



Министерство здравоохранения Республики Беларусь
Белорусский государственный медицинский университет
Кафедра патологической физиологии



**ДИСТАНТНОЕ ИШЕМИЧЕСКОЕ
ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ
ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА
У СТАРЫХ И МОЛОДЫХ КРЫС**

аспирант Чепелев С.Н.

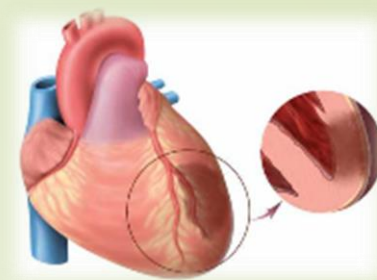
д.м.н., проф., чл.-корр. НАН Беларуси Висмонт Ф.И.

г. Минск, 2020 г.





АКТУАЛЬНОСТЬ



Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ).

ССЗ – это основная причина смерти во всем мире: ни по какой другой причине ежегодно не умирает столько людей, сколько от ССЗ.

Каждый год от ССЗ умирает не менее 17,5 миллиона человек¹.

По оценкам ВОЗ², в 2016 году от ССЗ умерло 17,9 миллиона человек, что составило 31% всех случаев смерти в мире.

В Республике Беларусь³:

- ❖ Заболеваемость ССЗ 35564,1 на 100 тыс. в 2018 г. (34527,8 на 100 тыс. – 2017 г.) – **выросла на 3,0%**.
- ❖ Смертность от ССЗ 711,4 на 100 тыс. в 2018 г. (696,1 на 100 тыс. – 2017 г.) – **увеличилась на 2,1%**.
- ❖ Смертность трудоспособного населения от ССЗ: 142,6 на 100 тыс. в 2018 г. (136,6 на 100 тыс. – 2017 г.) – **рост составил +4,4%**.



¹http://www.who.int/cardiovascular_diseases/ru/

²[http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))

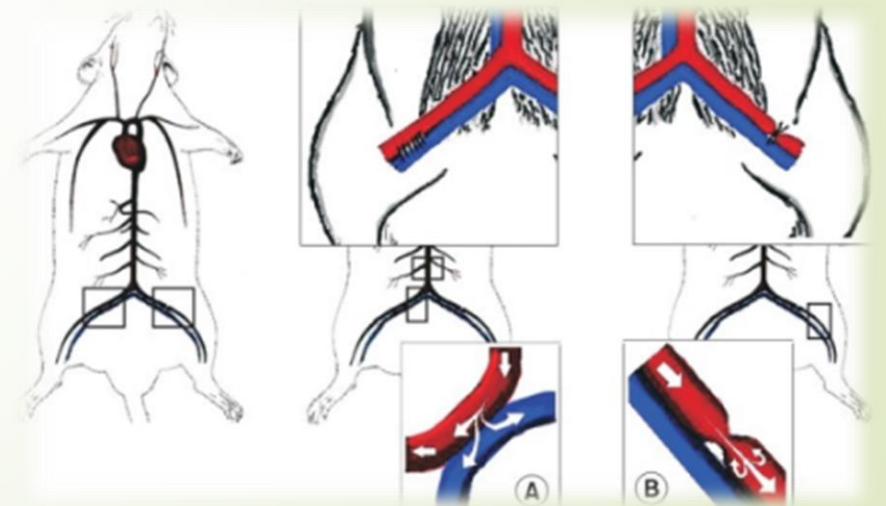
³Резолюция Республиканского совещания по итогам работы кардиологической, кардиохирургической служб, служб рентгенэндоваскулярной и сосудистой хирургии Республики Беларусь в 2018 году и основным направлениям деятельности на 2019 год // А. Г. Мрочек. – 28.02.2019. – <http://www.cardio.by/files/299/Rezolyutsiya-2019-g..pdf>

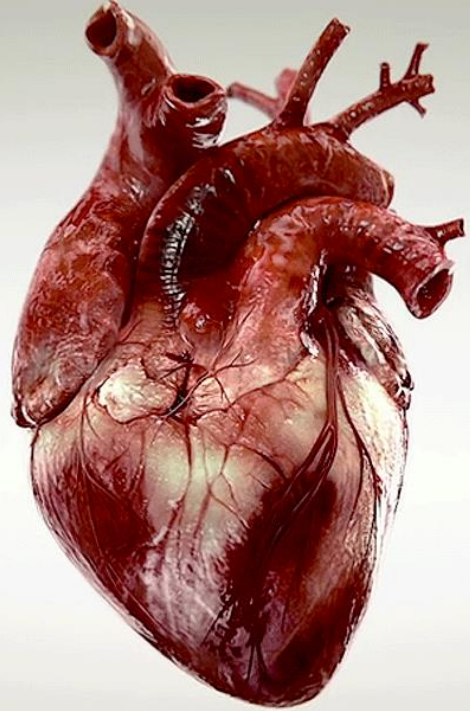


- ❖ В структуре смертности от ССЗ ведущая позиция принадлежит ишемической болезни сердца, в том числе **острому инфаркту миокарда**.
- ❖ **Актуальная задача** современной экспериментальной и клинической медицины – поиск новых, эффективных методов кардиопротекции.

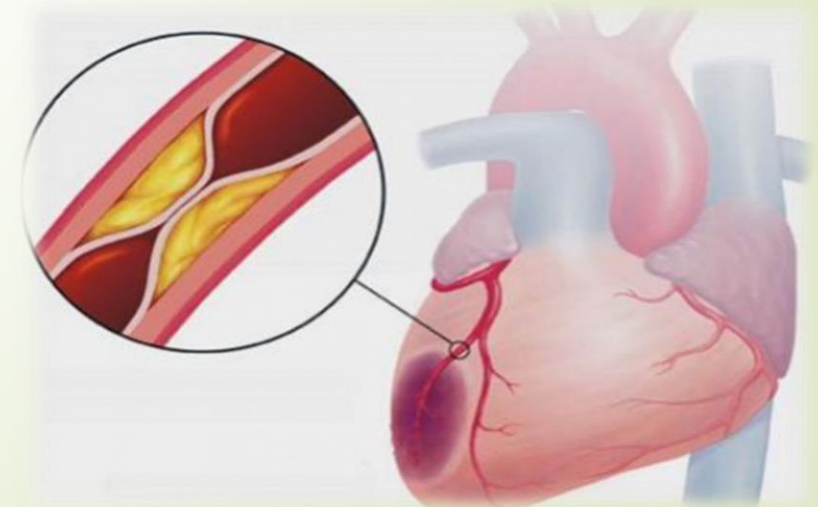
Защита миокарда (кардиопротекция) – комплекс мероприятий, позволяющих добиться ограничения размера необратимого повреждения миокарда и, как следствие, уменьшения смертности и частоты развития сердечной недостаточности. *(Е.В.Шляхто, академик РАН)*

Объектом повышенного интереса исследователей в области экспериментальной и клинической кардиологии являются кардиопротекторные эффекты **дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПостК)**, которые воспроизводятся ишемией конечностей, осуществляемой после острой ишемии миокарда (ОИМ).





