

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЕЙ EX VIVO ДЛЯ РАЗРАБОТКИ СРЕДСТВ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ПРОФИЛАКТИКИ ОСЛОЖНЕНИЙ COVID-19

Д. С. Лаптев [✉], С. Г. Петунов, О. В. Нечайкина, Д. В. Бобков, А. С. Радиллов

Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства, Ленинградская область, Россия

COVID-19 — заболевание, характеризующееся поражением нижних дыхательных путей, формированием острого респираторного дистресс-синдрома, в тяжелых случаях — развитием полиорганной недостаточности, в том числе острой сердечной недостаточности и формированием кардиомиопатии. Целью работы было оценить эффективность разрабатываемых средств патогенетической терапии и профилактики осложнений COVID-19 с использованием моделей изолированных легких и сердца *ex vivo*. Исследования проводили на изолированных органах белых крыс с анализом динамики функциональных показателей. В качестве средства экспериментальной патогенетической терапии и профилактики осложнений COVID-19 использовали аминокислотно-пептидный комплекс (АПК) из термически обработанного гидролизата молочного белка. Добавление АПК в перфузат изолированного сердечно-легочного комплекса способствовало снижению скорости формирования отека легких в опытной группе, при этом масса органа была в 1,5 раза меньше, чем в контрольной группе ($p = 0,0158$). Показана тенденция к снижению сопротивления дыхательных путей. Применение АПК способствовало поддержанию сократительной активности изолированного миокарда в условиях ишемии-реперфузии: увеличение конечного диастолического давления было на 34% меньше по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Кардиопротекторное действие АПК обусловлено эндотелий-зависимыми механизмами. Метод *ex vivo* обладает высокой информативностью, позволяет провести оценку реактивности изолированных органов при действии биологически активных веществ и определить возможности компенсации функциональных изменений.

Ключевые слова: изолированное сердце, ишемия, изолированное легкое, отек легких, COVID-19

Вклад авторов: Д. С. Лаптев — экспериментальная часть, сбор информации, обработка данных; С. Г. Петунов — обработка и интерпретация данных, общее руководство; О. В. Нечайкина — экспериментальная часть, сбор информации; Д. В. Бобков — обработка данных; А. С. Радиллов — обработка и интерпретация данных.

Соблюдение этических стандартов: все работы с животными выполняли с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей.

✉ **Для корреспонденции:** Денис Сергеевич Лаптев
ст. Капитолово, корп. 93, г. п. Кузьмолловский, Всеволожский район, 188663; lapden@mail.ru

Статья получена: 15.09.2020 **Статья принята к печати:** 25.11.2020 **Опубликована онлайн:** 12.12.2020

DOI: 10.47183/mes.2020.020

USING EXPERIMENTAL EX VIVO MODELS TO DEVELOP COVID-19 PATHOGENETIC THERAPY AND COMPLICATIONS PREVENTION AGENTS

Laptev DS [✉], Petunov SG, Nechaykina OV, Bobkov DV, Radilov AS

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology FMBA, Leningrad region

COVID-19 is a disease characterized by damage to the lower respiratory tract, development of the acute respiratory distress syndrome, in severe cases — multiple organ failure, including acute heart failure and cardiomyopathy. This study aimed to evaluate the effectiveness of the developed COVID-19 pathogenetic therapy and complications prevention agents using the *ex vivo* isolated lung and heart models. Isolated organs of white rats were used for the research; the dynamics of functional indicators were analyzed. An amino acid-peptide complex (APC) from a thermally treated milk protein hydrolyzate was used as the experimental COVID-19 pathogenetic therapy and complications prevention agent. Introduction of the APC to the isolated cardiopulmonary complex perfusate slowed down development of pulmonary edema in the experimental group; the organ's weight was 1.5 times less than in the control group ($p = 0.0158$). We have also registered an airway resistance downtrend. APC supported contractile activity of the isolated myocardium suffering ischemia-reperfusion: the growth of the left ventricular end diastolic pressure was 34% smaller than that registered in the control group ($p < 0.05$). The APC's cardioprotective effect relies on the endothelium-dependent mechanisms. The *ex vivo* method is highly informative. It allows assessing reactivity of the isolated organs exposed to biologically active substances and determining the possibilities of compensating for functional changes.

Keywords: isolated heart, ischemia, isolated lung, pulmonary edema, COVID-19

Author contribution: Laptev DS — experimental part, information collection, data processing; Petunov SG — data processing and interpretation, general guidance; Nechaykina OV — experimental part, information collection; Bobkov DV — data processing; Radilov AS — data processing and interpretation.

Compliance with ethical standards: all work with animals was carried out in conformity to the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Denis S. Laptev
st. Kapitolo, gor. pos. Kuzmolovsky, 93, Vsevolozhsky rajon, 188663; lapden@mail.ru

Received: 15.09.2020 **Accepted:** 25.11.2020 **Published online:** 12.12.2020

DOI: 10.47183/mes.2020.020

SARS-CoV-2 относится к группе высокопатогенных коронавирусов, вызывающих развитие клинического синдрома, известного как новая коронавирусная инфекция (COVID-19). При тяжелом течении COVID-19 представляет собой системное заболевание, характеризующееся поражением нижних дыхательных путей, развитием пневмонии, острого респираторного дистресс-синдрома

(ОРДС), «цитокинового шторма» и повышением уровня биомаркеров повреждения сердца [1].

