

УДК 616.12-008.4/46-005.4-092

*Т.В.Шиманская*

## ЗАЩИТНОЕ ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ НА ПРОЦЕССЫ АКТИВАЦИИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ПОР В СЕРДЦЕ СТАРЫХ ЖИВОТНЫХ

Отдел физиологии кровообращения (зав. – чл.-кор. НАН Украины В.Ф.Сагач)  
Института физиологии им.А.А.Богомольца НАН Украины, г. Киев

**Резюме.** В экспериментах на изолированных сердцах старых морских свинок было показано, что гипоксическое прекондиционирование снижает их чувствительность к образованию митохондриальных пор, о чем свидетельствовало значительно меньшее количество митохондриального фактора, выделяемого в коронарное русло после ишемии. Защитное влияние гипоксических

тренировок на процессы активации митохондриальных пор в сердце подтверждалось и существенно меньшей степенью реперфузионных нарушений функции миокарда у тренированных животных старого возраста.

**Ключевые слова:** старение, гипоксическое прекондиционирование, ишемия-реперфузия, митохондриальная пора.

**Введение.** Функциональное состояние сердца с возрастом существенно ухудшается и требует соответствующей коррекции. Согласно современным представлениям, кардиопротективный ответ, проявляющийся в повышении устойчивости миокарда к ишемии-реперфузии, может быть индуцирован с помощью некоторых неишемических стимулов. Среди них адаптация к гипоксии, которая широко используется для профилактики и лечения сердечно-сосудистых нарушений в эксперименте и в клинике. Показано, в частности, что прерывистая гипоксия снижает реперфузионные нарушения функции сердца и развитие аритмии. Возникает вопрос о механизмах корригирующего действия гипоксии на деятельность сердца с одной стороны, и возможность и эффективность применения этого метода при старении организма – с другой. В настоящее время получены многочисленные подтверждения, что постишемические нарушения миокарда связаны с образованием митохондриальных пор и действием агентов, выделяющихся при этом из митохондрий в цитозоль клетки. Логично предположить, что изменения метаболизма клеток миокарда, приводящие к угнетению открытия этих неселективных каналов митохондрий, будут сопровождаться и снижением постишемических нарушений сократительной функции сердца.

**Цель исследования.** Выяснить влияние гипоксического прекондиционирования на чувствительность сердец старых морских свинок к образованию митохондриальных пор и развитие реперфузионных нарушений деятельности сердца.

**Материал и методы.** Эксперименты выполнены на изолированных сердцах старых (24 месяца) морских свинок массой 750-1000 г, которые перфузировали по методу Лангендорфа при постоянном давлении, аэрации карбогеном (95 % O<sub>2</sub> и 5 % CO<sub>2</sub>) раствором Кребса-Хензелейта следующего состава (в ммоль/л): NaCl – 118; KCl – 4,7; MgSO<sub>4</sub> – 1,2; NaHCO<sub>3</sub> – 24; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2; глюкоза – 10; CaCl<sub>2</sub> – 2,5. Развиваемое давление в левом желудочке и его первую производную, конечно-диастолическое давление измеряли тензодатчиками 746 (Элема,

Швеция) и регистрировали с помощью программного обеспечения Global Lab. Рассчитывали индекс сократимости Верагута и величину работы сердца. Скорость коронарного потока оценивали по объёму оттекающего от сердца раствора за 1 мин. Напряжение кислорода измеряли с помощью газоанализатора BMS 3 Mk 2 (Радиометр, Дания) в пробах притекающего к сердцу и оттекающего из легочной артерии раствора. Рассчитывали потребление кислорода и кислородную стоимость работы сердца, за которую принимали соотношение между величиной потребления кислорода к развиваемому давлению и частоте сердечных сокращений. Оптическую плотность проб (до ишемии и на 1-й мин реперфузии) измеряли с помощью спектрофотометра СФ-46 в диапазоне длины волны 230-260 нм. Тотальную ишемию воспроизводили в течение 20 минут путем полного прекращения подачи перфузионного раствора к сердцу, после чего осуществляли 40-минутную реперфузию. Животных разделяли на контрольную и опытную группы. Опытная группа морских свинок ежедневно на протяжении 7 дней подвергалась интервальным гипоксическим тренировкам под колоколом (12 % O<sub>2</sub> в азоте) по схеме – 5 сеансов по 15 минут с 15-минутными перерывами. Статистическую обработку данных производили разностным методом с использованием критерия Стьюдента.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Семидневный курс гипоксических тренировок старых морских свинок приводил к повышению эффективности работы сердца. В первую очередь это отражалось на улучшении процессов расслабления миокарда (dP/dt min составляло 1026±44 мм рт.ст./с, у контрольных животных – 885±40 мм рт.ст./с) и его сократительных свойствах, поскольку в 1,5 раза увеличивалась величина индекса сократимости. Существенно снижалось потребление кислорода сердцем, а эффективность его использования повышалась на 38 %.

