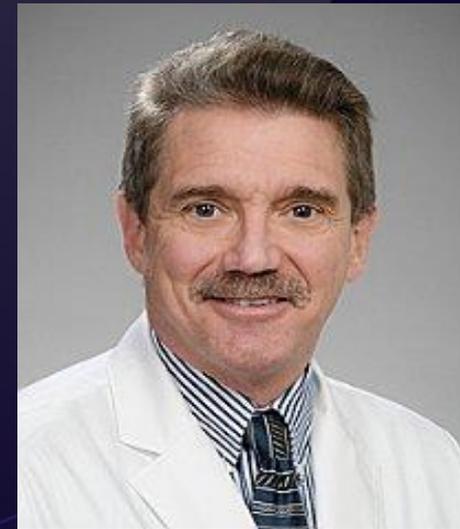


Рис. 3 – Чарльз Мюррей, изобретатель методики ДИПостК

Феномен дистантного ишемического кондиционирования

Дистантное ишемическое прекондиционирование – метаболический феномен защиты миокарда, заключающийся в том, что серия кратковременных (до 15 мин) эпизодов ишемии-реперфузии конечности обеспечивает адаптацию и защиту клеток миокарда в условиях более длительной ишемии (более 15-30 минут ишемии).



Рис. 4 – Схема дистантного ишемического прекондиционирования миокарда

Дистантное ишемическое посткондиционирование — метаболический феномен защиты миокарда, заключающийся в кратковременной (до 15 мин) серии эпизодов ишемии-реперфузии конечности в начале периода длительной реперфузии миокарда после продолжительной ишемии (более 30 мин).

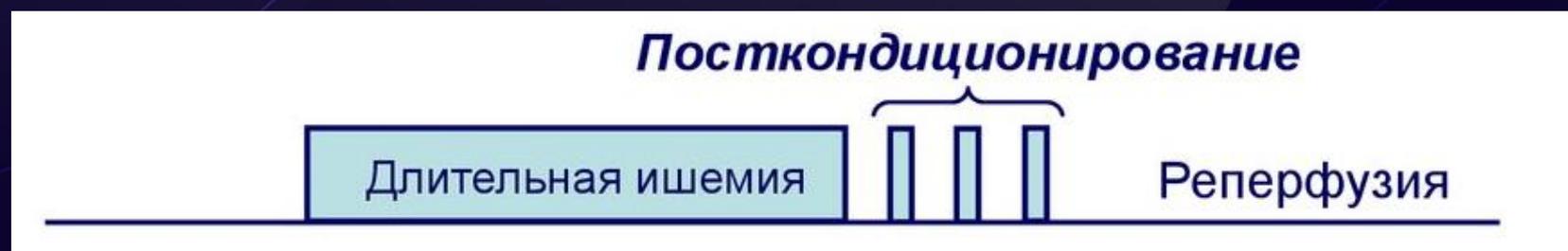


Рис. 5 – Схема дистантного ишемического посткондиционирования миокарда

Молекулярные механизмы кардиопротекции ишемического кондиционирования миокарда

Несмотря на то, что методики ДИПреК и ДИПостК изобретены достаточно давно, до сих пор неизвестны точные молекулярные механизмы кардиопротекции данных методик. Предположительными кардиопротектерными триггерами ДИПреК и ДИПостК являются рецептор-опосредованное действие:

1. Ацетилхолина
2. Брадикинина
3. Аденозина
4. Норадреналина
5. Опиоидов
6. NO и др.