В клинической практике необходимость защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения чаще всего возникает у пациентов с различными факторами риска ССЗ, к числу которых относится и пожилой возраст.



ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выяснить кардиопротекторную (инфаркт-лимитирующую и антиаритмическую) эффективность ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у старых и молодых крыс.



МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на **62** наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах, разделенных на 2 возрастные группы:

- 26 молодых крыс (масса 200–250 г, возраст – 4 ± 1 мес.);
- 36 старых крыс (масса 400–450 г, возраст – 24 ± 1 мес.).



Из них с учетом **выживаемости** животных после воспроизведения острой коронарной недостаточности и периода реперфузии для последующей обработки и анализа результатов исследования были отобраны 20 молодых и 20 старых крыс.

Крысы (n=62)				
	Контроль (n=21)		ДИПостК (n=41)	
	<i>Изначально</i>	<i>С учетом выживаемости</i>	<i>Изначально</i>	<i>С учетом выживаемости</i>
Молодые (n=26)	10	8	16	12
Старые (n=36)	11	8	25	12

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ

1. Острой коронарной недостаточности:

30-минутная окклюзия левой коронарной артерии (ЛКА) наложением лигатуры с последующей 120-минутной реперфузией (C. Clark et al., 1980).

2. Старые крысы (масса 400-450 г., возраст 24 ± 1 мес.).

TABLE 1 - The rat's age in months and its relationship in years with human being in social maturity phase¹¹

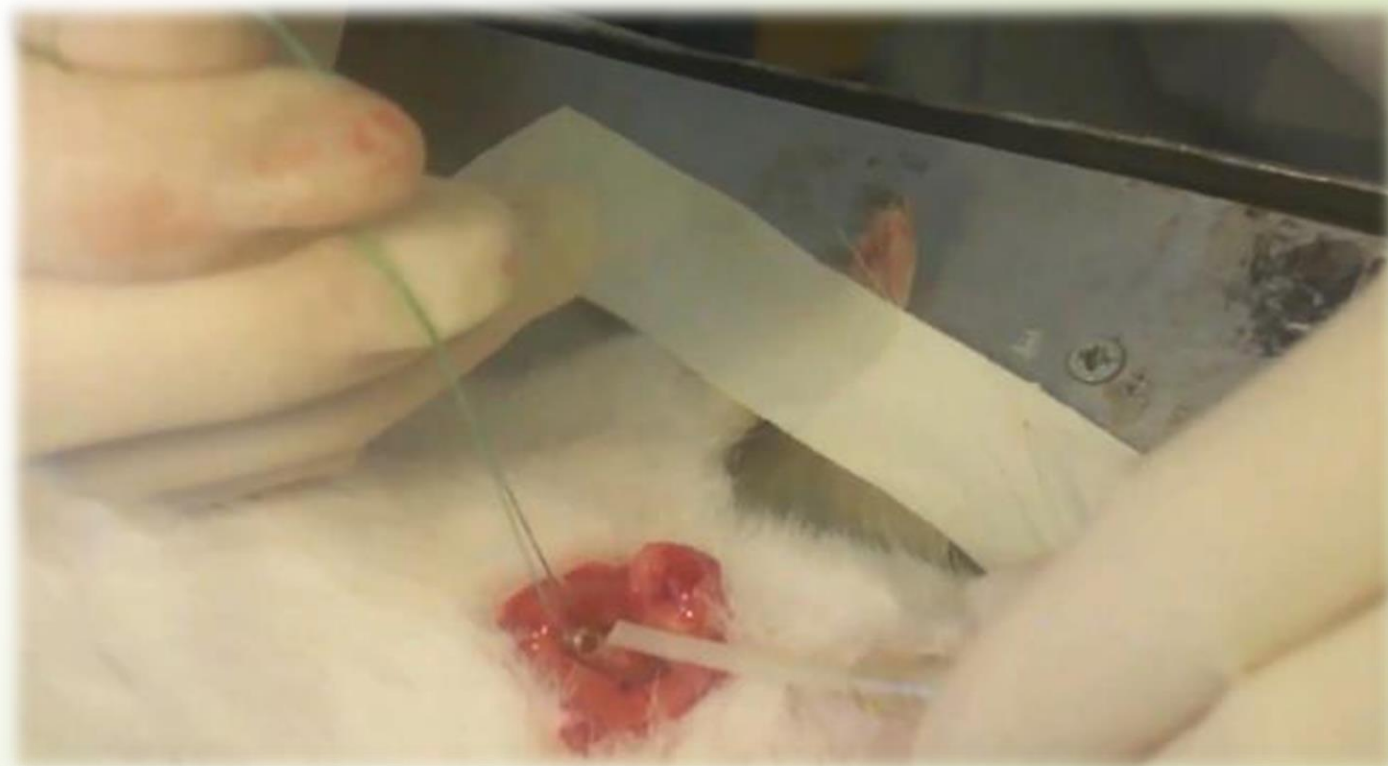
Rat's age in months	Human's age in years
6 months	18 years
12 months	30 years
18 months	45 years
24 months	60 years
30 months	75 years
36 months	90 years
42 months	105 years
45 months	113 years
48 months	120 years



