

Мрочек А.Г., Булгак А.Г., Басалай М.В., Барсукевич В.Ч., Гурин А.В.

## МЕХАНИЗМЫ ПАРАСИМПАТИЧЕСКИХ ВЛИЯНИЙ НА СЕРДЦЕ В РАЗВИТИИ ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ДИСТАНТНОГО КОНДИЦИОНИРОВАНИЯ МИОКАРДА

Республиканский научно-практический центр «Кардиология», г. Минск, Республика Беларусь,  
Каролинский университет, г. Стокгольм, Швеция

Mrochek A.G., Bulgak A.G., Basalay M.V., Barsukevich V.C., Gurin A.V.

## MECHANISMS OF PARASYMPATHETIC INFLUENCES ON THE HEART IN THE DEVELOPMENT OF OF THE EFFECT ANTIISCHEMIC DISTANT CONDITIONING MYOCARDIUM

Republican Scientific and practical center «Cardiology», Minsk, Belarus,  
Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования:** изучить вовлечение отдельных парасимпатических и симпатических бета-адренергических механизмов в развитие противоишемического эффекта дистантного ишемического кондиционирования.

**Материал и методы.** Эксперименты проводились на белых нелинейных крысах-самцах. Дистантное ишемическое кондиционирование представляло собой 15-минутную окклюзию обеих бедренных артерий, осуществляемую до начала ишемии миокарда (ДИПК), на 10-й минуте ишемии (ДИПерК) или на 10-й минуте реперфузии (ДИПостК10'). Для изучения роли блуждающих нервов в развитии дистантного ишемического кондиционирования окклюзия бедренных артерий выполнялась в условиях двухсторонней ваготомии (Ваготомия+ДИПК, Ваготомия+ДИПерК, Ваготомия+ДИПостК10'). С целью блокады М-холинорецепторов животным вводился атропин (группы Атропин+ДИПК и Атропин+ДИПостК10'). Блокада бета-адренорецепторов осуществлялась введением метопролола или атенолола на 1-й минуте реперфузии животным с интактными блуждающими нервами (группы МетР+ДИПостК10' и АтенР+ДИПостК10') или в условиях двухсторонней ваготомии (группы Ваготомия+МетР+ДИПостК10' и Ваготомия+АтенР+ДИПостК10').

**Результаты.** ДИПК, ДИПерК и ДИПостК10' ограничивали зону некроза на 56%, 58% и 49%, соответственно, ( $p < 0,001$  в сравнении с группой Контроль). Двухсторонняя ваготомия, осуществляемая до начала острой ишемии миокарда, предупреждала развитие противоишемического эффекта ДИПК и ДИПерК, но не оказывала влияния на выраженность кардиопротекторного эффекта ДИПостК10'. Введение атропина предупреждало развитие кардиопротекторного эффекта как ДИПК, так и ДИПостК10'. Внутривенное введение метопролола или атенолола крысам с интактными блуждающими нервами не оказывало влияния на выраженность противоише-

### SUMMARY

**The aim of the study:** to investigate the involvement of distinct parasympathetic and sympathetic beta-adrenergic mechanisms in infarct-limiting effect of remote ischemic conditioning.

**Materials and methods.** Experiments have been conducted on white male rats. Remote ischemic conditioning was performed as 15-min bilateral femoral arteries occlusion before the onset of myocardial ischemia (RIPC,  $n=8$ ), on the 10-th minute of ischemia (RIPerC,  $n=8$ ) or on the 10-th minute of reperfusion (RIPostC10',  $n=8$ ). To study the role of vagal nerves in the development of remote ischemic conditioning femoral arteries occlusion was performed in conditions of bilateral vagotomy (Vagotomy+RIPC,  $n=8$ ; Vagotomy+RIPerC,  $n=7$ ; Vagotomy+RIPostC10',  $n=8$ ). M-cholinoreceptors were blocked by atropine (groups Atropine+RIPC,  $n=10$ ; and Atropine+RIPostC10',  $n=6$ ). Beta-adrenoreceptors blockade was induced by injection of metoprolol or atenolol on the 1-st minute of reperfusion to animals with intact vagal nerves (groups MetR+RIPostC10',  $n=10$ ; and AtenR+RIPostC10',  $n=10$ ) or after bilateral vagotomy (groups Vagotomy+MetR+RIPostC10',  $n=10$ ; Vagotomy+AtenR+RIPostC10',  $n=10$ ).

**Results.** RIPC, RIPerC и RIPostC10' limited infarct size by 56%, 58% and 49% respectively (all  $p < 0,001$  vs Control). Bilateral vagotomy, performed before the onset of myocardial ischaemia, abolished infarct-limiting effect of RIPC and RIPerC, but had no effect on cardioprotection induced by RIPostC10'. Atropine administration abolished cardioprotective effect of both RIPC and RIPostC10'. I.v. infusion of metoprolol or atenolol to the animals with intact vagal nerves had no effect on cardioprotection induced by RIPostC10', but administration of these agents in combination with vagotomy abolished this phenomenon ( $p > 0,05$  vs Control,  $p < 0,001\%$  vs RIPostC10').

**Conclusions.** Cardioprotective effect of RIPC and RIPerC is mediated mainly by vagal control of heart, whereas in RIPostC10' beta-adrenoreceptors are also important. Meanwhile,

мического эффекта ДИПостК10', а введение этих препаратов ваготомизированным животным предупреждало развитие данного феномена ( $p > 0,05$  в сравнении с контрольной группой,  $p < 0,001\%$  в сравнении с группой ДИПостК10').