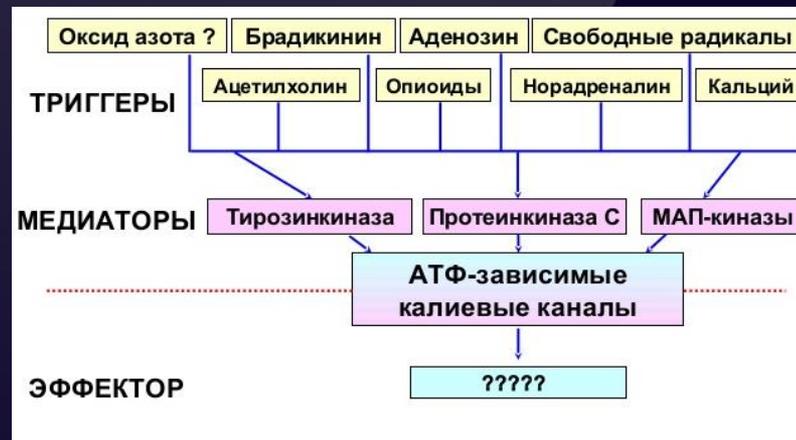


Рис. 6 – Молекулярные механизмы феномена ДИПреК и ДИПостК

Данные вещества, стимулируя различные ферменты, влияют на активность АТФ-зависимых калиевых каналов, тем самым повышая устойчивость кардиомиоцитов к гипоксическим условиям.

Цель работы

Оценить кардиопротекторную эффективность комбинированного применения ДИПреК и ДИПостК при ишемии/реперфузии миокарда у молодых крыс-самцов

Задачи работы

- Оценить противоишемический эффект ДИПреК при ишемии/реперфузии миокарда у крыс
- Оценить противоишемический эффект ДИПостК при ишемии/реперфузии миокарда у крыс
- Оценить противоишемическую эффективность сочетанного применения ДИПреК и ДИПостК при ишемии/реперфузии миокарда у крыс

Материалы и методы

Исследование выполнено на 38 белых крысах-самцах, массой 250 ± 20 г, возрастом – 4 ± 1 мес. Животные были разделены на 4 группы: Контроль ($n=8$), ДИПреК ($n=12$), ДИПостК ($n=10$), ДИПреК+ДИПостК ($n=8$).

Статистическая значимость различий оценивалась при помощи теста множественных сравнений Данна и дисперсионного анализа ANOVA. Данные представлены в виде $M \pm m$. Значения $p < 0,05$ рассматривались как достоверные.

Ход эксперимента

Для наркотизации животных интраперитонеально вводился тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг с поддерживающей дозировкой 10 мг/кг/ч. Крыс переводили на искусственное дыхание при помощи интубации трахеи трахеальной канюлей и подключением к аппарату ИВЛ

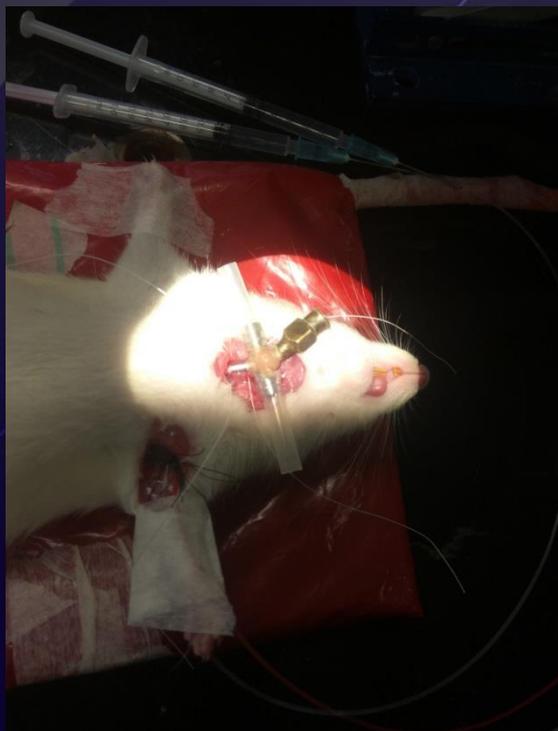


Рис. 7 – Интубированная трахея крысы



Рис. 8 – Трахеальная канюля

Для контроля уровня артериального давления, а также внутривенного введения веществ, производилась катетеризация правой общей сонной артерии и левой наружной яремной вены.