Основные клинические симптомы развития инфекции, вызванной SARS-CoV-2, связаны с формированием дыхательной недостаточности. Это обусловлено проникновением SARS-CoV-2 в клетки-мишени, имеющие рецепторы ангиотензинпревращающего фермента II типа

(ACE2). Данный фермент экспрессируется, в частности, на пневмоцитах II типа (AT2) легких, в энтероцитах эпителия тонкой кишки, в сосудистом эндотелии и в кардиомиоцитах. В легких SARS-CoV-2 вызывают десквамацию пневмоцитов II и I типов, приводящую к альвеолярной дисфункции, снижению уровня сурфактанта, накоплению жидкого экссудата в альвеолярном пространстве и отеку легкого, что резко снижает эффективность внешнего дыхания. Эта стадия характеризуется умеренными конституциональными симптомами и определяет начальную реакцию врожденного иммунитета [2].

Морфологические изменения легких у пациентов, перенесших SARS-CoV-2, включают в себя наличие отека с плевральным выпотом, очаговыми кровоизлияниями и слизисто-гнойным отделяемым в воздухоносных путях. Отличительный гистологический признак, наблюдаемый на более поздних стадиях, — диффузное поражение легких с экссудацией фибрина в альвеолярных пространствах с септальным и альвеолярным фиброзом [3, 4]. Усиление воспалительной реакции (даже при уменьшении вирусной нагрузки) приводит к системному воспалению [1], которое характеризуют полиорганная недостаточность и повышение количества ключевых маркеров воспаления.

Развитие миокардита при COVID-19 без признаков прямой вирусной инфильтрации свидетельствует о том, что сердце является одной из мишеней системного воспаления [5], при этом биомаркеры повреждения сердца и электрокардиографические нарушения коррелируют с повышенными уровнями маркеров воспаления [6, 7].

Повреждение миокарда и сердечная недостаточность являлись причиной смерти от COVID-19 в одной из когорт г. Ухань (КНР) в 40% случаев либо самостоятельно, либо в сочетании с дыхательной недостаточностью. При этом риск смертности, связанный с острым повреждением миокарда, был более значимым, чем возраст, сахарный диабет, хронические заболевания легких или предшествующие сердечно-сосудистые заболевания в анамнезе [6, 8, 9]. Таким образом, поражение сердца является как преобладающим, так, по-видимому, и прогностическим при COVID-19.

Механизмы повреждения сердца SARS-CoV-2 практически не изучены, но, вероятно, обусловлены как прямым инфицированием миокарда, так и последствием дыхательной недостаточности, гипоксемии, системного воспалительного ответа. Сигнальные пути, связанные с ACE2, высоко экспрессированными в сердце, также могут играть определенную роль в повреждении миокарда [9].

Значительная тяжесть клинических проявлений и последствий COVID-19 в качестве одной из приоритетных задач ставит необходимость разработки препаратов для эффективного предупреждения развития тяжелых состояний, проявляющихся в первую очередь острым повреждением легких и сердца. Доклиническая оценка эффективности фармакологических средств требует использования экспериментальных моделей, позволяющих дать адекватную поставленным задачам количественную характеристику динамики параметров функциональной активности органов-мишеней. Высокой информативностью в данном отношении обладают эксперименты *ex vivo* с изолированными органами, использование которых позволяет осуществить объективную регистрацию параметров активности органов.

Целью данной работы было продемонстрировать возможности использования изолированных органов — сердца и легкого в качестве моделей в доклинических

исследованиях эффективности разрабатываемых средств патогенетической терапии и профилактики осложнений COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на изолированных легких и сердце белых крыс-самцов линии Wistar массой 280–360 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область). Экспериментальных животных содержали в условиях, соответствующих Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Для исследований применяли здоровых половозрелых животных, прошедших карантин не менее 10–14 дней. В помещениях для содержания животных контролировали параметры микроклимата (температура 20 ± 1 °C, относительная влажность воздуха $60 \pm 5\%$), а также качество подстилочного материала. Животные получали стандартную диету в виде гранулированного корма. В помещениях содержания экспериментальных животных был установлен режим освещения 12 ч день/ 12 ч ночь.

Модель «изолированное легкое»

Модель позволяет оценить, помимо газообменной функции, участие системы внешнего дыхания в метаболизме биологически активных веществ и связанной с ним микроциркуляции в малом круге кровообращения (МКК). Данная модель может быть использована при изучении патогенеза заболеваний бронхолегочного аппарата, в том числе формирования отека легких, а также при оценке эффективности применения средств симптоматической и патогенетической терапии органов дыхательной системы.

Для наркотизации экспериментальных животных использовали 20%-й раствор уретана, который вводили внутривенно и подкожно из расчета 1,2 г/кг массы тела животного. После срединной лапаротомии вводили гепарин в нижнюю полую вену с целью предотвращения тромбообразования. Далее производили канюлирование трахеи на уровне щитовидной железы и подключение животного к аппарату искусственной вентиляции легких (частота дыхания — 50 мин⁻¹, дыхательный объем — 1,7 мл, минутный объем дыхания — 85 мл/мин).

После вскрытия грудной полости канюлировали легочную артерию, которую в дальнейшем подключали к перистальтическому насосу экспериментальной установки, тем самым моделировали малый круг кровообращения. После извлечения из грудной клетки органокомплекса «сердце-легкие» его взвешивали и помещали в рабочую камеру установки «Isolated lung system» (Radnoti; Ирландия) (рис. 1), в которой поддерживали оптимальные температурно-влажностные условия для исследуемого объекта.