**Заключение.** Кардиопротекторный эффект ДИПК и ДИПерК опосредован главным образом парасимпатическими влияниями на сердце, тогда как в развитии ДИПостК10' важную роль играют также бета-адренергические механизмы. Стимуляция М-холинорецепторов является ключевым звеном развития как ДИПК, так и ДИПостК10'.

**Ключевые слова:** дистантное ишемическое кондиционирование миокарда, парасимпатическая иннервация сердца, ишемия и реперфузия миокарда.

M-cholynoreceptors stimulation is a key point in the development of both RIPC, as well as RIPostC10'.

**Key words:** remote ischaemic heart conditioning, parasympathetic heart innervation, myocardial ischaemia and reperfusion.

## Контактная информация:

<b>Мрочек Александр Геннадьевич</b>	Директор РНПЦ «Кардиология», академик НАНБ, д.м.н.
<b>Булгак Александр Григорьевич</b>	Заместитель директора РНПЦ «Кардиология», д.м.н.
<b>Басалай Марина Васильевна</b>	Старший научный сотрудник лаборатории неотложной и интервенционной кардиологии РНПЦ «Кардиология»
<b>Барсукевич Вероника Чеславовна</b>	Старший научный сотрудник лаборатории нарушения сердечного ритма РНПЦ «Кардиология»
<b>Гурин Андрей Валерьевич</b>	Д.м.н., Каролинский университет, г. Стокгольм, Швеция e-mail: agourine@hotmail.com
<b>Автор, ответственный за контакты с редакцией: Басалай Марина Васильевна</b>	220036, г. Минск, ул. Р. Люксембург, 110; e-mail: marina.basalay@gmail.com тел. +375-29-526-69-37

## ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени накоплено большое количество данных, подчеркивающих важную роль парасимпатической иннервации сердца в механизмах защиты миокарда от повреждения, вызванного его ишемией и реперфузией [1, 2, 3, 4, 5]. Известно также, что парасимпатическая иннервация сердца (блуждающие нервы) принимает непосредственное участие в развитии противоишемического эффекта дистантного ишемического preconditionирования миокарда [6, 7, 8, 9]. Вместе с тем, результаты ранее проведенного нами исследования свидетельствуют о том, что двухсторонняя ваготомия, выполненная до начала 30-минутной ишемии миокарда, не предупреждает противоишемический эффект дистантного ишемического preconditionирования на 10-й минуте реперфузии [7]. При этом роль парасимпатической иннервации сердца в механизмах дистантного ишемического preconditionирования – кратковременной дистантной ишемии, осуществляемой во время продолжающейся острой коронарной окклюзии, – до настоящего времени не изучалась.

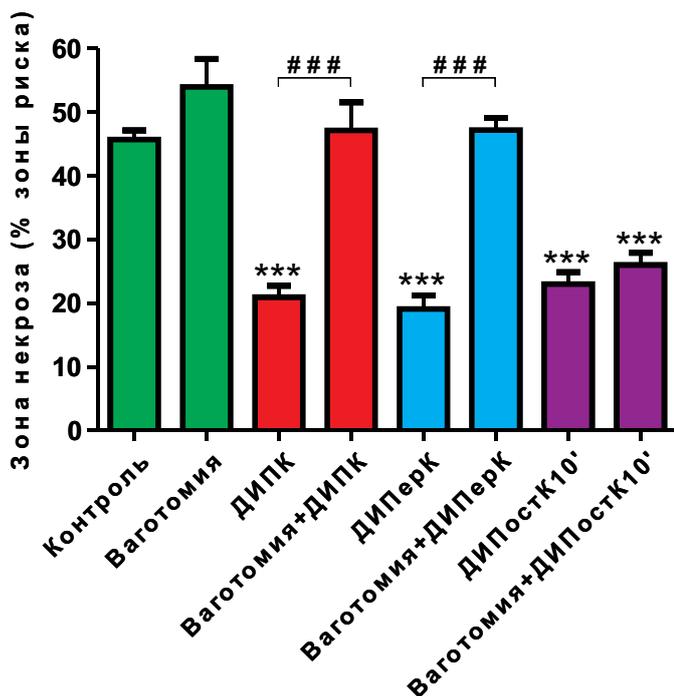
В свете возрастающего в последние годы интереса к проведению исследований, направленных на изучение эффективности дистантного preconditionирования в клинической практике [10, 11], а также развития новой многообещающей методики кардиопротекции – стимуляции блуждающих не-

рвов [5], – нам представляется важным выяснить значимость блуждающих нервов в ограничении зоны некроза миокарда путем дистантного ишемического preconditionирования, а также изучить отдельные механизмы участия парасимпатической иннервации в развитии кардиопротекторного эффекта кратковременной ишемии анатомически удаленного от сердца органа.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было выполнено на 119 белых нелинейных крысах-самцах массой 200-250 гр. Для анестезии использовался этаминал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг/час. Животных переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом через трахеостому при помощи аппарата ИВЛ. При этом дыхательный объем поддерживался на уровне 8-10 мл/кг массы, частота дыхания – 56-60 в минуту. Температура тела измерялась в прямой кишке и поддерживалась на уровне  $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . В ходе экспериментов осуществлялась непрерывная регистрация артериального давления (АД) в правой общей сонной артерии, а также ЭКГ во II стандартном отведении. Животные контрольной группы ( $n=8$ ) подвергались только 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда. Дистантное ишемическое пре-

**Рисунок 1. Влияние двухсторонней ваготомии на выраженность противоишемического эффекта дистантного ишемического пре- (ДИПК), пер- (ДИПерК) и посткондиционирования миокарда на 10-й минуте реперфузии (ДИПостК10')**



Примечание: \*\*\* –  $p < 0,001$  – различия между контрольной и опытными группами достоверны; ### –  $p < 0,001$  – различия между опытными группами достоверны.