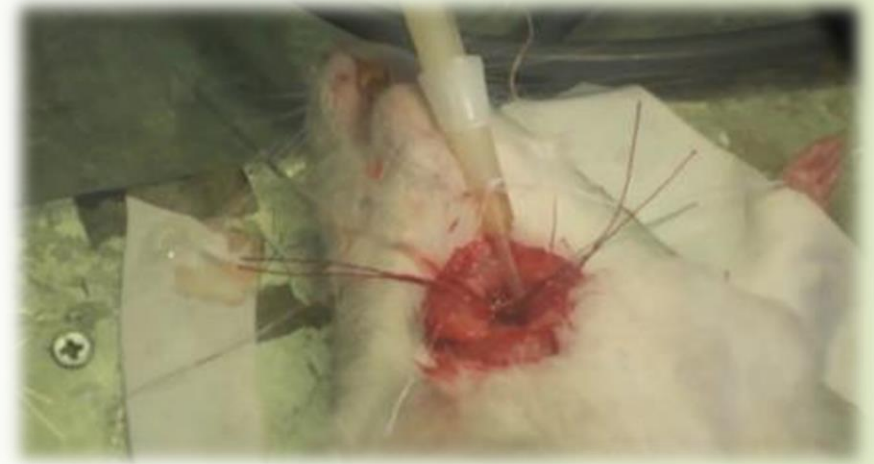
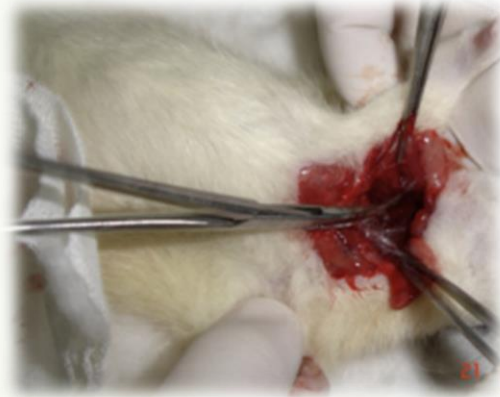
Для наркотизации животных применялся тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг в/б с последующей в/в инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг/час с помощью инъекционного насоса В. Braun (Германия).



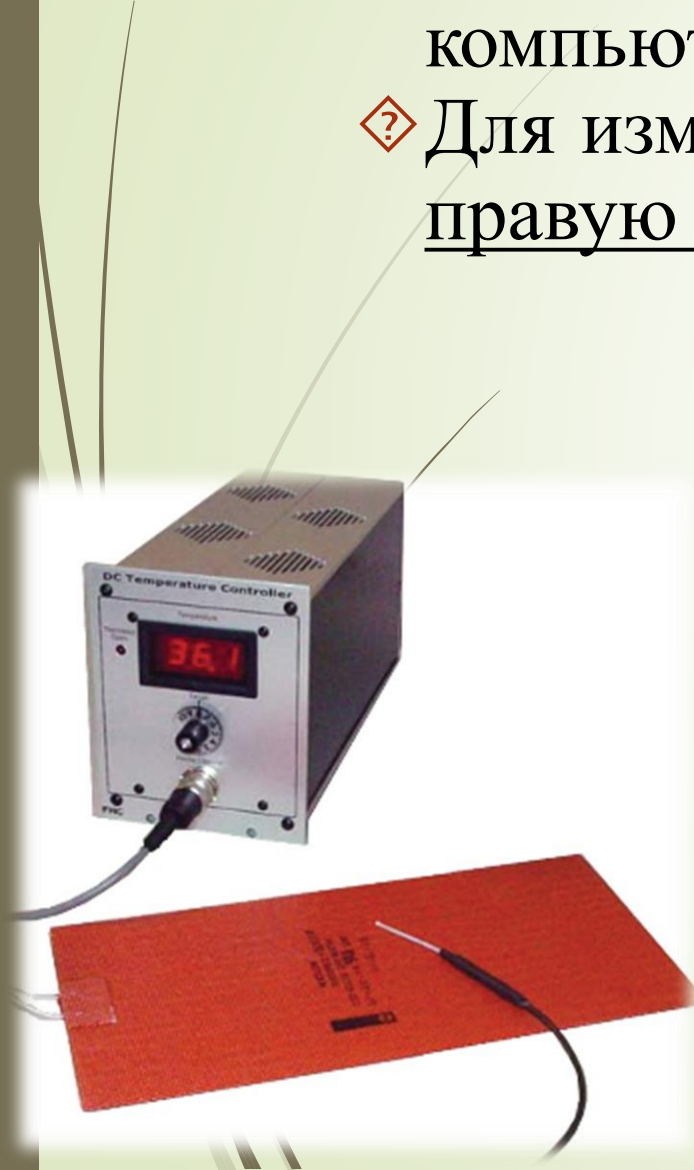
Крыс переводили на **искусственное дыхание** атмосферным воздухом через трахеостому при помощи аппарата ИВЛ фирмы Harvard (Великобритания).



- ❖ В ходе эксперимента непрерывно регистрировались ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД (полученные при этом данные обрабатывались с помощью компьютерной программы Spike 4 (Великобритания)).
- ❖ Для измерения АД прямым методом крысам канюлировали правую общую сонную артерию.