По окончании первых 30 мин (стабилизационный период) дыхательный объем постепенно (в течение 15 мин) увеличивали с 1,7 до 2,3 мл. Перфузию сосудов малого круга кровообращения осуществляли раствором Кребса–Хензелейта следующего состава (в мМ): NaCl (118,99); KCl (4,69); NaHCO₃ (25,00); KH₂PO₄ (1,18); MgSO₄ × 7H₂O (1,17); CaCl₂ × 2H₂O (2,5); EDTA (0,03); глюкоза (5,5). Приготовленный раствор аэрировали газовой смесью, содержащей 5% CO₂ и 95% O₂. В экспериментальной группе в обогащенный карбогеном раствор Кребса–Хензелейта добавляли активный компонент БАД в концентрации 1×10^{-6} М. Скорость потока перфузата достигала

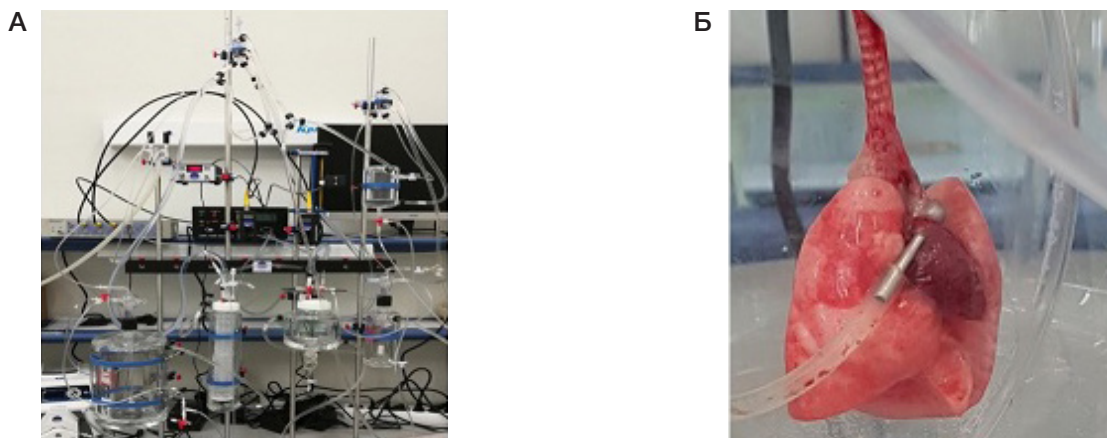


Рис. 1. Система «изолированное легкое». А. Общий вид установки. Б. Органокomплекс «сердце-легкие»

1,5 мл/мин. Продолжительность перфузии составляла 1,5 ч, по окончании эксперимента органокomплекс «сердце-легкое» вновь взвешивали. Формирование отека в данных экспериментальных условиях связано с пониженным онкотическим давлением перфузата, вследствие чего жидкость из перфузата (малого круга кровообращения) диффундирует в интерстиций альвеол.

Регистрируемые параметры: давление перфузии в малом круге кровообращения; масса легких; интратрахеальное давление.

Модель «изолированное сердце»

При проведении эксперимента на модели «изолированное сердце» эвтаназию животных проводили методом цервикальной дислокации. При выполнении широкого доступа использовали билатеральную трансабдоминальную торакотомию. После обнажения сердца захватывали большим и указательным пальцами левой руки за основание, осторожно подтягивая вентрально и вниз, ножницами перерезали магистральные сосуды. Сразу после извлечения сердца из грудной полости его помещали в физиологический раствор Кребса–Хензелейта следующего состава (в мМ): NaCl — 118,99; KCl — 4,69; NaHCO₃ — 25; KH₂PO₄ — 1,18; MgSO₄ × 7H₂O — 1,17; CaCl₂ × 2H₂O — 2,5; EDTA — 0,03; C₆H₁₂O₆ — 5,5. Аорту фиксировали к канюле перфузионной установки «Langendorff System» (Panlab; Испания) зажимом типа «крокодил», а затем лигатурами (рис. 2).

Перфузию сердца осуществляли через канюлю, закрепленную в аорте, при этом перфузат ретроградно поступал в левый желудочек. В качестве перфузата использовали подогретый (до 37 °С) раствор Кребса–Хензелейта. Для приведения его pH к физиологическому уровню (7,4) и адекватной оксигенации сердца раствор непрерывно насыщали карбогеном. Перфузат подавали в режиме постоянного потока из расчета 10 мл в минуту на 1 г сырого веса сердца. Контролем адекватности перфузии служило давление (не менее 50 мм рт. ст.) в контуре «насос–аортальная канюля».

Величину давления в левом желудочке определяли катетером с полиэтиленовым баллоном. Параметры сократительной активности сердца регистрировали с помощью системы «PowerLab Data acquisition system 8/30» (ADInstruments; США) с последующей обработкой в программе «LabChartProUpgrade 7.0» (ADInstruments; США).

Наиболее значимые регистрируемые показатели: пульсовое давление (ПД), частота сердечных сокращений (ЧСС), конечное диастолическое давление (КДД), характеризующее способность миокарда обеспечивать сердечный выброс и создавать необходимое давление в сосудистой системе. Дополнительно рассчитывали первую производную давления по времени (+dP/dt и -dP/dt), отражающую скорость изменения давления в левом желудочке. Динамика показателей +dP/dt и -dP/dt отражает функциональное состояние желудочков: энергетический метаболизм, проницаемость ионных каналов мембран клетки и саркоплазматического ретикулаума.