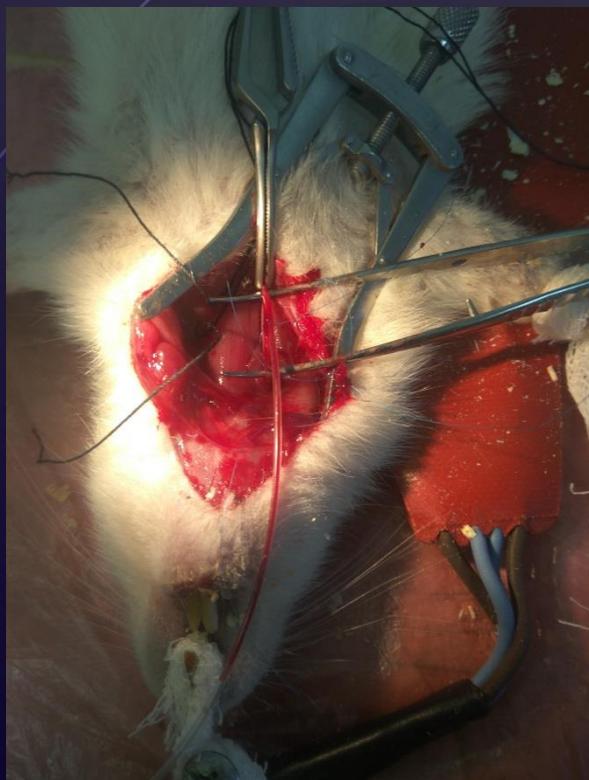


Рис. 9 – Катетеризация правой общей сонной артерии

Животным групп ДИПреК, ДИПостК, ДИПреК+ДИПостК дополнительно производилась:

- 1) ДИПреК - 15-мин. окклюзия обеих бедренных артерий за 25 мин до периода ишемии миокарда.
- 2) ДИПостК - 15-мин. окклюзия обеих бедренных артерий через 10 мин после 30-мин. периода ишемии миокарда
- 3) ДИПреК+ДИПостК - 15-мин. окклюзия обеих бедренных артерий за 25 мин и через 10 мин после 30-мин. периода ишемии миокарда соответственно.



Рис. 10 – Окклюзия бедренной артерии

Вскрытие грудной клетки проводили в IV межреберном промежутке. Экспериментальная ишемия/реперфузия миокарда выполнялась с помощью окклюзии нисходящей ветви левой коронарной артерии (ЛКА), выполняемой путем прошивания и 30-мин. пережатия стенки миокарда полипропиленовой нитью с последующим распусканием нити и 120-мин. периодом реперфузии.

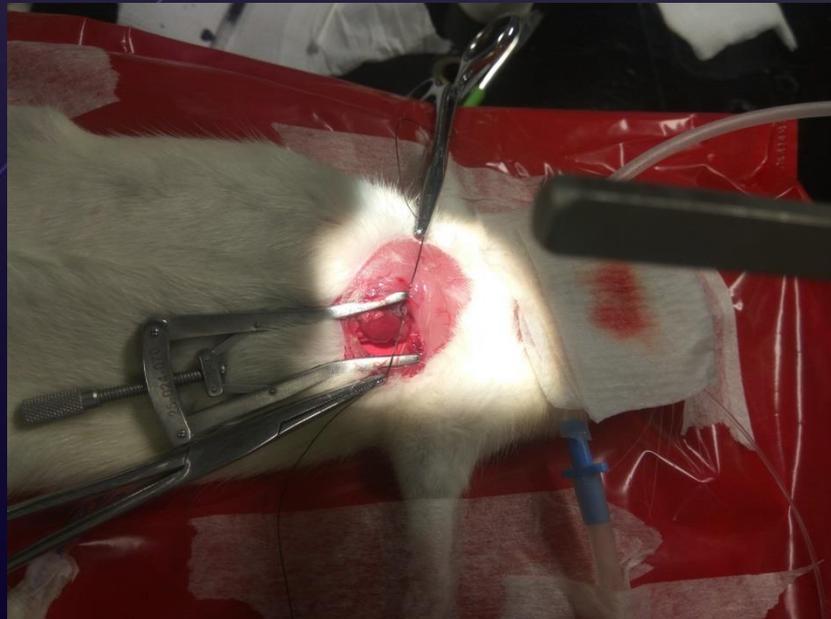


Рис. 11 – Торакотомия в IV межреберье и пережатие ЛКА

В конце периода ишемии/реперфузии для определения зоны ишемии производилось внутривенное введение 1 мл 1% р-ра синьки Эванса, после чего сердце извлекалось из грудной клетки и нарезалось на 6 срезов, которые инкубировали в р-ре 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида в течение 15 мин. в термостате под температурой 37°C. После этого срезы сканировались и производилась оценка степени некротизации миокарда.