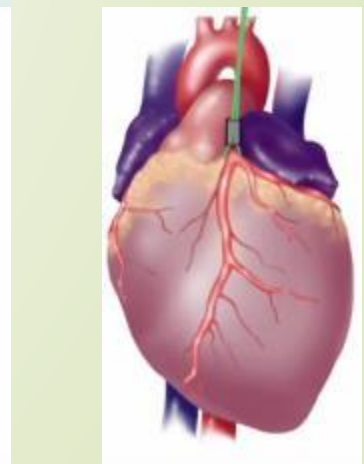
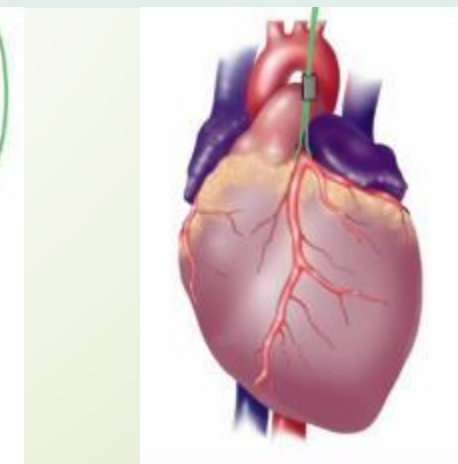
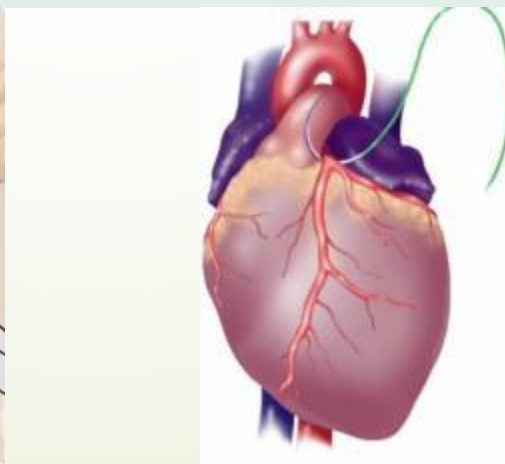
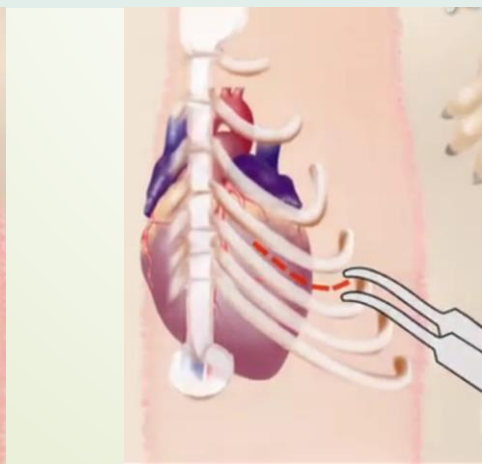
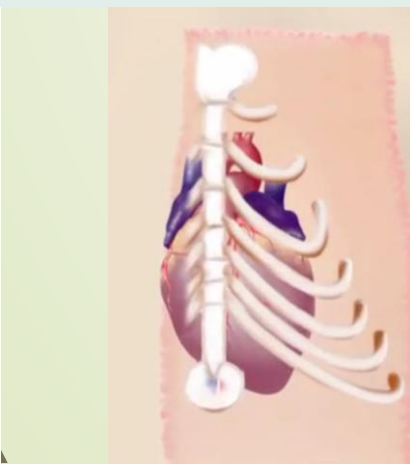
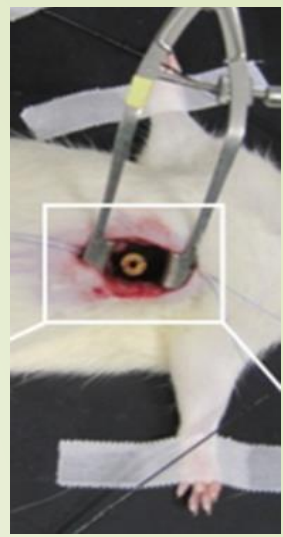


- ❖ Ректальная температура у крыс измерялась электротермометром Harvard (Великобритания) и поддерживалась электрогрелкой на уровне $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.



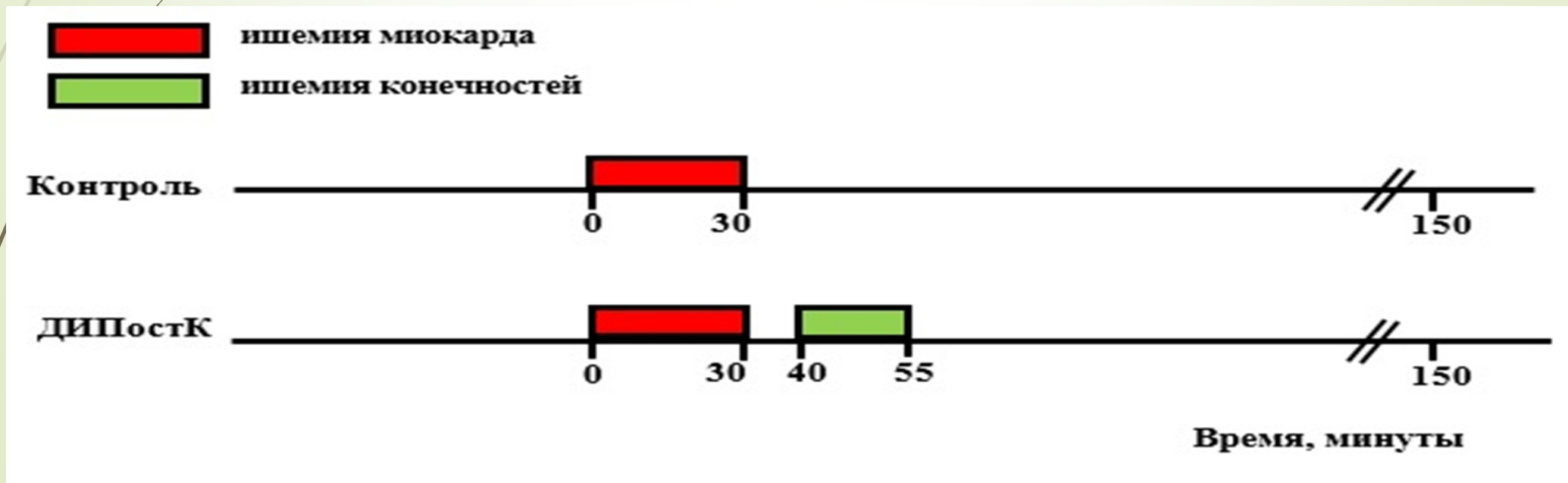
❖ Грудную клетку вскрывали в **IV** межреберном промежутке слева.

❖ После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам всех экспериментальных групп выполняли **30-минутную окклюзию левой коронарной артерии** путем механического ее пережатия при помощи лигатуры. Реперфузия миокарда достигалась удалением фишки. Длительность реперфузии составляла 120 минут.