Известно, что реперфузия ишемизированного миокарда сопровождается образованием неселективных каналов в митохондриальной мембране, так называемых митохондриальных пор [2],

поэтому ишемию-реперфузию использовали в качестве модели для открытия митохондриальных пор.

У старых морских свинок, прошедших курс гипоксического preconditionирования, степень реперфузионных нарушений функции сердца была ниже по сравнению с контрольными животными этой возрастной группы. К концу периода наблюдения восстановление величины давления в левом желудочке составляло  $89 \pm 4$  % (у контрольных животных –  $75 \pm 3$  %), а  $dP/dt$  max и  $dP/dt$  min соответственно 104 % и 94 % (у контрольных – 84 % и 85 %). Динамика изменения конечно-диастолического давления в период реперфузии подтверждает вывод об улучшении процессов расслабления миокарда после гипоксических тренировок. Величина индекса сократимости миокарда была высокой  $52,6 \pm 4,9$   $s^{-1}$  уже в исходном состоянии, а в процессе реперфузии имела стойкую тенденцию к увеличению, что не наблюдалось в контрольной серии. Кислородный обмен сердца опытных животных также был более оптимален. В отличие от контрольной серии, где кислородная стоимость работы сердца в процессе реперфузии постепенно росла (на  $47 \pm 11$  %), у животных после курса гипоксических тренировок в этих условиях достоверно не изменялось ни потребление кислорода, ни кислородная стоимость работы сердца. Таким образом, гипоксическое preconditionирование активировало определенные звенья внутриклеточных сигнальных систем, ответственных за увеличение устойчивости миокарда к ишемии-реперфузии. Мы предположили, что у старых животных наряду со взрослыми в этих условиях снижается чувствительность сердца к образованию митохондриальных пор [3].

Ранее на модели ишемии-реперфузии миокарда нами показано, что при открытии митохондриальных пор в коронарное русло выделяется фактор митохондриального происхождения [2], который легко идентифицируется спектрофотометрически по всплеску изменения оптической плотности раствора и может служить маркером открытия митохондриальных пор. У животных, прошедших курс гипоксических тренировок, на длине волны 240–250 нм мы практически не регистрировали подъема плотности поглощения раствора, оттекавшего от сердца в 1-ю мин реперфузии, а в контрольной серии эта величина составляла  $\Delta 0,044 \pm 0,017$  усл. ед. Результаты спектрофотометрического анализа свидетельствовали о невысоком содержании фактора в пробах раствора у старых морских свинок, прошедших курс гипоксического preconditionирования и, соответственно, меньшем количестве митохондриальных пор, образованных после восстановления коронарного потока. Это коррелировало с данными о сократительной функции миокарда и его кислородном обмене на реперфузии.

Таким образом, у старых животных, как и у молодых [3] гипоксическое preconditionирование уменьшало чувствительность сердца к образованию митохондриальных пор, о чем свидетельствовало снижение количества митохондриального фактора, выделяемого в коронарное русло при реперфузии.

Защитное влияние гипоксии на процессы активации митохондриальных пор в сердце подтвердилось и существенно меньшей степенью реперфузионных нарушений функции миокарда у них.

Данные экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что гипоксическое preconditionирование обладает значительным эндогенным кардиопротективным потенциалом [7]. Полученные нами результаты об эффективности гипоксических тренировок в условиях старения организма согласуются с выводами других исследователей. Так, preconditionирование умеренной гипобарической гипоксией повышало выносливость к физической нагрузке у людей пожилого возраста – как здоровых, так и с патологией сердца [6].

Молекулярные механизмы гипоксического preconditionирования в настоящее время изучены недостаточно. Известно, что гипоксический стресс вызывает в клетках ряд адаптивных реакций, приводящих к изменению метаболизма и экспрессии генов. Защитный эффект гипоксического preconditionирования частично реализуется через умеренную активацию продукции оксида азота [1, 5]. В условиях гипоксии изменяется регуляция экспрессии генов индуцибельной NO-синтазы – iNOS, а хроническая и острая гипоксия увеличивают активность митохондриальной NOS [8]. Угнетение активности NOS с помощью L-NAME полностью снимало протективное действие хронической гипоксии к развитию постишемических нарушений деятельности сердца, а введение донора NO – S-нитрозоглутатиона интактным животным имело защитный характер [11]. Хорошо известно, что оксид азота является модулятором открытия митохондриальных пор, а его защитное действие на миокард при реперфузии ишемизированного сердца реализуется посредством угнетения  $Ca^{2+}$ -индуцируемого открытия митохондриальных пор [4].

