

ИЗУЧЕНИЕ СПОСОБОВ КАРДИОПРОТЕКЦИИ НА ИЗОЛИРОВАННОМ ПО ЛАНГЕНДОРФУ СЕРДЦЕ КРЫС

А.Н. КАПЛИН¹

О.Н. КУЗМИЦКАЯ¹

А.А. ШАПОШНИКОВ²

А.П. ГРИГОРЕНКО²

¹⁾ Курский государственный
медицинский университет

²⁾ Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

e-mail: drkaplin@rambler.ru

На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания занимают ведущее место в структуре смертности и инвалидизации. Современные методы фармакологической коррекции не всегда являются эффективными способами борьбы с поражением миокарда. В данной экспериментальной работе впервые было изучено влияние субэритропоэтических доз рекомбинантного эритропоэтина на площадь повреждения миокарда. Применение фармакологического прекондиционирования эритропоэтином позволило добиться снижения площади повреждения более чем в 4 раза.

Ключевые слова: постреанимационный синдром, реперфузионное повреждение, фармакологическое прекондиционирование, эритропоэтин.

Введение. На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания занимают ведущее место в структуре смертности и инвалидизации среди трудоспособного населения. Современные методы фармакологической коррекции не всегда являются эффективными способами борьбы с ишемическим и реперфузионным поражением миокарда. Поэтому проводятся поиски и исследования эндогенных механизмов кардиопротекции и фармакологических препаратов, способных к их активации.

Обнаружено, что устойчивость тканей к длительной ишемии может повышаться в результате ишемического прекондиционирования (ИП), вызванного короткими эпизодами ишемии – реперфузии до её наступления [7]. Было отмечено, что применение еще более коротких эпизодов ишемии – реперфузии после восстановления кровотока (ишемическое посткондиционирование) также обладает кардиопротективными свойствами [11]. Естественным механизмом реализации данных феноменов являются нейрогенный, гуморальный и внутриклеточный компоненты, связанные с проницаемостью митохондрий [2, 3, 6]. Последнее указывает на возможность применения фармакологических препаратов, способных воздействовать на данные «эндогенные мишени» для запуска и реализации феноменов ишемического прекондиционирования и посткондиционирования.

С точки зрения практического применения интересным является феномен фармакологического прекондиционирования, суть которого состоит в том, что введение фармакологического препарата в определенной дозе вызывает каскад эндогенных кардиопротективных механизмов [1].

Одним из фармакологических агентов цитопротекции является эритропоэтин (ЕРО). Хотя его традиционно рассматривают как гемопоэтический гормон, обнаружение рецепторов эритропоэтина за пределами кроветворной ткани (эндотелиальные клетки, нейроны, клетки трофобласта, кардиомиоциты) побудило к поиску негемопоэтических эффектов [4]. Экспериментальные исследования показали высокую эффективность кардиопротекции экзогенного введения ЕРО [5, 8].

Материалы и методы. Опыты проводили на белых крысах линии Wistar массой 250±50г. в возрасте 3-4 месяца, содержащихся при 12-часовом световом дне на стандартном рационе с брикетированным кормом, при свободном доступе к воде и пище.

Экспериментальные животные были разделены на следующие группы:

1 – контрольная (n=10);

2 – с применением ишемического прекондиционирования (n=10);

3 – с применением ишемического посткондиционирования (n=10);

4 – с применением фармакологического прекондиционирования (n=10);

У крыс, находящихся под эфирным наркозом, вскрывали грудную клетку, извлекали сердце. Сердце после извлечения погружалось в ледяной гепаринизированный раствор Кребса-Хензелейта (КХ). В отверстие аорты вставляли канюлю и начинали пропускать через нее нагретый до 37-39 °С, аэрированный раствор КХ. Данный раствор по физико-химическим характеристикам близок к составу крови. Ток перфузируемой жидкости захлопывает полулунные клапаны, и питающий раствор устремляется по коронарным сосудам. Сердца стабилизировались в течение 20 минут до достижения систолического давления не менее 70 мм рт. ст. Первая



опытная группа включала животных, которых подвергли ишемии путем прекращения поступления питающего раствора на 40 минут. Во вторую группу входили животные, которым моделировали ишемическое прекондиционирование, состоящее из трех эпизодов, включающих 5 минут ишемии и последующей реперфузии в течение 5 минут. В конце третьего эпизода ишемии проводили тридцатиминутную реперфузию, после которой проводили тотальную ишемию в течение 40 минут. В третью опытную группу входили животные, которым по истечении 40 минутной тотальной ишемии моделировали ишемическое посткондиционирование, состоящее из трех эпизодов, включающих 5 секунд ишемии и 5 секунд последующей реперфузии. В конце третьего эпизода ишемии проводили тридцатиминутную реперфузию. В четвертую группу входили животные, которым после стабилизации производили перфузию сердца в течение 5 минут раствором Кребса-Хензелейта с добавлением в него 0,45 мл препарата «ЭПОКРИН» в дозе 1000МЕ, что соответствует 450МЕ препарата в 1 литре перфузата. Далее следовала 30-минутная тотальная ишемия. После проведенных экспериментов во всех группах наблюдали за сокращением изолированного сердца в течение 2 часов.

По истечении данного времени готовили из каждого сердца макропрепараты в виде срезов толщиной 2 мм и помещали в раствор трифенил тетразолия хлорида (ТТХ) на 15 минут в термостат при температуре 37,5°C. Раствор ТТХ окрашивает живую ткань с сохраненной лактатдегидрогеназной активностью, а ишемизированную ткань с утраченной ферментной активностью не окрашивает. Окрашенные срезы фотографировали, затем обрабатывали с помощью программы Adobe Photoshop CS5. В программе проводился подсчет площади поврежденной ткани в отношении к общей площади ткани в процентах.

