

# ИЗУЧЕНИЕ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ И СТЕПЕНИ ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА НА МОДЕЛИ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА КРЫСЫ, ПОДВЕРГШЕГОСЯ ЧЕТЫРЕХЧАСОВОЙ КАРДИОПЛЕГИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ И РЕПЕРФУЗИИ В УСЛОВИЯХ ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ЛЕВОСИМЕНДАНОМ

Я. Г. Торопова<sup>1</sup>, Н. Ю. Осяев<sup>1</sup>, Т. Р. Долинчик<sup>2</sup>,  
Г. П. Плотников<sup>1</sup>, Д. Л. Шукевич<sup>1</sup>, А. С. Головкин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «НИИ Комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Сибирского отделения РАМН,  
г. Кемерово, Россия

<sup>2</sup> МБУЗ «Кемеровский кардиологический диспансер»,  
отделение клинической лабораторной диагностики,  
г. Кемерово, Россия

#### Контактная информация:

Торопова Яна Геннадьевна  
ФГБНУ «НИИ Комплексных проблем  
сердечно-сосудистых заболеваний»,  
Сосновый бульвар, д. 6, г. Кемерово,  
Россия, 650002.  
E-mail: yana.toropova@mail.ru

Статья поступила в редакцию 21.10.14  
и принята к печати 18.11.14.

#### Резюме

Необходимость совершенствования методов защиты миокарда от ишемических и реперфузионных повреждений обусловлена широким внедрением в кардиологическую практику методов трансплантации сердца и увеличением числа оперативных вмешательств на сердце в условиях искусственного кровообращения. На модели изолированного сердца крысы, подвергнутого четырехчасовой фармакоолодовой кардиоплегии и реперфузии в условиях кардиопротекции левосименданом, изучались сократительная функция и степень повреждения миокарда. Установлено наличие кардиопротективного эффекта посткондиционирования левосименданом в отношении изолированного сердца в реперфузионном периоде четырехчасовой кардиоплегической ишемии. Данный эффект проявлялся в снижении реперфузионного выброса ферментов — маркеров повреждения миокарда и полном восстановлении параметров сократительной активности изолированных сердец в реперфузионном периоде.

**Ключевые слова:** изолированное сердце, фармакоолодовая кардиоплегия, реперфузия, левосимендан, фармакологическое посткондиционирование.

Для цитирования: Я. Г. Торопова, Н. Ю. Осяев, Т. Р. Долинчик<sup>2</sup>, Г. П. Плотников, Д. Л. Шукевич, А. С. Головкин. Изучение сократительной функции и степени повреждения миокарда на модели изолированного сердца крысы, подвергнутого четырехчасовой кардиоплегической ишемии и реперфузии в условиях посткондиционирования левосименданом. Трансляционная медицина 2015; 2–3(31–32):76–83.

# A STUDY OF MYOCARDIAL CONTRACTILE FUNCTION AND INJURY DEGREE ON A MODEL OF ISOLATED RAT HEART SUBJECTED TO FOUR-HOUR CARDIOPLEGIC ISCHEMIA AND REPERFUSION UNDER CONDITIONS OF POSTCONDITIONING BY LEVOSIMENDAN

Y. G. Toropova<sup>1</sup>, N. Y. Osyayev<sup>1</sup>, T. R. Dolinchik<sup>2</sup>,  
G. P. Plotnikov<sup>1</sup>, D. L. Shukevich<sup>1</sup>, A. S. Golovkin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Science Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Kemerovo, Russia

<sup>2</sup> Municipal State Budgetary Institution Kemerovo Cardiology Dispensary, clinical laboratory diagnostics department, Kemerovo, Russia

## Corresponding author:

Yana G. Toropova,  
Research Sciences Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, 6, Sosnoviy blvd, 650002, Kemerovo, Russia.  
E-mail: yana.toropova@mail.ru

Received 21 October 2015;  
accepted 18 November 2015

## Abstract

A widespread introduction of cardiac transplantation methods into cardiological practice and increase in a number of cardiopulmonary bypass surgical interferences determine the necessity of improvement of myocardial protection methods from ischemic and reperfusion injuries. Myocardial contractile function and injury degree were studied on a model of isolated rat heart subjected to four-hour pharmaco-hypothermic cardioplegia and reperfusion under conditions of cardioprotection by levosimendan. The presence of cardioprotective effect of postconditioning by levosimendan in regard to an isolated heart in reperfusion period of four-hour cardioplegic ischemia was found out. The given effect was manifested in reducing of reperfusion ejection of myocardial injury enzymatic markers and a complete restoration of contractive activity parameters of isolated hearts in reperfusion period.

**Key words:** isolated heart, pharmaco-hypothermic cardioplegia, reperfusion, levosimendan, pharmacological postconditioning.