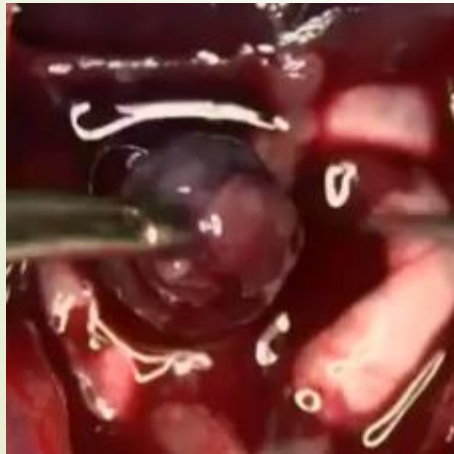


Животные групп ДИПостК дополнительно подвергались воздействию **15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий** через 10 минут после 30-минутной острой ишемии миокарда. (M. Basalay et al., 2012)

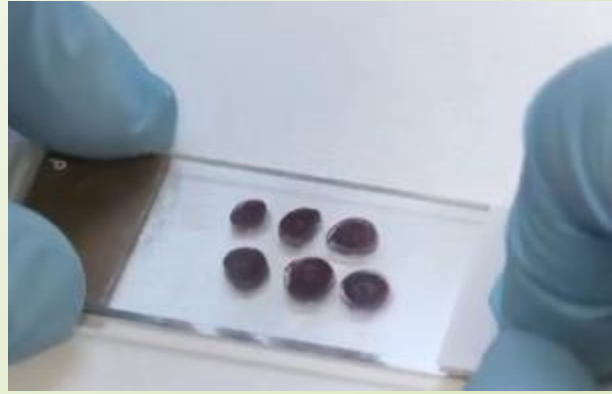
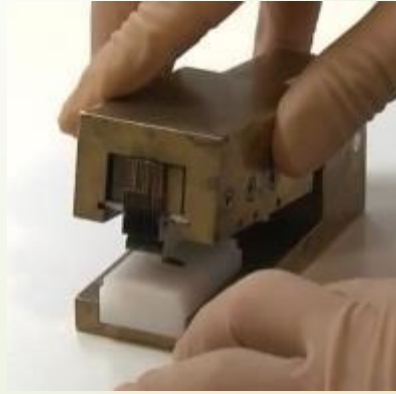


Для определения **зоны риска** проводили введение в левую общую яремную вену 0,5 мл 5% раствора Эванса синий (Sigma, США) в конце реперфузии при кратковременной повторной окклюзии ЛКА.

❖ После окончания введения Эванса синий **сердце извлекали из грудной клетки** и отделяли левый желудочек для дальнейшего исследования.

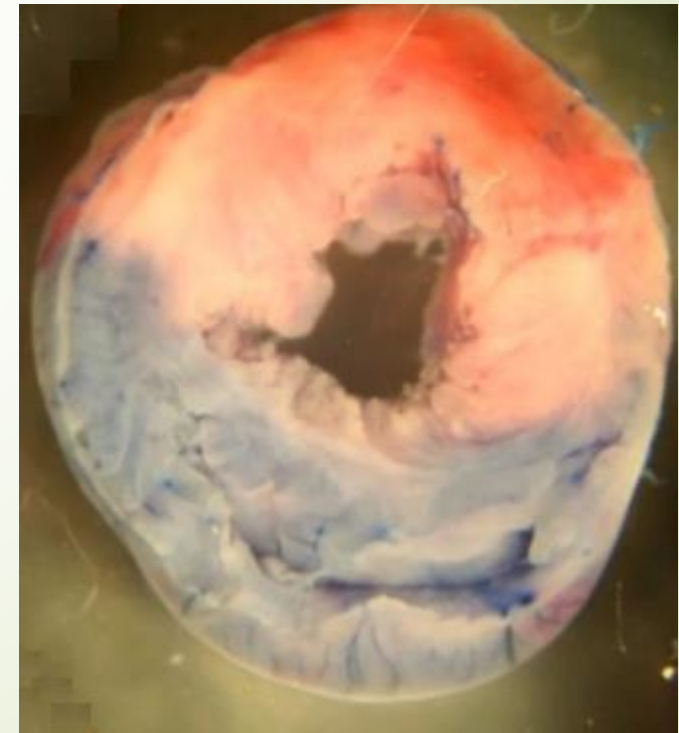
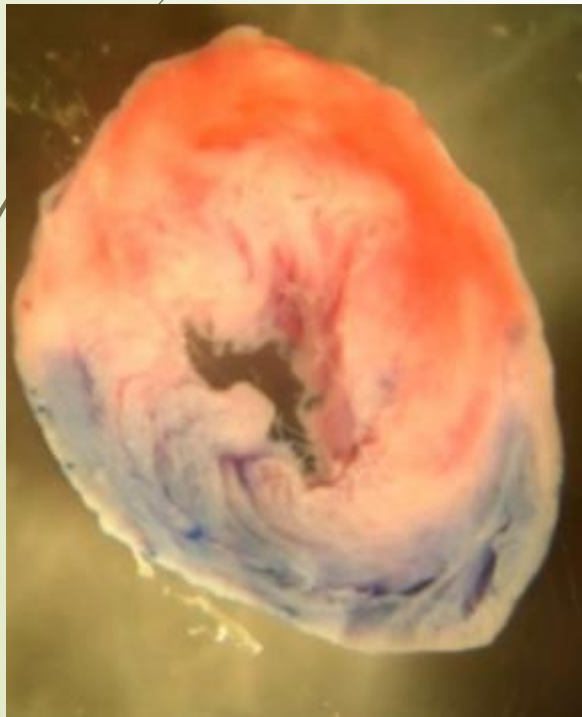


- ❖ После замораживания при $t = -25^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин **левый желудочек** разрезали на **6 поперечных срезов**.
- ❖ **Срезы** взвешивали на **электронных весах**, затем их **сканировали** при помощи сканера с обеих сторон.
- ❖ Для каждого среза **определяли отношение средней площади зоны риска к средней площади всего среза** с использованием программы Adobe Photoshop CC 2013.