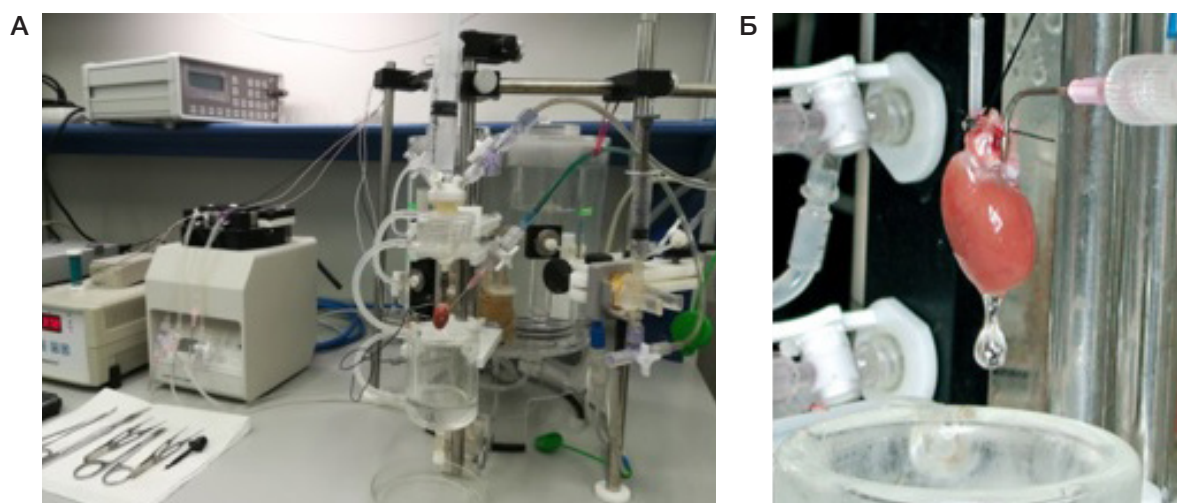


Рис. 2. Установка изолированного сердца по Лангендорфу. А. Общий вид. Б. Канюлированное сердце

Таблица 1. Масса органокомплекса «сердце-легкие» (M ± SD), n = 7

Экспериментальная серия	Масса органокомплекса «сердце-легкие», г		Прирост веса, %
	в начале эксперимента	в конце эксперимента	
Контроль	4,9 ± 0,5	14,9 ± 3,9	300,7 ± 66,4
Опыт (1 ± 10 ⁻⁶ М)	4,9 ± 0,7	10,1 ± 2,3	205,7 ± 42,8*

Примечание: * — статистически значимые различия с контрольной серией экспериментов.

После окончания стабилизационного периода (30 мин) в перфузат добавляли активный компонент БАД в концентрации 1×10^{-6} М. Время экспозиции составляло 10 мин, что определялось скоростью формирования сосудистых реакций на действие вазоактивной субстанции.

Для оценки устойчивости изолированного миокарда к ишемии/реперфузии выполняли тотальную ишемию путем прекращения перфузии в течение 30 мин при 37 °С с последующей реперфузией также в течение 30 мин.

При анализе результатов оценивали динамику функциональных показателей изолированного сердца и легких по сравнению с фоновыми значениями и контролем. Статистическую обработку проводили в программе «GraphPad Prism 5.04» (GraphPad Software Inc.; США). Для сравнения результатов при нормальном распределении данных использовали *t*-критерий Стьюдента; при распределении данных, отличных от нормального, применяли *T*-критерий Уилкоксона для связанных выборок; для оценки межгрупповых различий применяли *U*-критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

В качестве потенциального средства экспериментальной патогенетической терапии и профилактики осложнений COVID-19 выбран АПК (ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА; Россия) из термически обработанного гидролизата молочного белка, обогащенного пролином и аланином, включающий линейные и циклические пептиды. Активные компоненты комплекса способствуют улучшению кровоснабжения тканей посредством стимуляции эндотелиальной синтазы оксида азота, воздействие на которую определяет кардиопротекторный эффект АПК [10]. Перспективным представляется использование АПК в качестве профилактического средства при риске возникновения инсульта, терапии последствий ишемических поражений головного мозга, а также уменьшения выраженности отека легких за счет снижения сопротивления сосудов МКК [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проведенного исследования установлено, что масса органокомплекса «сердце-легкие» в обеих группах в результате 1,5-часовой перфузии увеличивалась, однако в опытной группе увеличение было статистически значимо меньше ($p < 0,05$), чем в контроле (табл. 1).

Прирост массы органокомплекса в контрольной серии значительно увеличивается, начиная с 45–50 минуты экспозиции, тогда как в опытной серии сохраняется на одном уровне (рис. 3).

Давление перфузии в сосудах малого круга кровообращения в опытной и контрольной группах на протяжении эксперимента не имело существенных различий (рис. 4), из чего можно заключить, что применение АПК не оказывает существенного влияния на их резистентность.

В экспериментах выявлена тенденция к снижению сопротивления дыхательных путей изолированных легких при введении в перфузат компонентов АПК, что может свидетельствовать о меньшей выраженности отека легких в опытной серии (рис. 5).

На модели изолированного по Лангендорфу сердца установлено, что активные компоненты АПК в концентрации 1×10^{-6} М, соответствующей дозе 50 мг/кг при внутривенном применении, не оказывают существенного влияния на функциональные параметры интактного сердца крысы, однако способствуют эффективному ($p < 0,05$) снижению конечно-диастолического давления в условиях ишемии-реперфузии (рис. 6) и поддержанию скорости развития сокращения и расслабления миокарда в течение сердечного цикла (табл. 2).