*For citation:* Y. G. Toropova, N. Y. Osyayev, T. R. Dolinchik, G. P. Plotnikov, D. L. Shukevich, A. S. Golovkin. A study of myocardial contractile function and injury degree on a model of isolated rat heart subjected to four-hour cardioplegic ischemia and reperfusion under conditions of post-conditioning by levosimendan. *Translacionnaja medicina = Translational Medicine*. 2015;2-3(31-32):76-83.

## Введение

Необходимость совершенствования методов защиты миокарда от ишемических и реперфузионных повреждений обусловлена широким внедрением в кардиологическую практику методов трансплантации сердца и увеличением числа оперативных вмешательств на сердце в условиях искусственного кровообращения. Важнейшим функциональным последствием негативного воздействия ишемии

и реперфузии, сопровождающих оперативные вмешательства, является нарушение функциональных свойств сердечной мышцы (сократительная дисфункция, стэннинг миокарда).

Результаты многочисленных экспериментальных исследований указывают на перспективность терапевтических подходов к защите миокарда от негативного воздействия ишемии и реперфузии, осуществляемых после наступления ишемии мио-

карда (посткондиционирование миокарда) [1–3]. Однако явное несоответствие между результатами экспериментальных работ и доказательной базой в реальной клинической практике диктует необходимость в изучении фундаментальных механизмов кардиопротекции.

В ряде экспериментальных исследований (*in vivo* и *in vitro*) были продемонстрированы положительные эффекты кардиопротекции левосименданом в отношении ишемизированного и реперфузируемого миокарда. Так, в многочисленных экспериментах был показан его позитивный инотропный эффект [4–6], а также была показана способность левосимендана уменьшать размер зоны инфаркта [7], увеличивать коронарный кровоток [8], уменьшать выраженность повреждающего действия окислительного стресса, сопряженного с ишемией и реперфузией, на клетки миокарда [9].

Однако преобладающее большинство работ, посвященных изучению кардиопротективного влияния этого препарата, представлено на модели тотальной нормотермической или регионарной ишемии миокарда продолжительностью не более одного часа. Между тем с внедрением методов трансплантации сердца в клинической практике всё чаще встречается более пролонгированная кардиоплегическая ишемия [10], а экспериментальные исследования об эффективности посткондиционирования левосименданом при продолжительной фармакохолодовой кардиоплегической ишемии весьма немногочисленны.

Вышесказанное определяет необходимость проведения экспериментальных исследований эффективности применения посткондиционирования левосименданом в отношении ишемических и реперфузионных повреждений миокарда после продолжительной глобальной кардиоплегической ишемии. Удобной моделью для этих целей является модель изолированного сердца, позволяющая воспроизводить методику исполнения фармакохолодовой кардиopleгии, аналогичной таковой в клинических условиях.

**Цель исследования** — изучить сократительную функцию и степень повреждения миокарда на модели изолированного сердца крысы, подвергнувшегося кардиоплегической ишемии и реперфузии в условиях посткондиционирования левосименданом.

#### Материал и методы

**Протокол перфузии изолированного сердца.** Исследование проводили на изолированных сердцах крыс Wistar с массой тела  $350 \pm 20$  г со строгим соблюдением требований Европейской конвенции

(Страсбург, 1986) по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными, а также выводу их из эксперимента и последующей утилизации. Для исключения влияния сезонных колебаний на устойчивость сердца к повреждающему действию ишемии-реперфузии исследование проводилось в осенне-зимний период.

Сердца извлекали у животных под этиминаловым наркозом (45 мг/кг), выделяли аорту и отделяли соединительную ткань. Затем аорту канюлировали и производили ретроградную перфузию сердца методом Langendorff [11, 12] в течение 20 мин раствором Кребса-Хензеляйта следующего состава (мМ): NaCl — 118,0; KCl — 4,7; MgSO<sub>4</sub> — 1,2; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1,2; CaCl<sub>2</sub> — 2,0; глюкоза — 5,5; NaHCO<sub>3</sub> — 25,0, при 37 °С и при давлении 80 см водного столба. Для оксигенации перфузионного раствора и доведения его pH до уровня 7,4 производили насыщение буферного раствора карбогеном (5% CO<sub>2</sub> и 95% O<sub>2</sub>).

Затем вводили охлажденный (4 °С) кардиоплегический раствор (Кустодиол) с помощью инфузионного насоса (OT-701, Japan) с постоянной скоростью подачи (100 мл/час, 20 капель/мл), перфузируя через коронарные артерии в течение 8 минут. На следующем этапе эксперимента моделировали кардиоплегическую ишемию: сердца помещали в ванночку с охлажденным (4 °С) с кардиоплегическим раствором (Кустодиол, 20 мл) на 240 минут. Температурный режим был выбран согласно имеющимся стандартам, по которым кристаллоидные кардиоплегические растворы используются только в холодном режиме в сочетании с наружным охлаждением сердца (при этом целевая температура сердца не должна превышать +11 °С).