(ДИПК,  $n=8$ ), пер- (ДИПерК,  $n=8$ ) и посткондиционирование (ДИПостК10',  $n=8$ ) представляло собой 15-минутную окклюзию обеих бедренных артерий, осуществляемую до начала ишемии миокарда, на 10-й минуте ишемии или на 10-й минуте реперфузии.

В первой серии экспериментов животные опытных групп подвергались двухсторонней ваготомии, осуществляемой за 15 минут до начала ишемии миокарда (Ваготомия,  $n=8$ ); ДИПК ( $n=8$ ), ДИПерК ( $n=8$ ), ДИПостК10' ( $n=8$ ) в условиях интактной парасимпатической иннервации; ДИПК, ДИПерК, ДИПостК10' в условиях двухсторонней ваготомии, выполненной до начала ДИПК или до начала коронарной окклюзии (группы Ваготомия+ДИПК,  $n=8$ ; Ваготомия+ДИПерК,  $n=7$ ; Ваготомия+ДИПостК10',  $n=8$ ).

Во второй серии экспериментов животные опытных групп подвергались ДИПК, ДИПостК10' или этим же воздействиям, но выполняемым на фоне внутривенного введения атропина в дозе 1 мг/кг болюсно с последующим введением поддерживающей дозы 1 мг/кг/час (группы Атропин+ДИПК,  $n=10$ , и Атропин+ДИПостК10',  $n=6$ ).

В третьей серии экспериментов крысы опытных групп подвергались только воздействию ДИПостК10'; ДИПостК10' в условиях двухсторонней ваготомии, выполненной до начала ишемии миокарда (Ваготомия+ДИПостК10'); ДИПостК10' на фоне внутривенного введения метопролола или атенолола (группы МетР+ДИПостК10',  $n=10$ , и АтенР+ДИПостК10',  $n=10$ ); ДИПостК10' в условиях двухсторонней ваготомии и на фоне внутривенного введения метопролола или атенолола (группы Ваготомия+МетР+ДИПостК10',  $n=10$ , и Ваготомия+АтенР+ДИПостК10',  $n=10$ ).

Показатели гемодинамики – среднее АД (АД ср.) и частота

сердечных сокращений (ЧСС) – выражались в мм рт. ст. и ударах в минуту, соответственно, и оценивались в начале 30-минутной окклюзии ПНКА, в начале реперфузии, а также на 60-й и 120-й минутах реперфузии. Исходными, или базальными, значениями изучаемых показателей гемодинамики считались значения в конце 15-минутного периода стабилизации после вскрытия грудной клетки. Критериями исключения животных из исследования являлись среднее АД (АД ср.) менее 60 мм рт. ст., ЧСС менее 300 ударов в минуту и наличие желудочковых экстрасистол до начала эксперимента.

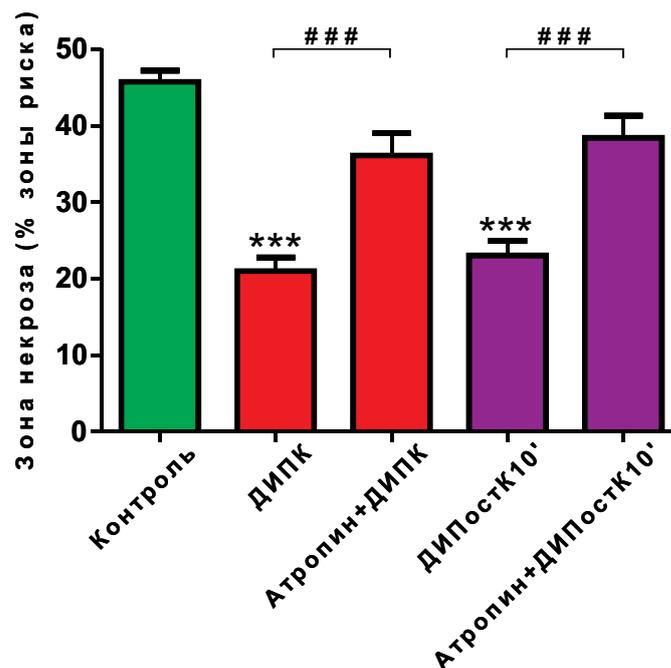
С целью определения зоны ишемии, или зоны риска, в конце реперфузии производили повторную окклюзию ПНКА, а затем вводили 0,5 мл 5% раствора синьки Эванса в левую общую яремную вену. Жизнеспособный миокард зоны риска идентифицировали визуально после 15-минутного инкубирования срезов миокарда в 1% растворе 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида при температуре 37°C, как окрашенный в кирпично-красный цвет. Зону некроза рассчитывали в % массы зоны риска.

Все количественные параметры оценивались на нормальность их распределения с помощью теста 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 представлялись в виде: среднее  $\pm$  стандартное отклонение. Значения  $p < 0,05$  рассматривались как достоверные.

## ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

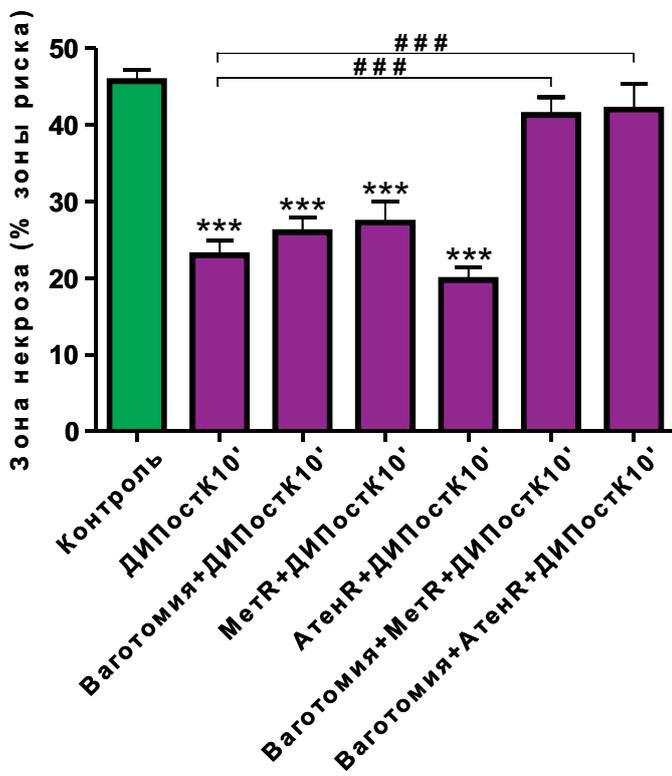
Значения показателей гемодинамики у животных в ходе

**Рисунок 2. Влияние введения атропина на выраженность противоишемического эффекта пре- (ДИПК) и посткондиционирования миокарда на 10-й минуте реперфузии (ДИПостК10')**



Примечание: \*\*\* –  $p < 0,001$  – различия между контрольной и опытными группами достоверны; ### –  $p < 0,001$  – различия между опытными группами достоверны.

**Рисунок 3. Влияние введения ателнола (АтенR) и метопролола (МетR) на выраженность противоишемического эффекта дистантного ишемического посткондиционирования миокарда на 10-й минуте реперфузии (ДИПостК10') в условиях интактной парасимпатической иннервации и двухсторонней ваготомии**



Примечание: \*\*\* –  $p < 0,001$  – различия между контрольной и опытными группами достоверны; ### – различия между опытными группами достоверны.

экспериментов представлены в таблице 1. Значимые отличия ЧСС от их первоначальных значений отмечались в группах, где животные подвергались воздействию ДИПК после двухсторонней ваготомии либо введения атропина, а также у крыс, которым осуществлялось введение метопролола. При этом у животных, подвергшихся ДИПК в условиях двухсторонней ваготомии, повышение ЧСС наблюдалось только в начале ишемии миокарда ( $p < 0,05$ ). У крыс, которым выполнялось ДИПК на фоне введения атропина, повышение данного показателя отмечалось в начале реперфузии ( $p < 0,05$ ), на 60-й и 120-й минутах реперфузии ( $p < 0,01$ ). Снижение ЧСС, вызванное введением метопролола, у животных с интактными блуждающими нервами сохранялось на протяжении всего наблюдаемого периода реперфузии ( $p < 0,01$ ), тогда как у ваготомизированных крыс значения ЧСС к 120-й минуте реперфузии были сравнимы с регистрируемыми до начала экспериментов.

Размеры зон риска во всех группах животных были сопоставимы ( $p > 0,05$ ). На рисунках 1-3 представлены значения зон некроза в экспериментальных группах. Зона некроза в контрольной группе составила  $45 \pm 4\%$ , в группе Ваготомия –  $53 \pm 12\%$  ( $p > 0,05$  в сравнении с контролем). 15-минутная окклюзия бедренных артерий, осуществляемая до начала ишемии миокарда, во время коронарной окклюзии или на 10-й минуте реперфузии, ограничивала зону некроза на 56%, 58% и 49%, соответственно, ( $p < 0,001$  в сравнении с группой Контроль).

Двухсторонняя ваготомия, осуществляемая до начала острой ишемии миокарда, предупреждала развитие противоишемического эффекта ДИПК и ДИПерК (зоны некроза  $47 \pm 12\%$  и  $47 \pm 1\%$ , соответственно,  $p < 0,001$  в сравнении с группами ДИПК и ДИПерК,  $p > 0,05$  в сравнении с контролем), но не оказывала влияния на выраженность кардиопротекторного эффекта ДИПостК10' (зона некроза  $26 \pm 5\%$ ,  $p < 0,001$  в сравнении с контролем,  $p > 0,05$  в сравнении с группой ДИПостК10') (рисунок 1).

Результаты данной серии экспериментов могут быть обусловлены тем, что выраженность кардиопротекторного эффекта дистантного кондиционирования в условиях двухсторонней ваготомии зависит от интервала времени между перерезкой блуждающих нервов и окончанием дистантной ишемии. Эта закономерность может быть объяснима особенностями парасимпатической иннервации левого желудочка. Как известно, парасимпатическая эфферентная иннервация сердца представлена правым и левым блуждающими нервами, волокна которых заканчиваются в правом предсердии и атриовентрикулярном узле, соответственно. Результаты исследований, проведенных Ekström J. [12], Kakinuma Y. et al. [13], а также Rana O. et al. [14], свидетельствуют о том, что на уровне кардиомиоцитов желудочков сердца существует собственная система синтеза ацетилхолина, поддерживаемая механизмом положительной обратной связи. Эта система активизирует свою работу в ответ на активацию М-холинорецепторов или введение ингибитора ацетилхолинэстеразы. То есть, поступающие к сердцу через блуждающие нервы импульсы обеспечивают поддержание надлежащей функциональной активности локальной системы синтеза ацетилхолина [12, 13, 14]. Таким образом, учитывая, что высвобождающийся из окончаний парасимпатических нервов ацетилхолин подвергается быстрому разрушению ацетилхолинэстеразой, двухсторонняя ваготомия должна сопровождаться быстрым снижением содержания ацетилхолина в миокарде. Вместе с тем, как было показано Slavíková J. & Tucek S. в экспериментах на крысах, через длительный интервал времени после двухсторонней ваготомии в миокарде желудочков наблюдается высокое содержание ацетилхолинтрансферазы, сравнимое с содержанием данного фермента до перерезки блуждающих нервов [15]. Jo S. et al. продемонстрировали прогрессирующее увеличение количества М-холинорецепторов в миокарде птиц, подвергшихся перерезке блуждающих нервов, прямо пропорционально времени, прошедшему после ваготомии [16]. Таким образом, результаты приведенных исследований свидетельствуют о возможности компенсаторного восстановления синтеза ацетилхолина в кардиомиоцитах после парасимпатической денервации. Данный факт может объяснить воспроизводимость противоишемического эффекта ДИПостК10' в условиях перерезки обоих блуждающих нервов, выполняемой за 15 минут до начала ишемии миокарда. При этом предупреждение кардиопротекторного эффекта ДИПерК в условиях двухсторонней ваготомии согласуется с результатами исследований, проведенных на животных, показавшими возможность ограничивать ишемическое и реперфузионное повреждение миокарда путем стимуляции блуждающих нервов [1, 2, 4]. Полученные нами данные свидетельствуют о целесообразности проведения дальнейших исследований, направленных на оценку влияния стимуляции блуждающих нервов на размер некроза и прогноз у пациентов с острым коронарным синдромом. Безопасность данной