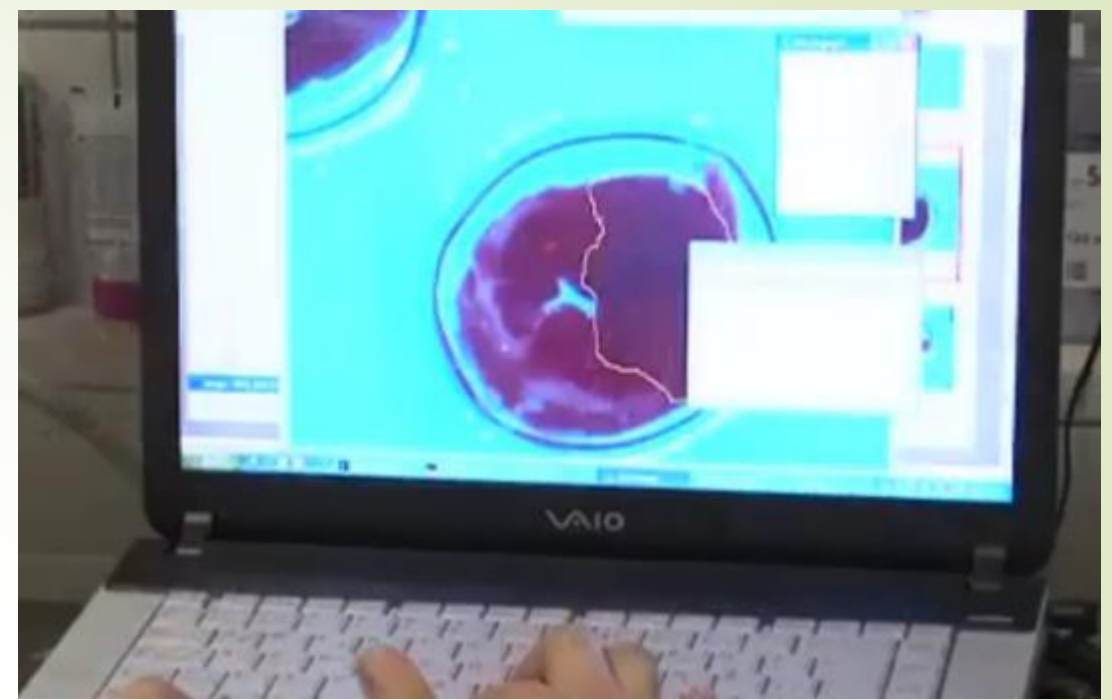
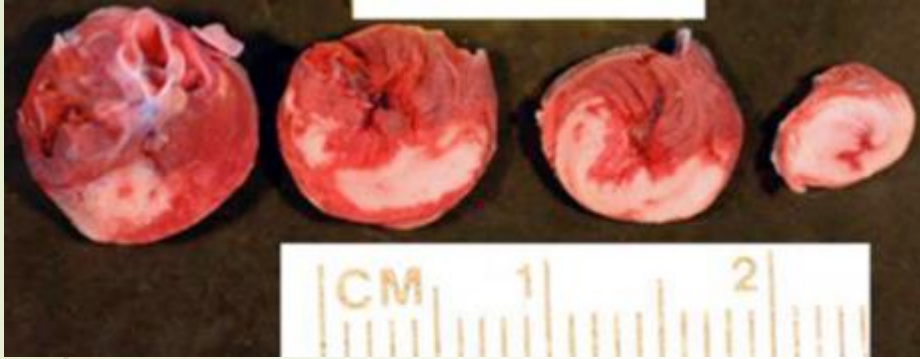


Зона риска определялась как зона не окрашенная в синий цвет.

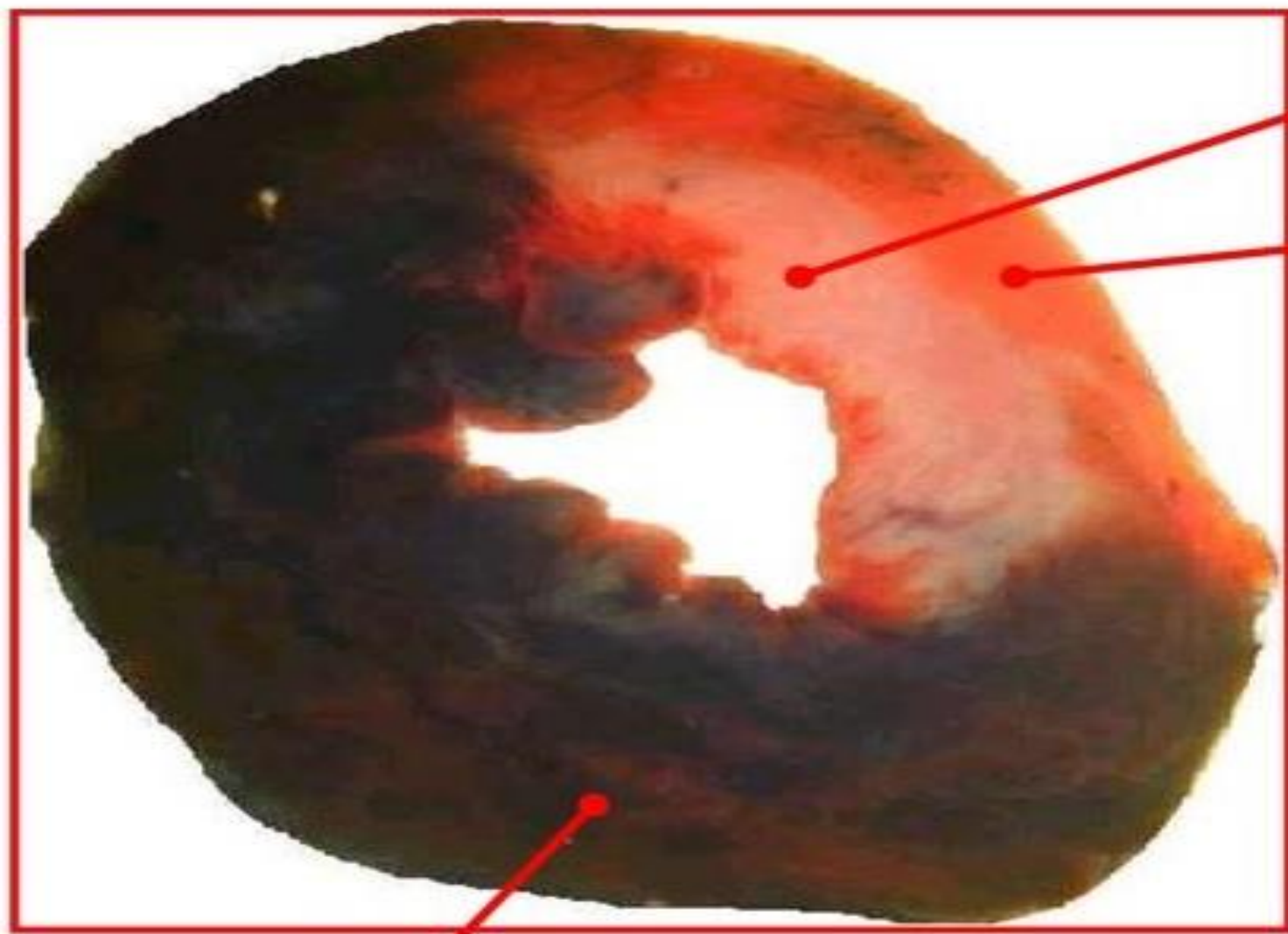


- ❖ Для идентификации **зоны некроза** срезы помещали в раствор трифенилтетразолия хлорида (1% в фосфатном буфере, рН 7,4) на 30 мин при $t=37^{\circ}\text{C}$.
- ❖ Затем фиксировали срезы в 10% р-ре формалина в течение 6 часов, после чего срезы сканировали повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза.