После ишемии возобновляли перфузию оксигенированным раствором Кребса-Хензеляйта методом Langendorff. Реперфузионный период составлял 30 минут.

**Протокол фармакологического посткондиционирования.** В ходе настоящего исследования оценивали влияние на ишемизированный миокард кардиотонического средства левосимендан (*levosimendan*). Исходный раствор препарата доводили до концентрации 0,1 мкмоль/л методом разведения раствором Кребса-Хензеляйта (аналога по ионному составу плазме крови). Концентрации препарата, достаточные для оказания протективного эффекта в отношении ишемизированного и реперфузируемого изолированного сердца, были подобраны эмпирическим путем с учетом данных, представленных в литературных источниках [6, 13, 14].

Левосимендан вводили интракоронарно, инфузионно, в течение первых 8 минут реперфузионного

периода (группа «левосимендан»). В качестве контрольной выступила группа «кустодиол», в которой сердца перфузировались согласно вышеописанному протоколу без дополнительного фармакологического воздействия.

**Оценка сократительной функции изолированных сердец.** Параметры сократительной активности изолированных сердец регистрировали в изоволюмическом режиме с помощью введенного в полость левого желудочка латексного баллончика, соединенного с датчиком давления, встроенного в аппарат для физиологических исследований MP36 компании «Biorac Systems, Inc» (California, USA). Баллончик заполняли дистиллированной водой, объем которой был достаточным для создания конечно-диастолического давления в левом желудочке на уровне 10 мм Hg. Оценку сердечной деятельности проводили регистрацией кривой внутрижелудочкового давления. Дальнейший расчет параметров сократимости изолированного сердца осуществляли с помощью оригинальной прикладной программы BSL PRO 3.7.3 компании «Biorac Systems, Inc» (California, США).

Мониторирование физиологических показателей изолированных сердец осуществляли на всем этапе реперфузионного периода. Осуществляли мониторинг частоты сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин), давления, развиваемого левым желудочком (ДРЛЖ, мм Hg) (вычисляли как разницу между систолическим и диастолическим давлением), конечно-диастолического давления (КДД, мм Hg) и систолического давления (СД, мм Hg).

**Оценка коронарного кровотока изолированных сердец.** Критерием оценки коронарного кро-

вотока изолированных сердец являлся коронарный проток (КП) — количество перфузата, протекающего через коронарные сосуды за 1 минуту, мл/мин. Регистрацию коронарного протока проводили на 10-й минуте перфузии раствором Кребса-Хензеляйта (до ишемии, исходные показатели) и на 10-й и 30-й минутах реперфузионного периода.

**Оценка степени повреждения миокарда.** Степень повреждения миокарда оценивали по уровню маркеров миокардиального некроза (ЛДГ и КФК-МВ) с параллельным изучением гистологической структуры миокарда.

**Оценка уровня маркеров повреждения миокарда.** Определяли уровень следующих органоселективных маркеров повреждения миокарда в перфузате, оттекающем от изолированных сердец, на 10-й и 30-й минутах реперфузии: изофермента креатинфосфокиназы, характерного для ткани сердечной мышцы (КФК-МВ), и лактатдегидрогеназы (ЛДГ).

Активность миокардиальных маркеров КФК-МВ и ЛДГ оценивали методом ферментативной кинетики и выражали в международных единицах в литре (МЕ/л). Определение активности проводили на автоматическом биохимическом анализаторе «SAPPHIRE-400» (Россия) с использованием реактивов фирмы «Диакон-ДС», Россия (для ЛДГ) и «DiaSys Diagnostic Systems GmbH», Германия (для КФК-МВ).

**Оценка гистологической картины миокарда.** Оценка гистологической картины миокарда исследуемых групп осуществлялась на световом микроскопе «AXIO Imager.A1» (CarlZeiss, Германия) с предварительным окрашиванием образцов

Таблица 1

**ЧАСТОТА СЕРДЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЙ, КОНЕЧНО-ДИАСТОЛИЧЕСКОЕ ДАВЛЕНИЕ И КОРОНАРНЫЙ ПРОТОК В РЕПЕРФУЗИОННОМ ПЕРИОДЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ СЕРДЕЦ ГРУПП «КУСТОДИОЛ» И «ЛСМД»**