Таблица 1. Показатели гемодинамики в ходе экспериментов у животных, подвергшихся дистантному ишемическому пре- (ДИПК), пер- (ДИПерК) и посткондиционированию миокарда на 10-й минуте реперфузии (ДИПостК10')

		До начала ОИМ	Начало ОИМ	Реперфузия, минуты		
				0	60	120
Контроль (n=8)	АД ср.	82±16	74±17	78±16	87±19	88±14
	ЧСС	390±54	413±54	425±70	424±71	439±50
Ваготомия (n=8)	АД ср.	88±18	90±9	94±20	101±23	93±19
	ЧСС	456±62	473±32	462±38	453±42	454±27
ДИПК (n=8)	АД ср.	83±21	85±23	81±23	90±22	80±18
	ЧСС	418±34	429±45	437±42	420±46	418±36
Ваготомия+ ДИПК (n=8)	АД ср.	79±10	103±25	103±29	96±21	96±12
	ЧСС	441±21	472±18*	462±20	456±16	458±11
ДИПерК (n=8)	АД ср.	84±15	76±14	81±21	83±17	81±13
	ЧСС	420±30	428±35	420±39	442±39	443±42
Ваготомия+ ДИПерК (n=7)	АД ср.	70±8	72±10	83±12	83±19	84±21
	ЧСС	417±41	438±46	462±45	468±47	456±26
ДИПостК10' (n=8)	АД ср.	76±8	78±10	81±15	89±17	89±11
	ЧСС	402±45	421±23	415±54	422±49	434±36
Ваготомия+ ДИПостК10' (n=8)	АД ср.	84±16	95±22	92±26	98±22	89±18
	ЧСС	399±46	429±48	415±58	418±50	420±47
Атропин+ ДИПК (n=10)	АД ср.	89±18	83±18	82±11	86±16	85±15
	ЧСС	388±27	410±28	435±13*	441±20**	445±20**
Атропин+ ДИПостК10' (n=6)	АД ср.	84±13	82±15	73±12	75±10	80±11
	ЧСС	427±47	445±90	407±52	405±61	433±35
МетR+ ДИПостК10' (n=10)	АД ср.	84±16	73±11	74±11	73±9	81±12
	ЧСС	436±39	451±43	425±59	355±33***	383±31**
АтенR+ ДИПостК10' (n=10)	АД ср.	74±13	78±16	65±5	63±2	74±4
	ЧСС	390±37	403±40	390±41	340±43	361±37
Ваготомия+МетR+ ДИПостК10' (n=10)	АД ср.	95±16	91±18	83±16	79±15	82±19
	ЧСС	426±44	455±47	421±66	372±38*	404±37
Ваготомия+АтенR+ ДИПостК10' (n=10)	АД ср.	97±23	96±13	100±18	90±17	87±21
	ЧСС	453±35	468±33	466±20	390±28	388±49

Примечание: животным опытных групп дополнительно выполнялись: двухсторонняя ваготомия до начала ишемии миокарда, введение атропина в/в до начала дистантной ишемии либо введение метопролола или атенолола на 1-й минуте реперфузии (МетR и АтенR соответственно). \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  – значимые отличия показателей гемодинамики от первоначальных значений.

методики в настоящее время не вызывает сомнений: использование стимуляторов блуждающих нервов было одобрено FDA США в 1997 г. у пациентов, страдающих эпилепсией, а в 2005 г. – у пациентов, страдающих депрессией.

В настоящее время известно, что парасимпатическая холинергическая регуляция оказывает кардиопротекторное действие при ишемии миокарда за счет снижения скорости использования макроэргических субстратов и уменьшения интенсивности потребления кислорода кардиомиоцитами [17]. В исследовании, проведенном Donato M. et al. на кроликах, было показано, что введение атропина предупреждает развитие противоишемического эффекта ДИПК в той же степени, что и перерезка блуждающих нервов либо

спинного мозга в шейном отделе [18]. Введение атропина внутривенно крысам в нашем исследовании предупреждало, подобно двухсторонней перерезке блуждающих нервов, развитие кардиопротекторного эффекта как ДИПК (зона некроза 36±9%,  $p < 0,001$ , в сравнении с группой ДИПК,  $p > 0,05$ , в сравнении с контрольной группой), так и ДИПостК10' (зона некроза 38±7%,  $p < 0,001$  в сравнении с группой ДИПостК10',  $p > 0,05$  в сравнении с контрольной группой) (рисунок 2). Это подтверждает правомерность описанного выше механизма участия блуждающих нервов в развитии дистантного кондиционирования миокарда посредством возбуждения М-холинорецепторов и активации синтеза ацетилхолина.