Использование блокатора синтазы оксида азота L-NAME приводило к существенному росту конечного диастолического давления, что свидетельствует о снижении эффективности расслабления миокарда и

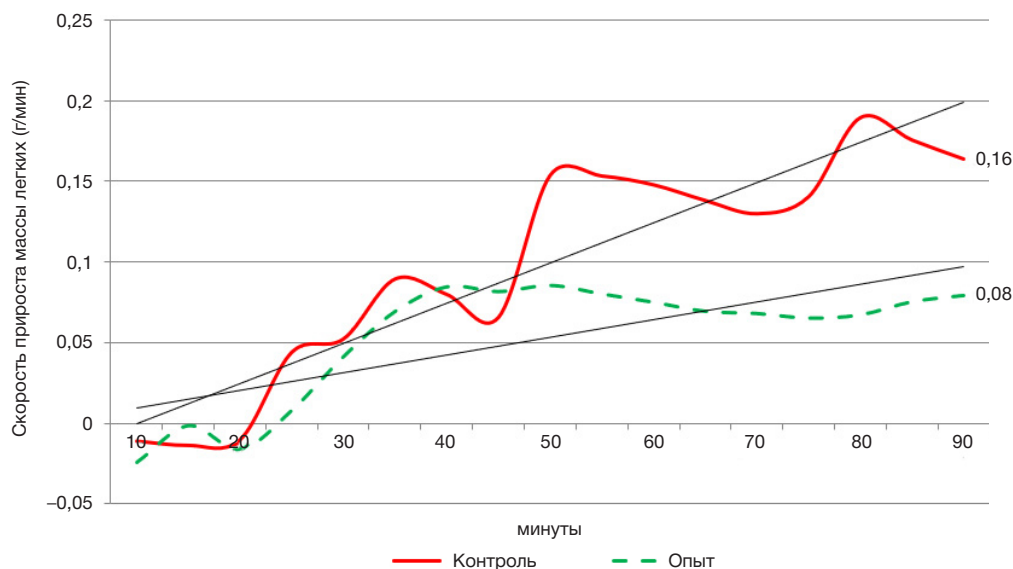


Рис. 3. Скорость прироста массы легких в опытной и контрольной группах

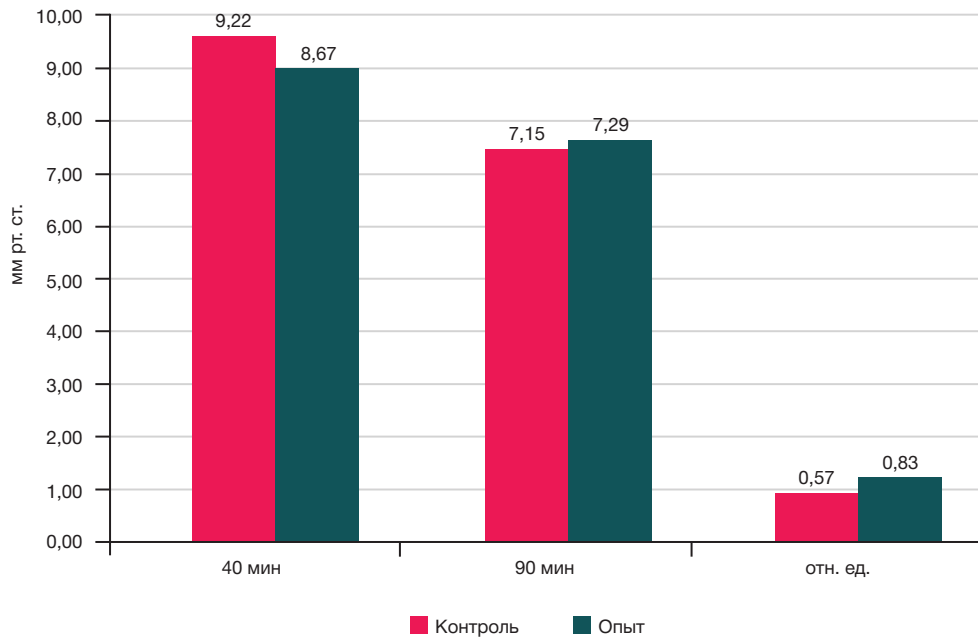


Рис. 4. Динамика давления перфузии изолированных легких. В относительных единицах приведено отношение исходного давления перфузии к конечному его диастолическому наполнению. Указанные изменения сопровождались также уменьшением пульсового давления, что в совокупности способствовало уменьшению нагнетательной функции сердца.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Активные компоненты исследуемого АПК эффективно регулируют энергетический метаболизм клеток, способствуя предпочтительной утилизации более энергоемких длинноцепочечных жирных кислот, что обеспечивает поддержание энергетического гомеостаза, особенно в условиях энергетического дефицита. Посредством регуляции транскрипционной активности PPAR δ повышается выносливость организма, происходит улучшение кровоснабжения тканей и ускорение липолиза [11]. АПК способствует усвоению глюкозы путем непосредственной транслокации транспортеров

семейства GLUT на плазматическую мембрану, что обуславливает перспективность его применения при митохондриальной дисфункции [12]. Одной из мишеней АПК служит эндотелиальная синтаза оксида азота, воздействие на которую определяет кардиопротекторный эффект, и является основанием применения АПК для профилактики сердечной недостаточности [13]. Кроме того, АПК способствует угнетению секреции провоспалительных цитокинов и обладает умеренной антимикробной активностью.