Показатели		Группы (Ме (25–75 %))	
		«кустодиол» (n = 6)	«лсмд» (n = 6)
Частота сердечных сокращений, ЧСС, уд/мин	Исх.	204,0 (145,0–212,0)	
	РП 15	103,0 (101,0–226,0)	151,0 (127,0–184,0)
	РП 30	101,0 (96,0–246,0)	107,0 (103,0–150,0)
Конечно-диастолическое давление в ЛЖ КДД, мм Hg	Исх.	5,1 (3,9–7,2)	
	РП 15	9,5 (3,0–19,3)	4,4 (4,1–8,0)
	РП 30	7,0 (5,9–14,6)	13,0 (9,5–15,2)
Коронарный проток, КП, (мл/мин)	Исх.	9,0 (8,0–10,0)	
	РП 10	12,5 (12,0–13,0)*	12,0 (11,0–12,5)*
	РП 30	10,5 (9,0–13,0)*	9,0 (9,0–9,5)

**Примечание:** Исх. — исходные показатели; РП 15, РП 30 — минуты реперфузионного периода; лсмд — левосимендан.

\* —  $p < 0,05$  по сравнению с исходным.

гематоксилин-эозином согласно общепринятой методике. Изготовление фотографий осуществляли с помощью программного обеспечения AXIO Vision. Изучение гистологических препаратов проводили при увеличении окуляров  $10\times$  и объективов  $10\times$ ,  $20\times$  и  $40\times$ .

#### Статистическая обработка результатов.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Рассчитывали медиану и квартили (Me (25%; 75 %)). Для проверки гипотезы о равенстве законов распределений использовали U-критерий Манна-Уитни. За критический уровень статистической значимости принимали  $p < 0,05$ . Графически результаты эксперимента представляли в виде графиков со значениями Me (25–75 %).

#### Результаты и обсуждение

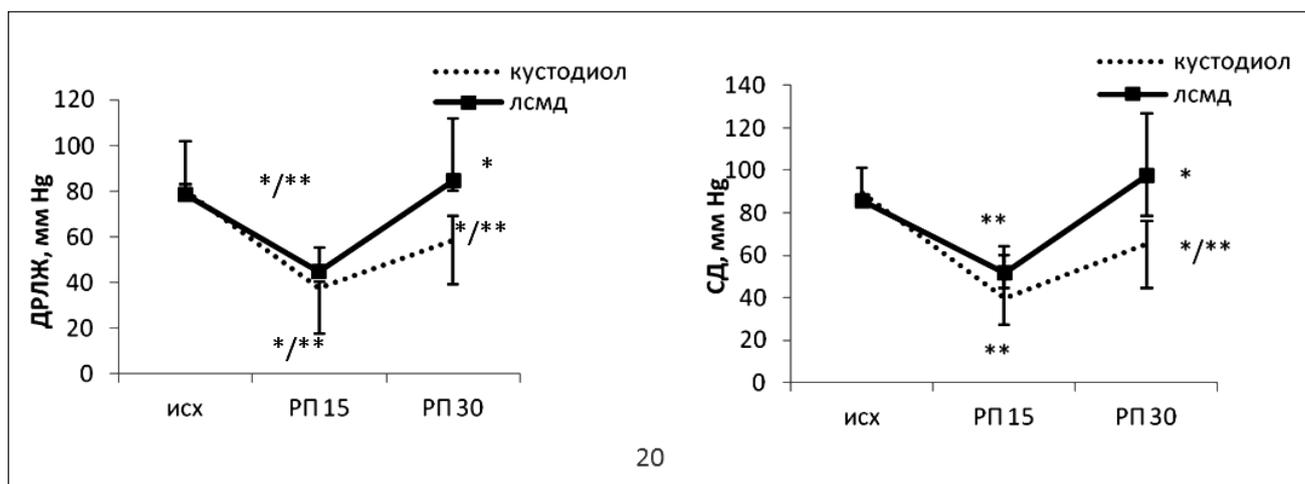
**Исследование сократительной функции и коронарного кровотока.** Исходные (доишемические) показатели сократительной активности и КП изолированных сердец во всех исследуемых группах статистически не различались ( $p > 0,05$ ) (Рис. 1, Табл. 1). На данном этапе исследования изолированные сердца групп «кустодиол» и «лсмд» демонстрировали следующие показатели сократительной активности: ДРЛЖ составляло 83,8 (80,3–85,0) мм Hg, СД — 85,9 (83,4–86,0) мм Hg, КДД — 5,1 (3,9–7,2) мм Hg, ЧСС — 204,0 (145,0–212,0) уд/мин (рис. 2, табл. 1). КП в данных группах в доишемическом периоде составил 9,0 (8,0–10,0) мл/мин. Таким образом, исходное функциональное состояние миокарда в исследуемых группах не отличалось от такового у интактных животных с соответствующими возрастными и массовыми показателями.

Динамика восстановления в реперфузионном периоде показателей сократительной активности изолированных сердец групп «лсмд» и «кустодиол» отражена в Табл. 1 и на Рис. 1.