Исследование, проведенное Rona O. et al. на крысах, показало сниженную экспрессию ацетилхолинтрансферазы в кардиомиоцитах пожилых животных по сравнению с кардиомиоцитами молодых взрослых особей [19]. Этот факт может объяснять снижение эффективности дистантного ишемического preconditionирования, наблюдаемое в клинической практике у пожилых пациентов [20].

Как известно, симпатический и парасимпатический отделы нервной системы находятся в постоянном динамическом антагонистическом либо синергичном взаимодействии [21]. В противовес кардиопротекторным эффектам повышения парасимпатического тонуса [1, 2, 3, 4, 5] симпатическая нервная система, согласно распространенным представлениям, оказывает деструктивное действие, как при острой коронарной недостаточности, так и при развитии хронической сердечной недостаточности ишемической этиологии [22].

Основным доказательством повреждающего действия симпатической нервной системы при хронической сердечной недостаточности являются данные многоцентровых исследований с использованием бета-адреноблокаторов [23, 24, 25, 26]. Хорошо контролируемые клинические исследования, посвященные изучению эффектов бета-блокаторов у пациентов острым коронарным синдромом, в настоящее время практически отсутствуют [27]. Нерандомизированное проспективное исследование, проведенное в Австрии на 664 пациентах острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST, завершнное в 2013 году, показало, что максимально раннее использование бета-адреноблокатора (бисопролола) у данной категории пациентов сопровождается снижением общей и сердечно-сосудистой смертности [28, 29]. Подобные результаты, свидетельствующие о способности бета-блокаторов (в большей степени карведилола, в меньшей – бисопролола) снижать смертность и частоту сердечно-сосудистых событий при остром инфаркте миокарда, были получены и ранее в ретроспективном нерандомизированном одноцентровом исследовании, проведенном в Японии на 251 последовательно взятом пациенте [30].

Данные, свидетельствующие об эффективности бета-блокаторов в плане ограничения размера инфаркта миокарда в эксперименте, крайне противоречивы. Исследование Ibanez B. et al. (2011 г.) продемонстрировало ограничение зоны некроза в миокарде, подвергшегося ишемии и реперфузии, у свиней при внутривенном введении метопролола до момента окончания коронарной окклюзии [31]. Следует принимать во внимание, что бета-блокаторы взаимодействуют только с  $\beta$ -адренорецепторами, не влияя на  $\alpha$ -адренорецепторы, стимуляция которых может также сопровождаться различными эффектами на сердечно-сосудистую систему. Так, в исследовании, проведенном Гуриным А.В. и соавт. (1999 г.), было показано, что альфа-адреноблокатор празозин в дозе 0,5-1 мг/кг при введении за 5 мин до 30-минутной коронарной окклюзии у крыс увеличивает частоту возникновения фибрилляции желудочков и смертность животных [32]. В этой связи необходимо отметить также, что в настоящее время существует несколько исследований, показавших кардиопротекторное действие фармакологической стимуляции  $\alpha$ -адренорецепторов при острой ишемии миокарда [33, 34].

Учитывая широкое использование бета-адреноблокаторов в клинической практике, нам представлялось важным оценить влияние этой группы препаратов на выраженность противоишемического эффекта дистантного ишемического

postкондиционирования. Как известно, все бета-адреноблокаторы, оказывающие благоприятный эффект при хронической сердечной недостаточности ишемической этиологии являются в той или иной степени липофильными, то есть, обладают способностью проникать через гематоэнцефалический барьер [35, 36]. Gourine A. et al. в экспериментах на крысах показали, что непрерывная инфузия метопролола непосредственно в желудочки мозга замедляет развитие ремоделирования левого желудочка сердца, вызванного окклюзией коронарной артерии [37]. То есть, можно предположить, что липофильные и гидрофильные бета-адреноблокаторы могут оказывать разное влияние на ишемию и реперфузию миокарда.

В нашем исследовании внутривенное введение метопролола или атенолола крысам с интактными блуждающими нервами не оказывало влияния на выраженность противоишемического эффекта ДИПостК10' (зоны некроза  $27 \pm 8\%$  и  $19 \pm 4\%$ , соответственно,  $p < 0,001$ , в сравнении с контрольной группой,  $p > 0,05$ , в сравнении с группой ДИПостК10') (рисунок 4). При этом у ваготомизированных животных введение этих препаратов предупреждало развитие кардиопротекторного эффекта дистантной ишемии (зоны некроза  $41 \pm 7\%$  и  $42 \pm 8\%$ , соответственно,  $p > 0,05$ , в сравнении с контрольной группой,  $p < 0,001$ , в сравнении с группой ДИПостК10'). Результаты данной серии экспериментов свидетельствуют о том, что бета-адренорецепторы принимают участие в развитии дистантного ишемического postкондиционирования в условиях ваготомии, но не играют ключевой роли в развитии противоишемического эффекта ДИПостК10' у животных с интактными блуждающими нервами. Полученные данные согласуются с результатами исследования Górný D. et al., показавшими, что стимуляция бета-адренорецепторов адреналином является необходимой для поддержания синтеза ацетилхолина в клетках коры головного мозга крыс как *in vitro*, так и *in vivo* [38]. Lewis M. et al. в 2001 г. продемонстрировали предупреждение снижения сократительной функции левого желудочка, вызываемого стимуляцией левого блуждающего нерва у свиней при введении бета-адреноблокатора эсмолола [39]. Таким образом, полученные нами данные, в совокупности с литературными, свидетельствуют о том, что симпатическая нервная система играет, по-видимому, двойственную роль при острой коронарной недостаточности, оказывая в какой-то степени кардиопротекторный эффект. Подобные рассуждения согласуются с теорией стресса Selye H. (1961 г.), суть которой сводится к тому, что при различных видах стресса (в том числе и при ишемическом) важная роль в процессах адаптации отводится симпатической нервной системе [40].