Согласно полученным в исследовании данным, применение АПК способствует поддержанию массы легких на стабильном уровне в течение эксперимента, возможно, вследствие снижения проницаемости аэрогематического барьера. Увеличение массы изолированного органокомплекса в течение 1,5-часовой перфузии, характеризующее скорость развития отека легких, в опытной группе было в 1,5 раза меньше, чем в контрольной ($p = 0,0158$). Различие,

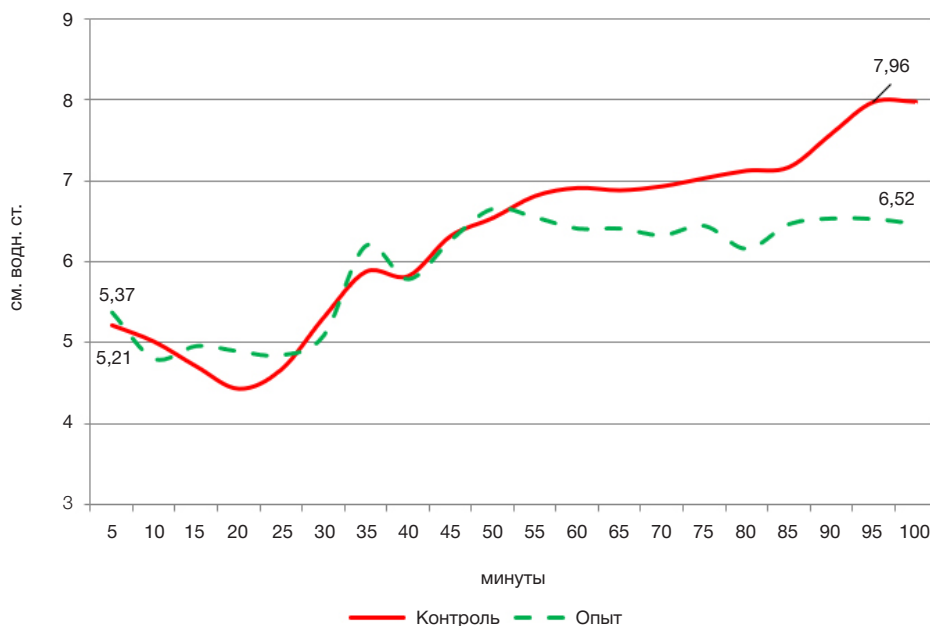


Рис. 5. Динамика интратрахеального давления в изолированных легких

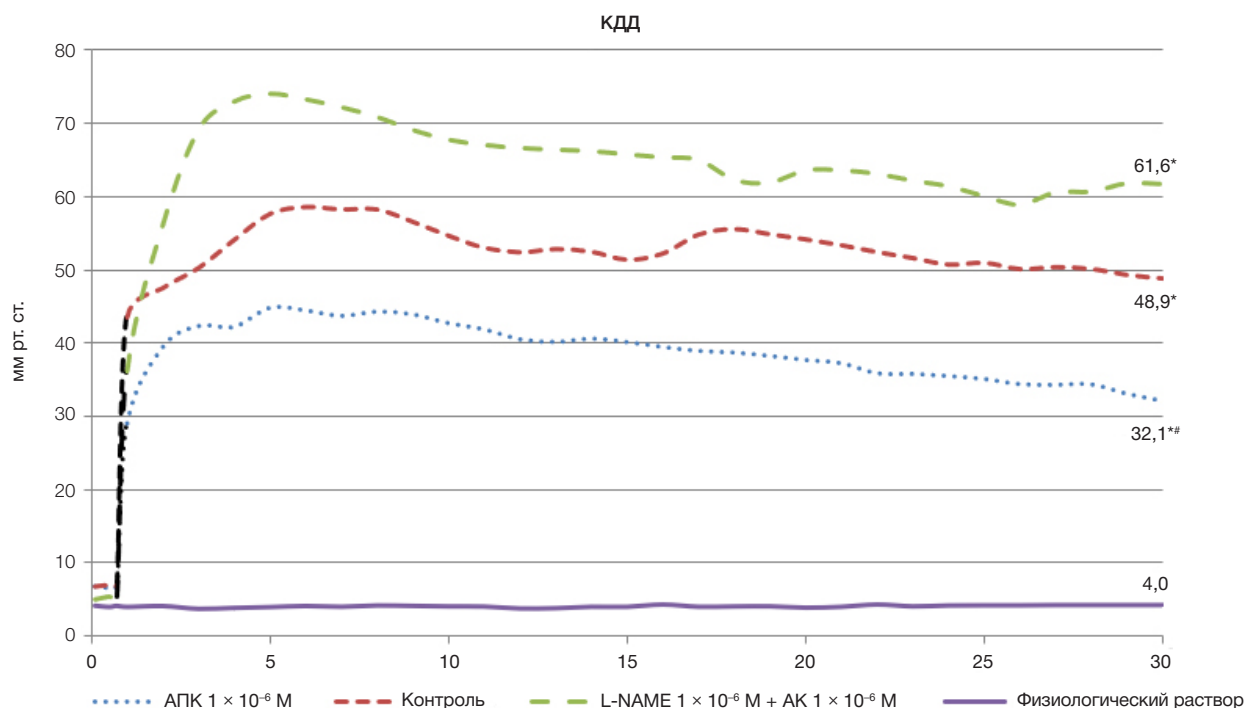


Рис. 6. Динамика конечного диастолического давления изолированного сердца во время реперфузии после 30-минутной тотальной нормотермической (37°C) ишемии при применении АПК. * — различия статистически значимы в сравнении с интактным органом; # — различия статистически значимы в сравнении с группой «реперфузия (контроль)» ($p < 0,05$)

определяемое с 40-й минуты перфузии, очевидно, вызвано большей экскурсией легких вследствие увеличения дыхательного объема (до рекомендуемых значений, согласно методике) [14]. Такое увеличение объема легких может вызывать повышение градиента давления между перфузируемыми сосудами малого круга кровообращения и альвеолярным пространством, что способствует облегчению выхода жидкости в просвет альвеол и развитию отека [15].