При статистической обработке данных рассчитывали среднее значение, величину стандартного отклонения. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Результаты оценки отношения поврежденной ткани к общей её площади представлены в таблице.

Таблица

Показатели влияния ишемического прекондиционирования, ишемического посткондиционирования и фармакологического прекондиционирования препаратом «ЭПОКРИН» на площадь повреждения миокарда ($M \pm m$) ($n = 10$)

№	Группа	Площадь повреждения в пикселях/1000000	Площадь повреждения в %
1	Ишемия	0,161626±0,014028	55,17%
2	Преко́ндиционирование	0,104954±0,040851	27,62%
3	Постко́ндиционирование	0,030598±0,007921	9,28%
4	Преко́ндиционирование+ЕРО	0,043804±0,009329	13,42%

После проведения морфометрических исследований у животных первой группы площадь поврежденной ткани составила 0,161626±0,014028 пикселей/1000000, что составляет 55,17% от общей площади исследуемой ткани.

Во второй группе на фоне моделирования феномена ишемического преко́ндиционирования показатель поврежденной ткани – 0,104954±0,040851 пикселей/1000000, т.е. 27,62% – что достоверно ниже показателя в первой группе.

В третьей группе показатели эффективности ишемического постко́ндиционирования составили – 0,030598±0,007921 пикселей/1000000 (9,28%). Результат значительно ниже, чем в группе ишемии.

В четвертой группе на фоне фармакологического преко́ндиционирования препаратом «ЭПОКРИН» результат достоверно близок к результату третьей группы – 0,043804±0,009329 пикселей/1000000 (13,42%), что свидетельствует об активировании эндогенных механизмов кардиопротекции.

Заключение. В данной экспериментальной работе впервые было изучено влияние субэритропоэтических доз рекомбинантного эритропоэтина на площадь повреждения миокарда в модели изолированного по Лангендорфу сердце крысы. Известно, что при моделировании ишемического повреждения на изолированном сердце патологическому воздействию подвергается более половины ткани сердца. Применение фармакологического преко́ндиционирования позволило добиться снижения площади повреждения более чем в 4 раза. Главенствующая роль в механизмах повреждающего действия отводится дисфункции кардиомиоцитов [9]. Механизмы действия преко́ндиционирования эритропоэтином сопряжены с активацией цитопротекторных сигнальных путей в миокарде (RISK-киназы), что в конечном итоге приводит к увеличению мощности систем транспорта и утилизации кислорода,

систем антиоксидантной защиты, уменьшению дисфункции кардиомиоцитов. Подтверждением этого является доказанное кардиопротективное действие эритропоэтина [10].

Литература

1. Bolli, R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research / R. Bolli // *J Mol Cell Cardiol.* – 2001. – Vol. 33. – P. 1897-1918.
2. Dave, K.R. Ischemic preconditioning targets the respiration of synaptic mitochondria via protein kinase C epsilon / K.R. Dave // *Nat Rev Neurosci.* – 2008. – Vol. 28. – P. 72-82.
3. Gidday, J.M. Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance / J.M. Gidday // *Nat Rev Neurosci.* – 2006. – Vol. 7. – P. 437-448.
4. Henry, D.H. Epoetin alfa: Clinical evolution of a pleiotropic cytokine / D.H. Henry // *Arch Intern Med.* – 2004. – Vol. 164. – P. 262-276.
5. Lipsic, E. Timing of erythropoietin treatment for cardioprotection in ischemia/reperfusion / E. Lipsic // *J Cardiovasc Pharmacol.* – 2004. – Vol. 44. – P. 473-479.
6. Miyawaki, T. Ischemic preconditioning blocks BAD translocation, Bcl-xL cleavage, and large channel activity in mitochondria of postischemic hippocampal neurons / T. Miyawaki // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2008. – Vol. 105. – P. 92-97.
7. Murry, C.E. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / C.E. Murry. – 1986. – Vol. 74. – P. 1124-1136.
8. Parsa, C.J. A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart / C.J. Parsa // *J Clin Invest.* – 2003. – Vol. 112. – P. 999-1007.
9. Rodriguez, M. Apoptosis in myocardial infarction / M. Rodriguez // *Ann Med.* – 2002. – Vol. 34. – P. 470-479.
10. Tramontano, A.F. Erythropoietin protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway / A.F. Tramontano // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2003. – Vol. 308. – P. 990-994.
11. Zhao, Z-Q. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning / Z-Q. Zhao // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2003. – Vol. 285. – P. 579-588.

STUDYING THE WAYS OF CARDIOPROTECTION IN AN ISOLATED RAT HEART BY LANGENDORFF

A.N. KAPLIN¹
O.N. KUZMITSKAYA¹
A.A. SHAPOSHNIKOV²
A.P. GRIGORENKO²

¹⁾ *Kursk State Medical University*

²⁾ *Belgorod National Research University*

e-mail: drkaplin@rambler.ru

At present, cardiovascular diseases take the leading place in the structure of mortality and disability. Modern methods of pharmacological correction are not always effective in ways to combat myocardial damage. This experimental work was the first to study the effect of subhematopoietic doses of recombinant erythropoietin to the area of myocardial damage. The use of pharmacological preconditioning with erythropoietin led to reducing the area of damage to more than 4 times.

Keywords: postresuscitation syndrome, reperfusion injury, pharmacological preconditioning, erythropoietin.