На 15 минуте реперфузии сократительная способность левого желудочка изолированных сердец обеих групп оказалась сниженной относительно доишемического уровня, о чем свидетельствовали показатели ДРЛЖ. Однако на этом этапе реперфузии в группе «лсмд» данный показатель оказался достоверно выше ( $p < 0,05$ ) относительно значений в группе «кустодиол». ДРЛЖ в группе «лсмд» составило 44,8 (43,9–55,4) мм Hg, тогда как в группе «кустодиол» — 37,5 (17,7–40,5) мм Hg. Аналогичная тенденция наблюдалась и в отношении СД, которое на данном этапе реперфузии в обеих группах также не восстанавливалось до исходных значений ( $p < 0,05$ ). Тем не менее на 15-й минуте реперфузии уровень СД в группе «лсмд» оказался достоверно выше, чем в группе «кустодиол» ( $p < 0,05$ ) и составил 51,9 (44,5–59,8) мм Hg (в то время как в группе «кустодиол» — 40,0 (27,2–64,1) мм Hg) (Рис. 1). Необходимо отметить, что при возобновлении коронарной перфузии КП у сердец обеих групп оказался на достоверно более высоком уровне относительно исходных значений (Табл. 1).

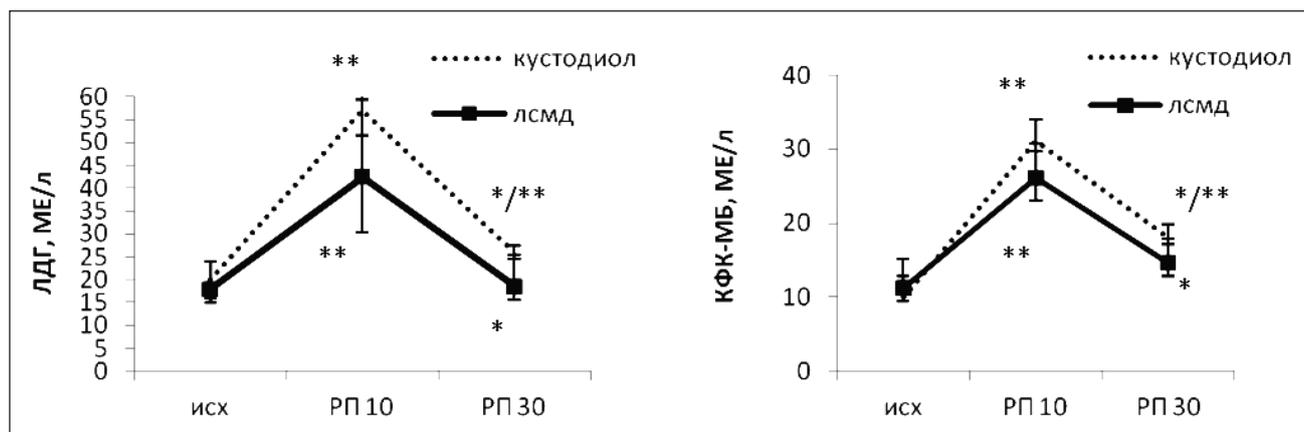
Таким образом, на 15-й минуте реперфузии в группах «кустодиол» и «лсмд» на фоне полного восстановления коронарного кровотока наблюдалось сохранение нарушений сократительной функции миокарда, что может являться свидетельством миокардиальной оглушенности — явление стэннинга миокарда (stunning) [15], в основе которого лежат нарушения клеточного гомеостаза кальция [16] и свободнорадикальное повреждение [17]. В данном

Рисунок 1. Динамика восстановления в период реперфузии давления, развиваемого левым желудочком и систолического давления сердец групп «кустодиол» и «лсмд»



**Примечание.** Исх. — доишемические значения; РП 15, РП 30 — минуты реперфузионного периода, лсмд — левосимендан.  
\* —  $p < 0,05$  между опытными группами, \*\* —  $p < 0,05$  относительно доишемических значений.

Рисунок 2. Уровень ферментов — маркеров повреждения миокарда в перфузате, оттекающем от изолированных сердец групп «лсмд» и «кустодиол» на различных этапах реперфузии



**Примечание:** Исх. — доишемические значения; РП 10, РП 30 — минуты реперфузионного периода, лсмд — левосимендан. \* —  $p < 0,05$  между опытными группами, \*\* —  $p < 0,05$  относительно доишемических значений.

случае вышеописанное снижение сократительной способности кардиомиоцитов в значительной степени обусловлено снижением чувствительности миофиламентов к кальцию.