### Выводы

1. Одним из способов повышения устойчивости сердца старых животных к повреждающим воздействиям ишемии-реперфузии является использование умеренной гипобарической гипоксии в режиме preconditionирования.
2. Это приводит к снижению чувствительности сердца к открытию митохондриальных пор и соответственно ограничению степени ишемического и реперфузионного нарушения функции миокарда.

### Литература

1. Защитный эффект гипоксического preconditionирования на устойчивость к стрессу крыс линии Крушинского-Молодкиной, генетически предрасположенных к аудиогенной эпилепсии / В.П.Реутов, А.Л.Крушинский, В.С.Кузнецов [и др.] // Нур. Мед. Ж. – 2004. – Т. 12, № 3-4. – С. 52-55.
2. Сагач В.Ф. Фактор, який вивільнюється під час реперфузії ішемізованого серця, може бути маркером відкриття митохондріальної пори / В.Ф.Сагач, Т.В.Шиманська, С.М.Надточій // Фізіол. ж. – 2003. – Т. 49, № 4. – С. 6-12.

3. Вивчення впливу гіпоксичного прекодицювання на розвиток реперфузійних порушень функції серця та його чутливість до утворення мітохондріальних пор / В.Ф.Сагач, Т.В.Шиманська, С.М.Надточій [и др.] // Доповіді НАН України. – 2006. – № 3. – С. 159-163.
4. NO-зависимая модуляция чувствительности открытия митохондриальной поры при ишемии/реперфузии изолированного сердца / Т.В.Шиманская, Ф.В.Добровольский, Г.Л.Вавилова [и др.] // Рос. физиол. ж. им. И.М.Сеченова. – 2009. – Т. 95, № 1. – С. 28-37.
5. Adaptation to chronic hypoxic confers tolerance to subsequent myocardial ischemia by increased nitric oxide production / J.E.Baker, P.Holman, V.Kalyanaraman [et al.] // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1999. – Vol. 874. – P. 236-253.
6. Intermittent hypoxia increases exercise tolerance in elderly men with and without coronary artery disease / M.Burtscher, O.Pachinger, I.Ehrenbourg [et al.] // Int. J. Cardiol. – 2004. – Vol. 96, № 2. – P. 247-254.
7. Improvement of myocardial perfusion in coronary patients after intermittent hypobaric hypoxia / M.Pilar Valle, F.García-Godos, O.O.Woolcott [et al.] // J. Nucl. Cardiology. – 2006. – Vol. 13, № 1. – P. 69-74.
8. Heart mitochondrial nitric oxide synthase. Effects of hypoxia and aging / L.B.Valdez, T.Zaobornyj, S.Alvarez [et al.] // Mol. Asp. Medicine. – 2004. – Vol. 25. – P. 49-59.

### ЗАХИСНИЙ ВПЛИВ ГІПОКСИЧНОГО ПРЕКОДИЦІОНУВАННЯ НА ПРОЦЕСИ АКТИВАЦІЇ МІТОХОНДРІАЛЬНИХ ПОР У СЕРЦІ СТАРИХ ТВАРИН

*Т.В.Шиманська*

**Резюме.** В експериментах на ізольованих серцях старих морських свинок було показано, що гіпоксичне прекодицювання знижує їх чутливість до утворення мітохондріальних пор, про що свідчила значно менша кількість мітохондріального чинника, що вивільнювався в коронарне русло після ішемії. Захисний вплив гіпоксичних тренувань на процеси активації мітохондріальних пор у серці підтверджувався й істотно меншим ступенем реперфузійних порушень функції міокарда в тренуваних тварин старого віку.

**Ключові слова:** старіння, гіпоксичне прекодицювання, ішемія-реперфузія, мітохондріальна пора.

### PROTECTIVE EFFECT OF HYPOXIC PRECONDITIONING ON THE PROCESSES OF ACTIVATION OF MITOCHONDRIAL PORES IN THE HEART OF OLD ANIMALS

*T.V.Shimanskaya*

**Abstract.** In experiments on isolated hearts of old guinea-pigs it was demonstrated that hypoxic preconditioning reduces their sensitivity to the formation of mitochondrial pores. It was evidenced of a considerably lower amount of the mitochondrial factor, released into the coronary bloodstream after ischemia. The protective effect of hypoxic trainings on the processes of activation of the mitochondrial pores in the heart was also confirmed by a considerably lower degree of reperfusion of myocardial dysfunctions in trained animals of old age.

**Key words:** aging, hypoxic preconditioning, ischemia-reperfusion, mitochondrial pore.

A.A.Bohomolets' Institute of Physiology of Ukraine's NAS (Kiev)

Рецензент – доц. Р.С.Булик

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol.13, №4.–P.268-270

Надійшла до редакції 2.07.2009 року