Рис.12 – Извлеченное из грудной клетки сердце крысы



Рис.13 – Инкубация срезов миокарда в р-ре 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида

По результатам сканирования срезов миокарда отчетливо видны участки:

1. Зоны риска, разграничиваемой от остального миокарда отсутствием окраски синькой Эванса
2. Жизнеспособного миокарда, окрашиваемого в красно-кирпичный цвет 2,3,5 – трифенилтетразолием хлоридом
3. Зоны некроза, имеющего белесый цвет за счет непрокрашивания 2,3,5 – трифенилтетразолием хлоридом мертвых клеток.



Рис. 14 – Оценка степени некротизации миокарда

Результаты и их обсуждение

Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка были следующими: в группе Контроль – $41 \pm 2\%$, ДИПреК – $19 \pm 1\%$, ДИПостК – $18,3 \pm 3\%$, ДИПреК+ДИПостК – $28,3 \pm 2\%$ ($p < 0,05$).

Наблюдается отсутствие потенцирования кардиопротекторного эффекта в группе ДИПреК+ДИПостК

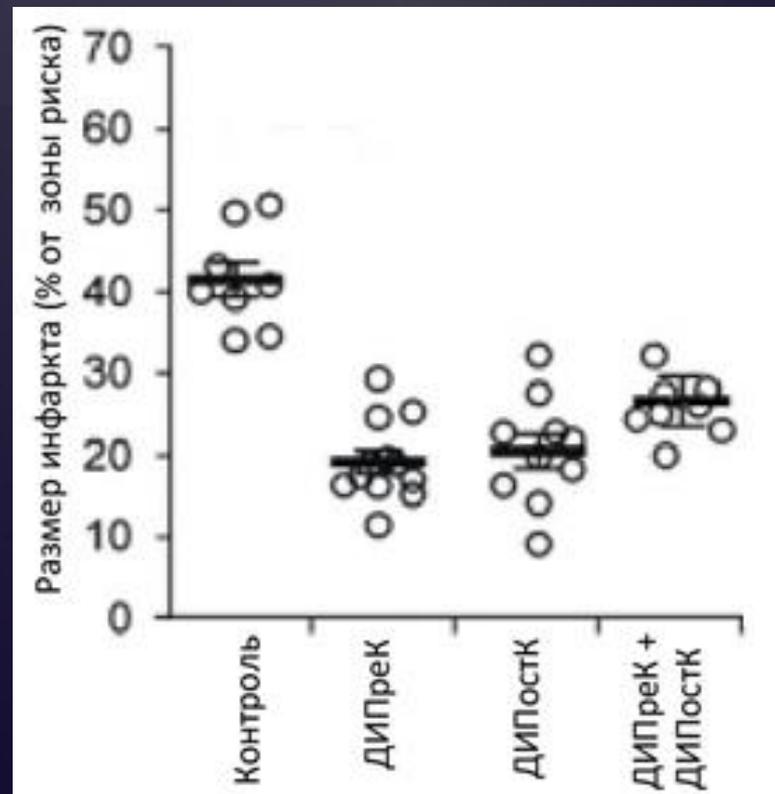


Рис. 16 - Степень ишемического/реперфузионного поражения миокарда

Заключение

Кардиопротекторный эффект сочетанного применения ДИПреК и ДИПостК при ишемии/реперфузии миокарда у крыс был менее выражен по сравнению с эффективностью отдельного применения данных методик кондиционирования.

К возможным причинам отсутствия потенцирования противоишемического эффекта комбинированного режима кондиционирования, по-видимому, можно отнести:

1. Достижение максимальной кардиопротекции т.е. невозможность дальнейшего уменьшения зоны некротизации миокарда
2. Воздействие на аналогичные внутриклеточные механизмы кардиопротекции при различных режимах кондиционирования.