Эксперименты, проведенные на интактном изолированном сердце, показали отсутствие у исследуемого АПК кардиотропных эффектов, о чем свидетельствуют сохраняющиеся на исходном уровне показатели функциональной активности миокарда. Влияние ишемии опосредовано нарушением энергетического баланса сердца, в результате чего страдает его диастолическая функция, снижается пульсовое давление и сердечный выброс. При введении АПК в перфузат для изолированного сердца за 10 мин до предъявления тотальной нормотермической ишемии зарегистрирован меньший прирост конечного диастолического давления, отражающего способность миокарда к расслаблению, а также более полное

восстановление пульсового давления, максимальной скорости сокращения и расслабления левого желудочка по сравнению с контролем ($p < 0,05$) во время реперфузии. Таким образом, применение АПК при ишемических состояниях позволяет увеличить устойчивость сердца к недостаточному поступлению кислорода, энергетических субстратов и повысить стабильность клеточных мембран кардиомиоцитов в условиях реперфузии [16].

В экспериментах с блокатором синтазы оксида азота L-NAME было установлено, что механизм кардиопротекторного действия АПК эндотелий-зависим и обусловлен активацией NO-синтазы.

Таким образом, использование изолированного сердечно-легочного препарата позволяет моделировать развитие отека легких, характерное для COVID-19, и может быть использовано для оценки эффективности средств терапии и профилактики осложнений. Фармакологическое действие активных компонентов АПК представляет собой потенциальный терапевтический путь снижения размеров ишемического поражения миокарда, сохранения энергетических запасов, восстановления обмена веществ и сократительной функции [17].

Таблица 2. Показатели сократимости миокарда при использовании активных компонентов АПК. Представлены относительные данные в % к фону ($M \pm SE$), для параметра КДД приведены абсолютные данные, $n = 7$

Перфузат	ЧСС	ПД	+ dP / dt	- dP / dt	КДД (мм. рт. ст.)
Физиологический раствор, 30 мин	91,6 ± 3,4	101,5 ± 3,4	103,1 ± 2,1	96,7 ± 3,1	4,0 ± 1,6
АПК 1 × 10 ⁻⁶ М	101,0 ± 1,8	99,0 ± 2,1	99,0 ± 0,9	99,5 ± 0,7	3,9 ± 2,4
Реперфузия контроль	91,1 ± 7,1	53,7 ± 7,6*	58,7 ± 7,3*	70,3 ± 7,7*	48,9 ± 4,9*
Реперфузия АПК 1 × 10 ⁻⁶ М	95,0 ± 4,5	64,0 ± 12,5*	80,9 ± 10,6*	95,6 ± 9,2#	32,1 ± 5,7**
Реперфузия L-NAME 1 × 10 ⁻⁶ М + АПК 1 × 10 ⁻⁶ М	95,5 ± 1,9	41,2 ± 11,5*	54,9 ± 9,5*	73,2 ± 13,9*	61,6 ± 6,7*

Примечание: * — различия статистически значимы в сравнении с интактным органом; # — различия статистически значимы в сравнении с группой «реперфузия (контроль)» ($p < 0,05$).

ВЫВОДЫ

В результате проведенного исследования установлено, что применение АПК в изолированном сердечно-легочном комплексе достоверно снижает скорость развития отека легких, возможно, вследствие снижения проницаемости аэрогематического барьера для перфузата, с тенденцией к снижению интратрахеального давления. АПК обладает кардиопротективным эффектом, способствуя поддержанию эффективности расслабления миокарда в диастолу и, таким образом, снижению конечно-

диастолического давления. Использование изолированных органов (сердце и легочно-сердечный комплекс) позволяет адекватно оценить параметры функциональной активности жизненно важных органов при моделировании процессов, близких к условиям физиологической нормы, а также при патологических состояниях, в частности, отеке легких и гипоксии миокарда. Метод обладает высокой чувствительностью и позволяет оценить реактивность систем при действии биологически активных веществ в широком диапазоне концентраций, определить возможности компенсации функциональных изменений.