К окончанию реперфузии (30-я минута) ДРЛЖ в группе «лсмд» восстанавливалось до исходного уровня и составило 84,8 (80,4–111,6) мм Нг, при этом данный показатель оказался достоверно выше аналогичного в группе «кустодиол» (58,5 (39,4–69,1) ммНг), ( $p < 0,05$ ) (рис. 1). СД у сердец группы «лсмд» к окончанию реперфузионного периода также полностью восстанавливалось до исходных значений и составило 97,8 (78,6–123,9) мм Нг. В то же время на данном этапе реперфузионного периода СД в группе «кустодиол» оставалось на достоверно более низком уровне как относительно доишемических значений ( $p < 0,05$ ), так и относительно группы «лсмд» ( $p < 0,05$ ), (рис. 1). КП в группах «кустодиол» и «лсмд» к окончанию реперфузионного периода составил 10,5 (9,0–13,0) мл/мин и 9,0 (9,0–9,5) мл/мин соответственно ( $p > 0,05$  между группами), что соответствовало доишемическому уровню.

Известно, что основным механизмом протективного действия левосимендана является его способность повышать чувствительность сократительных белков к кальцию без увеличения потребности в кислороде [18]. Можно предположить, что полное восстановление сократительной активности изолированных сердец после четырехчасовой кардиоплегической ишемии на фоне посткондиционирования левосименданом реализуется через данный механизм [19], что, в свою очередь, нивелирует явление станнинга. На фоне кардиопротекции кустодиолом на всем этапе реперфузионного периода сохраняющаяся миокардиальная дисфункция может свидетельствовать как об ишемическом и реперфу-

зионном повреждении кардиомиоцитов (некроз или апоптоз), так и о сохраняющейся сократительной дисфункции миокарда в отсутствие некротического повреждения (то есть состояния оглушения, или станнинга).

Показатель ЧСС у сердец исследуемых групп за весь период реперфузии значимо не изменялся относительно доишемических значений ( $p > 0,05$ ) и к окончанию реперфузии составил 101,0 (96,0–246,0) уд/мин (группа «кустодиол») и 107,0 (103,0–150,0) уд/мин (группа «лсмд»),  $p > 0,05$  между группами. КДД у сердец обеих групп на всем протяжении реперфузионного периода оставалось на уровне, близком к исходному ( $p > 0,05$ ) (Табл. 1), что свидетельствовало о сохранении способности сердечной мышцы к расслаблению.

Таким образом, динамическая оценка параметров сократительной активности сердец исследуемых групп позволила установить, что посткондиционирование левосименданом обеспечивает восстановление функциональных показателей сердечной мышцы в реперфузионном периоде кардиоплегической ишемии до исходных (доишемических) значений.

**Исследование степени повреждения миокарда.** На 10-й минуте реперфузии изолированных сердец групп «кустодиол» и «лсмд» уровень ЛДГ составил 57,0 (45,0–74,0) МЕ/л и 42,5 (37,0–48,0) МЕ/л соответственно (Рис. 2), при этом данный показатель в этих группах оказался достоверно выше доишемических значений ( $p < 0,05$ ). Аналогичная тенденция наблюдалась и в отношении КФК-МБ. Уровень КФК-МБ на 10-й минуте реперфузии в обеих группах также оказался достоверно выше исходных значений ( $p < 0,05$ ) и составил 31,2 (29,7–34,0) МЕ/л для группы «кустодиол» и 26,1 (23,0–30,8) МЕ/л для группы «лсмд». На данном

этапе реперфузионного периода, значения ЛДГ и КФК-МБ в группах «кустодиол» и «лсмд» статистически не различались ( $p > 0,05$ ).

В динамике реперфузионного периода в обеих исследуемых группах наблюдалась тенденция к снижению активности маркеров цитолиза клеток миокарда (Рис. 2), что может быть связано с постепенным вымыванием данных ферментов, накопленных за время кардиоплегической ишемии. На 30-й минуте реперфузии в группе «лсмд» уровень ферментов — маркеров повреждения миокарда снизился до доишемических значений и составил: для ЛДГ — 18,5 (17,0–20,0) МЕ/л и для КФК-МБ — 14,7 (12,8–16,0) МЕ/л. В группе «кустодиол» на данном этапе реперфузии уровни реперфузионного выброса ферментативных маркеров оказались достоверно выше как относительно исходных значений, так и относительно таковых в группе «лсмд» ( $p < 0,05$ ) и составили: ЛДГ — 26,0 (23,0–33,0) МЕ/л, КФК-МБ — 18,0 (17,2–19,1) МЕ/л. Сохраняющаяся на протяжении реперфузионного периода в группе «кустодиол» гиперферментемия косвенно свидетельствует об ишемическом и реоксигенационном повреждении кардиомиоцитов. В то же время снижение к окончанию периода реперфузии активности маркеров деструкции миокарда до доишемического уровня в группе «лсмд» может являться свидетельством снижения степени реперфузионного повреждения клеток миокарда за счет реализации вышеуказанных механизмов действия левосимендана.