Существование наблюдаемого в представленном исследовании взаимодействия симпатической и парасимпатической иннервации сердца, относящегося к механизму развития дистантного ишемического postкондиционирования миокарда, может обуславливать слабую выраженность противоишемического эффекта дистантного postкондиционирования у пациентов с полинейропатиями, принимающих бета-адреноблокаторы.

## ВЫВОДЫ

1. Парасимпатическая иннервация сердца (блуждающие нервы) принимает непосредственное участие в развитии противоишемического эффекта дистантного ишемического пре- и перкондиционирования миокарда. Двух-

сторонняя ваготомия, осуществляемая до начала острой коронарной окклюзии, не оказывает влияния на выраженность противоишемического эффекта дистантного ишемического посткондиционирования, воспроизводимого с 10-й по 25-ю минуту реперфузии миокарда.

2. Введение атропина предупреждает развитие кардиопротекторного эффекта как дистантного ишемического пре-кондиционирования, так и дистантного посткондиционирования миокарда на 10-й минуте реперфузии.
3. Введение липофильных или гидрофильных бета-адреноблокаторов не влияет на выраженность кардиопротекторного эффекта дистантного ишемического посткондиционирования на 10-й минуте реперфузии. Вместе с тем, введение атенолола или метопролола крысам, подвергшимся острой коронарной окклюзии в условиях двухсторонней ваготомии, предупреждает развитие противоишемического эффекта данного феномена.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial myoglobin release* / T. Kawada [et al.] // *Life Sci.* – 2008. – Vol. 83, № 13-14. – P. 490–495.
2. *Vagal nerve stimulation prevents reperfusion injury through inhibition of opening of mitochondrial permeability transition pore independent of the bradycardiac effect* / R.G. Katare [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2009. – Vol. 137, №1. – P. 223–231.
3. *Cholinergic anti-inflammatory pathway: a possible approach to protect against myocardial ischemia reperfusion injury* / J. Xiong [et al.] // *Chin. Med. J. (Engl.)*. – 2010. – Vol. 123, №19. – P. 2720–2726.
4. *Vagal stimulation, through its nicotinic action, limits infarct size and the inflammatory response to myocardial ischemia and reperfusion* / L. Calvillo [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 58, №5. – P. 500–507.
5. *De Ferrari, G.M Vagus nerve stimulation: from pre-clinical to clinical application: challenges and future directions* / G.M. De Ferrari, P.J. Schwartz // *Heart Fail. Rev.* – 2011. – Vol. 16, №2. – P. 195–203.
6. *Роль парасимпатической нервной системы в развитии кардиопротекторных эффектов дистантного ишемического пре-кондиционирования миокарда* / М.В. Басалай, В.Ч. Барсукевич, А.Г. Булгак, А.Г. Мрочек // *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук.* – 2012. – № 1. – С. 20–26.
7. *Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning - similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms* / M. Basalay, V. Barsukevich, S. Mastitskaya, A. Mrochek, J. Pernow, P.Q. Sjöquist, G.L. Ackland, A.V. Gourine, A. Gourine // *Exp. Physiol.* – 2012. – Vol. 97, №8. – P. 908–917.
8. *Cardioprotection evoked by remote ischaemic preconditioning is critically dependent on the activity of vagal pre-ganglionic neurones* / S. Mastitskaya [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2012. – Vol. 95, №4. – P. 487–494.
9. *Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning* / M. Donato [et al.] // *Exp. Physiol.* – 2013. – Vol. 98, №2. – P. 425–434.
10. *Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomised trial* / H.E. Bøtker [et al.] // *Lancet.* – 2010. – Vol. 375(9716). – P. 727–734.
11. *Remote ischemic preconditioning: the surgeon's perspective* / M. Thielmann [et al.] // *Exp. Physiol.* – 2013. – Vol. 14, №3. – P. 187–192.
12. *Ekström, J. Fall in choline acetyltransferase activity in the ventricles of the rat heart after treatment with a ganglion blocking drug* / J. Ekström // *Acta Physiol. Scand.* – 1978. – Vol. 102, №1. – P. 116–119.
13. *Kakinuma, Y. Cholinoceptive and cholinergic properties of cardiomyocytes involving an amplification mechanism for vagal efferent effects in sparsely innervated ventricular myocardium* / Y. Kakinuma, T. Akiyama, T. Sato // *FEBS J.* – 2009. – Vol. 276, №18. – P. 5111–5125.
14. *Acetylcholine as an age-dependent non-neuronal source in the heart* / O.R. Rana [et al.] // *Auton. Neurosci.* – 2010. – Vol. 156, №1-2. – P. 82–89.
15. *Slavíková, J. Choline acetyltransferase activity and distribution in rat hearts after bilateral cervical vagotomy* / J. Slavíková, S. Tuček // *Physiol. Bohemoslov.* – 1985. – Vol. 34, №3. – P. 217–223.
16. *Jo, S.A. Regulation of acetylcholinesterase in avian heart. Studies on ontogeny and the influence of vagotomy.* / S.A. Jo, D.M. Higgins, H.A. Berman // *Circ. Res.* – 1992. – Vol. 70, №4. – P. 633–643.
17. *A non-neuronal cardiac cholinergic system plays a protective role in myocardium salvage during ischemic insults* / Y. Kakinuma [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, №11. – P. 50761.
18. *Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning* / M. Donato [et al.] // *Exp. Physiol.* – 2013. – Vol. 98, №2. – P. 425–434.
19. *Acetylcholine as an age-dependent non-neuronal source in the heart* / O.R. Rana [et al.] // *Auton. Neurosci.* – 2010. – Vol. 156, №1-2. – P. 82–89.
20. *Effect of local and remote ischemic preconditioning on endothelial function in young people and healthy or hypertensive elderly people* / L. Moro [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2011. – Vol. 219, №2. – P. 750–752.
21. *Шмидт, Р. Физиология человека. В 3-х томах. Т. 2. Пер. с англ. / Под ред. Р. Шмидта и Г. Тевса. – М.: Мир, 1996. – 313 с.*
22. *Schömig, A. Catecholamines in myocardial ischemia. Systemic and cardiac release.* / A. Schömig // *Circulation.* – 1990. – Vol. 82, №3. – P. 13–22.
23. *Randomized study on the efficacy and safety of landiolol, an ultra-short-acting  $\beta_1$ -adrenergic blocker, in patients with acute myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention* / K. Hanada [et al.] // *Circ. J.* – 2012. – Vol. 76, №2. – P. 439–445.
24. *Beta blockers therapy is associated with improved left ventricular systolic function and sustained exercise capacity in elderly patients with heart failure. CIBIS-ELD sub-study* / M. Dekleva [et al.] // *Aging Clin. Exp. Res.* – 2012. – Vol. 24, №6. – P. 675–681.
25. *Trend of clinical outcome and surrogate markers during titration of  $\beta$ -blocker in heart failure patients with reduced ejection fraction: relevance of achieved heart rate and  $\beta$ -blocker dose* / N. Kato [et al.] // *Circ. J.* – 2013. – Vol. 77, №4. – P. 1001–1008.
26. *Effect of metoprolol versus carvedilol on outcomes in MADIT-CRT (multicenter automatic defibrillator implantation trial*