Литература

- Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol.* 2017; 39: 529–39. DOI: 10.1007/s00281-017-0629-x.
- Su S, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016; 24 (6): 490–502. DOI: 10.1016/j.tim.2016.03.003.
- Gu J, et al. Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *J Exp Med.* 2005; 202 (3): 415–24. DOI: 10.1084/jem.20050828.
- Nicholls JM, et al. Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome. *Lancet.* 2003; 361 (9371): 1773–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)13413-7.
- Akhmerov A, Marban E. COVID-19 and the Heart. *Circ Res.* 2020; 126 (10): 1443–55. DOI: 10.1161/circresaha.120.317055.
- Guo T, Fan Y, Chen M, Wu X, Zhang L, He T, et al. Cardiovascular implications of fatal outcomes of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol.* 2020; 5 (7): 811–8. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1017.
- Li J, Benashski SE, Venna VR, McCullough LD. Effects of metformin in experimental stroke. *Stroke.* 2010; 41: 2645–52.
- Fung G, Luo H, Qiu Y, Yang D, McManus B. Myocarditis. *Circ Res.* 2016; 118: 496–514. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306573.
- Shi S, Qin M, Shen B, Cai Y, Liu T, Yang F, et al. Association of cardiac injury with mortality in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol.* 2020; 5 (7): 802–10. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.0950.
- Gundewar S, Calvert JW, Jha S, Toedt_Pingel I, Ji SY, Nunez D, et al. Activation of AMP activated protein kinase by metformin improves left ventricular function and survival in heart failure. *Circ Res.* 2009; 104: 403–11.
- Goransson O, McBride A, Hawley SA, Ross FA, Shpiro N, Foretz M, et al. Mechanism of action of A769662, a valuable tool for activation of AMP activated protein kinase. *J Biol Chem.* 2007; 282: 32549–60.
- Barnes K, Ingram JC, Porras OH, Baros LF, Hudson ER, Fryer LG, et al. Activation of GLUT1 by metabolic and osmotic stress: potential involvement of AMP activated protein kinase (AMPK). *J Cell Sci.* 2002; 115: 2433–42.
- Procopio C, Andreozzi F, Laratta E, Cassese A, Beguinot F, Arturi F, et al. Leptin stimulated endothelial nitric oxide synthase via an adenosine 5' monophosphate activated protein kinase/Akt signaling pathway is attenuated by interaction with C reactive protein. *Endocrinology.* 2009; 150: 3584–93.
- Nelson K, Bobba C, Eren E, Spata T, Tadres M, Hayes DJr, et al. Method of isolated ex vivo lung perfusion in a rat model: lessons learned from developing a rat EVLP program. *J Vis Exp.* 2015; 25 (96): 52309. DOI: 10.3791/52309.
- Chianga C, Pai H, Liu S. Ventilator-induced lung injury (VILI) promotes ischemia/reperfusion lung injury (I/R) and NF- κ B antibody attenuates both injuries. *Resuscitation.* 2008; 79: 147–154.
- Ishikita A, Matoba T, Ikeda G, Koga JI, Mao Y, Nakano K, et al. Nanoparticle-Mediated Delivery of Mitochondrial Division Inhibitor 1 to the Myocardium Protects the Heart From Ischemia-Reperfusion Injury Through Inhibition of Mitochondria Outer Membrane Permeabilization: A New Therapeutic Modality for Acute Myocardial Infarction. *J Am Heart Assoc.* 2016; 5 (7): e003872. DOI: 10.1161/JAHA.116.003872.
- Kim AS, Miller EJ, Wright TM, Li J, Qi D, Atsina K, et al. A small molecule AMPK activator protects the heart against ischemia-reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol.* 2011; 51: 24–32.

References

- Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol.* 2017; 39: 529–39. DOI: 10.1007/s00281-017-0629-x.
- Su S, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016; 24 (6): 490–502. DOI: 10.1016/j.tim.2016.03.003.
- Gu J, et al. Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *J Exp Med.* 2005; 202 (3): 415–24. DOI: 10.1084/jem.20050828.
- Nicholls JM, et al. Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome. *Lancet.* 2003; 361 (9371): 1773–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)13413-7.
- Akhmerov A, Marban E. COVID-19 and the Heart. *Circ Res.* 2020; 126 (10): 1443–55. DOI: 10.1161/circresaha.120.317055.
- Guo T, Fan Y, Chen M, Wu X, Zhang L, He T, et al. Cardiovascular implications of fatal outcomes of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol.* 2020; 5 (7): 811–8. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1017.
- Li J, Benashski SE, Venna VR, McCullough LD. Effects of metformin in experimental stroke. *Stroke.* 2010; 41: 2645–52.
- Fung G, Luo H, Qiu Y, Yang D, McManus B. Myocarditis. *Circ Res.* 2016; 118: 496–514. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306573.
- Shi S, Qin M, Shen B, Cai Y, Liu T, Yang F, et al. Association of cardiac injury with mortality in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol.* 2020; 5 (7): 802–10. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.0950.
- Gundewar S, Calvert JW, Jha S, Toedt_Pingel I, Ji SY, Nunez D, et al. Activation of AMP activated protein kinase by metformin improves left ventricular function and survival in heart failure. *Circ Res.* 2009; 104: 403–11.
- Goransson O, McBride A, Hawley SA, Ross FA, Shpiro N, Foretz M, et al. Mechanism of action of A769662, a valuable tool for activation of AMP activated protein kinase. *J Biol Chem.* 2007; 282: 32549–60.
- Barnes K, Ingram JC, Porras OH, Baros LF, Hudson ER, Fryer LG, et al. Activation of GLUT1 by metabolic and osmotic stress: potential involvement of AMP activated protein kinase (AMPK). *J Cell Sci.* 2002; 115: 2433–42.
- Procopio C, Andreozzi F, Laratta E, Cassese A, Beguinot F, Arturi F, et al. Leptin stimulated endothelial nitric oxide synthase via an

- adenosine 5' monophosphate activated protein kinase/Akt signaling pathway is attenuated by interaction with C reactive protein. *Endocrinology*. 2009; 150: 3584–93.
14. Nelson K, Bobba C, Eren E, Spata T, Tadres M, Hayes DJr, et al. Method of isolated ex vivo lung perfusion in a rat model: lessons learned from developing a rat EVLP program. *J Vis Exp*. 2015; 25 (96): 52309. DOI: 10.3791/52309.
 15. Chianga C, Pai H, Liu S. Ventilator-induced lung injury (VILI) promotes ischemia/reperfusion lung injury (I/R) and NF- κ B antibody attenuates both injuries. *Resuscitation*. 2008; 79: 147–154.
 16. Ishikita A, Matoba T, Ikeda G, Koga JI, Mao Y, Nakano K, et al. Nanoparticle-Mediated Delivery of Mitochondrial Division Inhibitor 1 to the Myocardium Protects the Heart From Ischemia-Reperfusion Injury Through Inhibition of Mitochondria Outer Membrane Permeabilization: A New Therapeutic Modality for Acute Myocardial Infarction. *J Am Heart Assoc*. 2016; 5 (7): e003872. DOI: 10.1161/JAHA.116.003872.
 17. Kim AS, Miller EJ, Wright TM, Li J, Qi D, Atsina K, et al. A small molecule AMPK activator protects the heart against ischemia-reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol*. 2011; 51: 24–32.