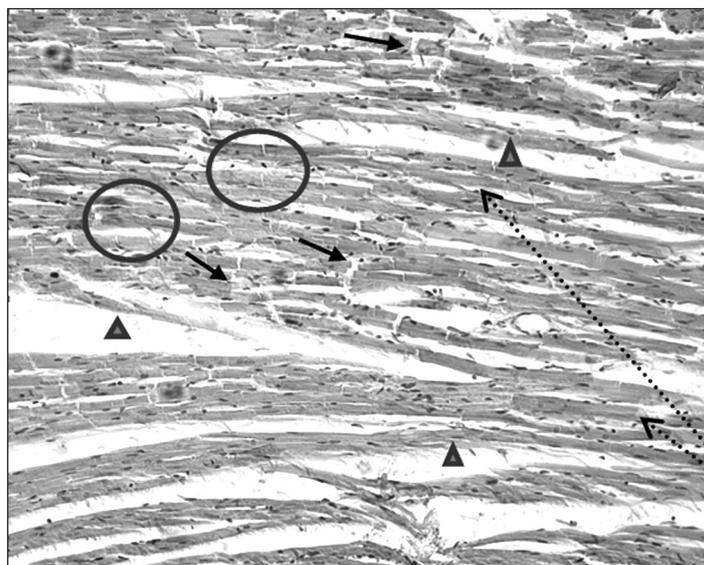
Несмотря на существенные различия в исследуемых группах по уровням реперфузионного выброса ферментов маркеров деструкции миокарда, гистологический анализ продемонстрировал однотипность морфологических изменений и их одинаковую выраженность в образцах исследуемых групп. В гистологических образцах групп «кустодиол» и «лсмд» отмечались следующие характерные признаки ишемического и реперфузионного повреждения миокарда: участки продольного разволокнения, поперечной фрагментации мышечных волокон, рыхлого расположения кардиомиоцитов и неравномерной окраски их цитоплазмы. Ядра кардиомиоцитов были овальной формы, часть из них были набухшими, неравномерно окрашенными (Рис. 3). Нарушений целостности эндотелия в образцах всех исследуемых групп не наблюдалось.

Таким образом, посткондиционирование левосименданом обеспечивало снижение степени ишемического и реперфузионного повреждения миокарда, о чем свидетельствовали уровни активности биомаркеров миокардиального некроза.

### Заключение

В реперфузионном периоде кардиоплегической ишемии изолированные сердца на фоне посткондиционирования левосименданом демонстрировали полное восстановление параметров сократительной активности. Вероятно, в основе снижения миокардиальной дисфункции изолированных сердец, подвергшихся кардиоплегической ишемии

Рисунок 3. Характерная гистологическая картина миокарда исследуемых групп. Поперечный срез. Окраска — гематоксилин-эозин. Увеличение  $\times 200$



**Примечание:** Поперечная фрагментация (отмечена значком  $\rightarrow$ ). Участки неравномерной окраски цитоплазмы (выделены  $\circ$ ). Участки продольного разволокнения (отмечены значком  $\blacktriangleright$ ). Участки с рыхлым расположением кардиомиоцитов

и реперфузии в условиях посткондиционирования левосименданом, лежит уменьшение степени реперфузионного повреждения кардиомиоцитов за счет активации левосименданом АТФ-зависимых калиевых каналов.

#### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

#### Список литературы / References

1. Писаренко ОИ, Шульженко ВС, Студнева ИМ. Улучшение восстановления функции изолированного сердца модифицированным реперфузионным раствором. Кардиология. 2005;45(7):38–43.
2. Шляхто ЕВ, Галагудза ММ, Сыренский АВ. и др. Ишемическое посткондиционирование миокарда: новый способ защиты сердца от реперфузионного повреждения. Терапевтический архив. 2005;77(5):77–80.
3. Cohen MV, Yang XM, Downey JM. The pH hypothesis of postconditioning: staccato reperfusion reintroduces oxygen and perpetuates myocardial acidosis. *Circulation*. 2007;115(14):1895–1903.
4. Наумов АБ, Баутин АЕ, Кутин АМ и др. Применение левосимендана для лечения кардиогенного шока, связанного с развитием острой правожелудочковой недостаточности после аортокоронарного шунтирования. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2009;49(1):79–81.
5. Kolseth SM, Rolim NP, Salvesen Ø, Nordhaug DO, Wahba A, Høydal MA. Levosimendan improves contractility in vivo and in vitro in a rodent model of post-myocardial infarction heart failure. *Acta Physiol (Oxf)*. 2014;210(4):865–874. doi: 10.1111/apha.12248.
6. Leprán I, Pollesello P, Vajda S, Varró A, Papp JG. Preconditioning Effects of Levosimendan in a Rabbit Cardiac Ischemia-Reperfusion Model. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006;48(4):148–152.
7. Hönisch A, Theuring N, Ebner B, Wagner C, Strasser RH, Weinbrenner C. Postconditioning with levosimendan reduces the infarct size involving the PI3K pathway and KATP-channel activation but is independent of PDE-III inhibition. *Basic Res Cardiol*. 2010;105(2):155–167. doi: 10.1007/s00395–009–0064–9.
8. Kaheinen P1, Pollesello P, Levijoki J, Haikala H. Levosimendan Increases Diastolic Coronary Flow in Isolated Guinea-Pig Heart by Opening ATP-Sensitive Potassium Channels. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2001;37(4):367–74.
9. Uberti F, Caimmi PP, Molinari C, Mary D, Vacca G, Grossini E. Levosimendan Modulates Programmed Forms of Cell Death Through KATP Channels and Nitric Oxide. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2011;57(2):246–258. doi:10.1097/FJC.0b013e318204bb55.
10. Минасян СМ, Галагудза ММ, Дмитриев ЮВ и др. Консервация донорского сердца: история и современность с позиции трансляционной медицины. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2014;13(3):4–16.
11. Минасян СМ, Галагудза ММ, Сонин ДЛ и др. Методика перфузии изолированного сердца крысы. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2010;8(4):54–59.
12. Sutherland FJ, Shattock MJ, Baker KE, Hearse DJ. Mouse isolated perfused heart: characteristics and cautions. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2003;30(11):867–878.
13. Ozturk T, Gok S, Nese N. Levosimendan attenuates reperfusion injury in an isolated perfused rat heart model. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2010;24(4):624–628. doi: 10.1053/j.jvca.2009.08.003.
14. du Toit EF, Genis A, Opie LH, Pollesello P, Lochner A. A role for the RISK pathway and K (ATP) channels in pre- and post-conditioning induced by levosimendan in the isolated guinea pig heart. *Br J Pharmacol*. 2008;154(1):41–50. doi: 10.1038/bjp.2008.52.
15. Галагудза ММ. Оглушенный (станнированный) миокард: механизмы и клиническая значимость. Бюллетень ФЦСКЭ им. В. А. Алмазова. 2011;2:5–11.
16. Marban E. Pathogenetic role for calcium in stunning? *Cardiovasc Drugs Ther*. 1991;5(5):891–893.
17. Sekili S, McCay PB, Li XY et al. Direct evidence that the hydroxyl radical plays a pathogenetic role in myocardial “stunning” in the conscious dog and demonstration that stunning can be markedly attenuated without subsequent adverse effect. *Circ Res*. 1993;73(4):705–723.
18. Papp Z, Édes I, Fruhwald S, De Hert SG et al. Levosimendan: molecular mechanisms and clinical implications: consensus of experts on the mechanisms of action of levosimendan. *Int J Cardiol*. 2012;159(2):82–87. doi: 10.1016/j.ijcard.2011.07.022.
19. Papp Z, Csapó K, Pollesello P, Haikala H, Edes I. Pharmacological mechanisms contributing to the clinical efficacy of levosimendan. *Cardiovasc Drug Rev*. 2005;23(1):71–98.

#### Информация об авторах:

Торопова Яна Геннадьевна — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ);

Осаев Николай Юрьевич — младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии НИИ КПССЗ;

Долинчик Татьяна Ринатовна — врач отделения клинической лабораторной диагностики МБУЗ «Кемеровский кардиологический диспансер»;

Плотников Георгий Павлович — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории критических состояний отдела мультифокального атеросклероза НИИ КПССЗ;

Шукевич Дмитрий Леонидович — доктор медицинских наук, заведующий лабораторией критических состояний отдела мультифокального атеросклероза НИИ КПССЗ;

Головкин Алексей Сергеевич — доктор медицинских наук, заведующий отделом экспериментальной и клинической кардиологии НИИ КПССЗ.

#### Author information:

Yana G. Toropova — PhD, Researcher at the Cell Technologies Laboratory of Experimental and Clinical Cardiology Department, Research Science Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.

Osaev Nikolay Y. — Junior researcher of laboratory of cell technology, Department of experimental and clinical cardiology Research Science Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.;

Drincic Tatiana R. — physician of the Department of clinical laboratory diagnostics in MBUZ Kemerovo cardiologist dispensary;

Plotnikov, Georgy P. — doctor of medical Sciences, leading researcher of the laboratory of critical States Department of multifocal atherosclerosis, Research Science Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.;

Shukevich Dmitry L. — doctor of medical Sciences, head of laboratory of critical States Department of multifocal atherosclerosis, Research Science Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.;

Golovkin Alexey Sergeevich — doctor of medical Sciences, head of Department experimental and clinical cardiology Research Science Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.