- with cardiac resynchronization therapy) / M. Ruwald [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2013. – Vol. 61, №14. – P. 1518–1526.
27. Impact of beta blockade therapy on long-term mortality after ST-segment elevation acute myocardial infarction in the percutaneous coronary intervention era / D. Nakatani [et al.] // *Am. J. Cardiol.* – 2013. – Vol. 111, №4. – P. 457–464.
28. Benefit of immediate beta-blocker therapy on mortality in patients with ST-segment elevation myocardial infarction / M.M. Hirsch [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2013. – Vol. 41, №6. – P. 1396–1404.
29. Roolvink, V. The sooner, the better: early beta-blocker administration in patients with ST-elevation myocardial infarction / V. Roolvink, A.W. Van't Hof, I.C. Horst // *Crit. Care Med.* – 2013. – Vol. 41, №6. – P. 1566–1568.
30. Additive effects of  $\beta$ -blockers on renin-angiotensin system inhibitors for patients after acute myocardial infarction treated with primary coronary revascularization / M. Konishi [et al.] // *Circ. J.* – 2011. – Vol. 75, №8. – P. 1982–1991.
31. The cardioprotection granted by metoprolol is restricted to its administration prior to coronary reperfusion / B. Ibanez [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2011. – Vol. 147, №3. – P. 428–432.
32. Изучение кардиопротекторного действия лекарственных средств в условиях прерывистой ишемии [Текст] : отчет о НИР (заключ.): РНПЦ "Кардиология" ; рук. д.м.н. А.В. Гурин ; исполн. : М.Г. Колядко, В.Л. Недорезов, Ф.И. Молош. – Минск, 1999.
33. Kitakaze, M. Role of adenosine and its interaction with alpha adrenoceptor activity in ischaemic and reperfusion injury of the myocardium / M. Kitakaze, M. Hori, T. Kamada // *Cardiovasc. Res.* – 1993. – Vol. 27, №1. – P. 18–27.
34. Alpha 1-adrenergic agonists precondition rabbit ischemic myocardium independent of adenosine by direct activation of protein kinase C / A. Tsuchida [et al.] // *Circ. Res.* – 1994. – Vol. 75, №3. – P. 576–585.
35. Metoprolol reverses left ventricular remodeling in patients with asymptomatic systolic dysfunction: the REversal of VEentricular Remodeling with Toprol-XL (REVERT) trial / W.S. Colucci [et al.] // *Circulation.* – 2007. – Vol. 116, №1. – P. 49–56.
36. Carvedilol in the treatment of chronic heart failure: lessons from the Carvedilol Or Metoprolol European Trial / W.S. Colucci [et al.] // *Vasc. Health Risk Manag.* – 2007. – Vol. 3, №1. – P. 31–37.
37. Beneficial effect of the central nervous system beta-adrenoceptor blockade on the failing heart / A. Gourine, S.I. Bondar, K.M. Spyer, A.V. Gourine // *Circ. Res.* – 2008. – Vol. 102, №6. – P. 633–636.
38. The effect of adrenaline on acetylcholine synthesis after blockade of alpha- and beta-adrenergic receptors in vitro / D. Górny [et al.] // *Acta Physiol. Pol.* – 1977. – Vol. 28, №4. – P. 313–320.
39. Vagus nerve stimulation decreases left ventricular contractility in vivo in the human and pig heart / M.E. Lewis [et al.] // *J. Physiol.* – 2001. – Vol. 534, №2. – P. 547–552.
40. Selye, H. Stress and cardiovascular disease / H. Selye // *World Wide Abstr. Gen. Med.* – 1961. – Vol. 4. – P. 8–13.