- ❖ Размеры зон риска и некроза определяли с использованием программы Adobe Photoshop CC 2013.
- ❖ Жизнеспособный миокард окрашивался в **кирпично-красный** цвет, некротизированная ткань была **белесой**.
- ❖ Полученные в исследовании результаты заносились в таблицу Microsoft Excel 2016 и обрабатывались с помощью программ Statistica 13.3 и GraphPad Prism.
- ❖ Уровень $p < 0,05$ рассматривался как статистически значимый.



**Зона
некроза**

**Жизнеспособная
ткань в пределах
зоны риска**

**Зона
нормальной
перфузии**

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выживаемость у старых крыс после острой коронарной окклюзии составила **55,5%** (16 старых крыс из 36 погибли во время острой коронарной окклюзии и периода реперфузии):

- ❖ в группе Контроль_{стар} – **72,7%** (3 из 11 крыс погибли);
- ❖ в группе ДИПостК_{стар} – **48,0%** (13 из 25 крыс погибли).

Выживаемость у молодых крыс после острой коронарной окклюзии составила **76,9%** (6 старых крыс из 26 погибли во время острой коронарной окклюзии и периода реперфузии):

- ❖ в группе Контроль_{молод} – **80,0%** (2 из 10 крыс погибли);
- ❖ в группе ДИПостК_{молод} – **75,0%** (4 из 16 крыс погибли).

Снижение выживаемости у старых крыс по сравнению с молодыми свидетельствует о снижении устойчивости миокарда старых животных к повреждению, вызванному его длительной ишемией, а также реперфузией.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОДИНАМИКИ НА ПРОТЯЖЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТА У СТАРЫХ И МОЛОДЫХ КРЫС

Группа		Контроль		ДИПостК	
Возраст крыс		Старые крысы, n=8	Молодые крысы, n=8	Старые крысы, n=12	Молодые крысы, n=12
До начала ОИМ	АД _{ср}	89 ± 6	88 ± 5	87 ± 7	85 ± 3
	ЧСС	442 ± 15	412 ± 7	436 ± 24	410 ± 16
Начало ОИМ	АД _{ср}	72 ± 4	76 ± 5	71 ± 5	74 ± 4
	ЧСС	415 ± 31	419 ± 6	425 ± 15	427 ± 12
Начало реперфузии	АД _{ср}	72 ± 6	73 ± 3	74 ± 5	72 ± 4
	ЧСС	410 ± 46	413 ± 17	415 ± 15	412 ± 21
30' реперфузии	АД _{ср}	75 ± 3	75 ± 6	73 ± 3	77 ± 4
	ЧСС	401 ± 40	416 ± 14	423 ± 17	401 ± 12
60' реперфузии	АД _{ср}	77 ± 4	76 ± 3	76 ± 6	78 ± 4
	ЧСС	404 ± 34	423 ± 16	434 ± 24	415 ± 21
90' реперфузии	АД _{ср}	78 ± 6	78 ± 2	80 ± 5	79 ± 5
	ЧСС	410 ± 31	431 ± 15	432 ± 19	399 ± 21
120' реперфузии	АД _{ср}	80 ± 5	83 ± 6	81 ± 4	84 ± 4
	ЧСС	421 ± 22	417 ± 18	437 ± 22	431 ± 26

статистически значимо не изменялись по сравнению с их исходными значениями.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

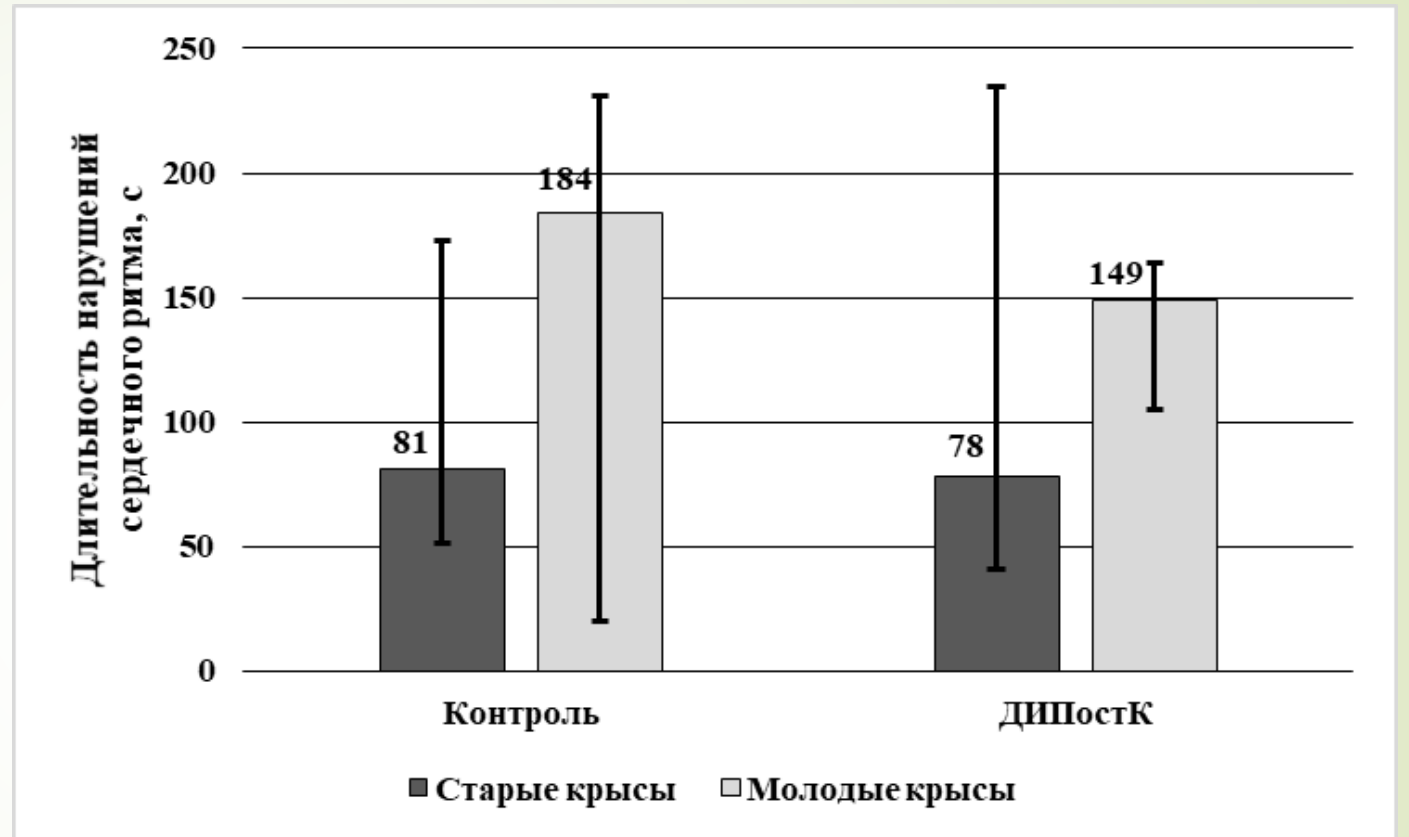
Продолжительность нарушений сердечного ритма в исследуемых группах:

Контроль_{молод} – 184 (20; 231) с

Контроль_{стар} – 81 (51; 173) с

ДИПостК_{молод} – 149 (105; 164) с

ДИПостК_{стар} – 78 (41; 235) с



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

Выявлено, что дистантное ишемическое посткондиционирование как у старых, так и у молодых крыс **не оказывает антиаритмический эффект**

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

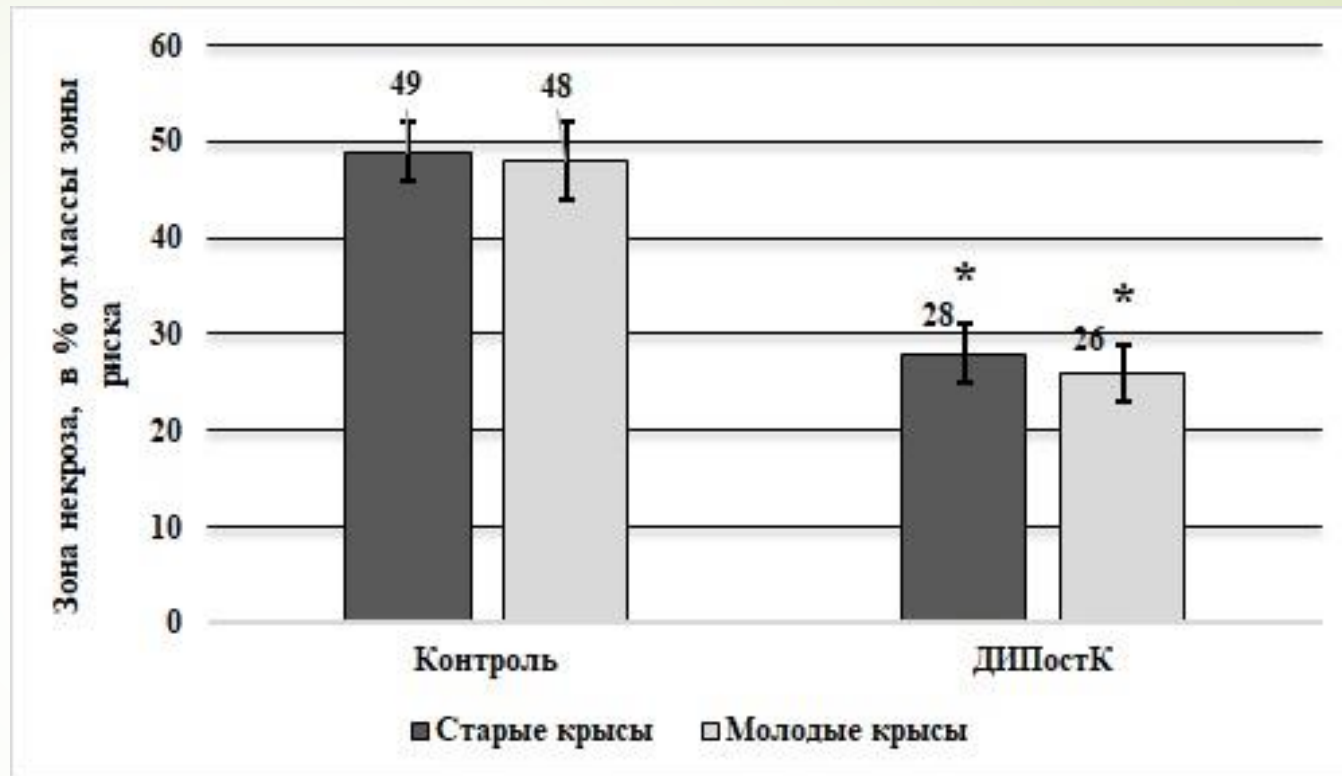
Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка в исследуемых группах:

Контроль_{молод} – 48 ± 4 %

Контроль_{стар} – 49 ± 3 %

ДИПостК_{молод} – 26 ± 3 ($p < 0,05$)

ДИПостК_{стар} – 28 ± 3 ($p < 0,05$)



Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка во время 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у старых и молодых крыс

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с Контроль

Установлено, что дистантное ишемическое посткондиционирование как у старых, так и у молодых крыс **оказывает инфаркт-лимитирующий эффект**

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлено, что дистантное ишемическое посткондиционирование **эффективно в плане ограничения размеров зоны некроза** в миокарде левого желудочка при ишемии и реперфузии миокарда **у старых крыс** и приводит к снижению ее размеров на **42,9%** ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой старых крыс), в то время как **у молодых крыс** на **45,8%** ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой молодых крыс)

Таким образом, старение не является препятствием для реализации противоишемического эффекта дистантного ишемического посткондиционирования.

ВЫВОДЫ

1. ДИПостК эффективно в плане ограничения **размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка** при ишемии-реперфузии миокарда как у старых, так и у молодых крыс.

2. ДИПостК не эффективно в плане снижения **продолжительности нарушений сердечного ритма** во время острой ишемии-реперфузии миокарда как у старых, так и у молодых крыс.



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!



Висмонт Франтишек Иванович

patfiz@bsmu.by

+375-29-6195006

Чепелев Сергей Николаевич

drserge1991@gmail.com

+375-25-7911710