

УДК 616.127-005.8-028.77-073.43-092:599.323.45

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ (ДАННЫЕ АНГИОГЕНЕЗА И УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СЕРДЦА)

Михайличенко В.Ю., Пилипчук А.А., Самарин С.А., Татарчук П.А.

*Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»,
Симферополь, e-mail: pancreas1978@mail.ru*

В работе приведена сравнительная оценка различных моделей инфаркта миокарда у крыс в эксперименте. Доказано, что наиболее целесообразной является модель – прошивание и лигирование левой желудочной артерии, как наиболее патофизиологически адаптированной для инфаркта миокарда у человека. Продемонстрировано что при развитии инфаркта миокарда снижаются сократительные способности миокарда, сопровождающиеся снижением вазодилиатирующих факторов и повышением концентрации вазоконстрикторов. Интересен факт изменения изучаемых показателей в разные сроки эксперимента (в первые часы и 1, 7, 30 сутки). Развитие инфаркта миокарда подтверждается характерными изменениями на ЭКГ и по данным морфологических исследований. Изученные факторы механизмов развития инфаркта миокарда у крыс, позволяет разработать новые методы диагностики и лечения данной патологии, для дальнейшего внедрения в клиническую практику.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, модель, патофизиологические аспекты

PATHOPHYSIOLOGICAL ASPECTS OF MODELING OF MYOCARDIAL INFARCTION IN RATS IN EXPERIMENTATION (THE MATERIALS OF ANGIOGENESIS AND ULTRASOUND STUDIES OF THE HEART)

Mykhaylichenko V.Yu., Pilipchuk A.A., Samarin S.A., Tatarchuk P.A.

*Medical Academy named after S.I. Georgievskiy, The Federal State Autonomous Educational Establishment of Higher Education «Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky»
Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Simferopol, e-mail: pancreas1978@mail.ru*

The paper provides a comparative evaluation of the different models of myocardial infarction in rats in the experiment. It is proved that the most suitable is the model – suturing and ligation of the left gastric artery, the most pathophysiological adapted for myocardial infarction in humans. It is demonstrated that the development of myocardial infarction reduced myocardial contractility associated with decreased factors of vazodilyatiruyuschih and an increase in the concentration of vasoconstrictor. Interestingly changes in the study parameters in the different periods of the experiment (in the first hours and days 1, 7, 30). The development of myocardial infarction confirmed by characteristic changes in the ECG and according to morphological studies. The studied factors of mechanisms myocardial infarction in rats, allows the development of new methods of diagnosis and treatment of this pathology, for the further introduction into clinical practice.

Keywords: myocardial infarction, model, pathophysiological aspects

В современной патофизиологической теории возникновения риска развития и прогрессирования атеросклеротического повреждения коронарных артерий, которые приводят к возникновению ИБС с ее осложнениями, относят: молекулярно-генетические маркеры возникновения и прогрессирования атеросклероза [1, 4, 5, 10-16]; эндотелиальная дисфункция, которая проявляется воспалением, повышением тромбогенности, увеличением локальной экспрессии матриксных металлопротеиназ, что повышает уязвимость атеросклеротической бляшки, приводя к ее повреждению или разрыву, провоцируя образование внутрикоронарного тромба и, как следствие ишемии, приводит к клинической манифестации ОКС [11, 12]; иммуновоспалительные изменения прослеживаются с самых ранних стадий развития атеросклеротиче-

ского поражения стенки сосуда до момента дестабилизации и повреждения атеросклеротической бляшки [7, 14, 15]; неоваскулогенез, который с одной стороны способствует компенсации ишемии в органе, а с другой способствует прогрессированию атеросклеротических бляшек и является ключевым фактором, приводящим к дестабилизации и разрыву атеросклеротической бляшки [1-16].

Патофизиологические изменения при ИМ сопровождаются, в зависимости от площади поражения, более или менее значительным снижением сократительной функции миокарда в зоне некроза и повреждения. Это явление проявляется в виде гипокинезии, акинезии и дискинезии – парадоксальным выбуханием участка миокарда в момент систолы. В менее пораженных областях наблюдается диссинхрония – за-

медление процесса сокращения по сравнению с неповрежденным миокардом. В то же время функция последнего компенсаторно возрастает за счет механизма Старлинга и повышения катехоламинов в крови. Компенсаторная гиперкинезия обычно постепенно снижается в течении первых двух недель заболевания.

Экспериментальное моделирование острого инфаркта миокарда в сочетании с классическими и современными методами исследования незаменимо в решении проблемы патогенетических механизмов развития данного заболевания и разработки новых способов его лечения. Нами был проведен анализ существующих способов моделирования острого ИМ (фармакологические, термические – воздействие высоких и низких температур, ультразвука, лазера, КВЧ, токсинов, стресса и др.), в результате которого, мы остановились на 2 общепринятых методиках. Нам импонировала методика воздействия тока на миокард, которая легка в исполнении и не требует особых технологических затрат. Вторая методика заключалась в хорошо воспроизводимой технике – перевязки коронарной артерии, которая проста в исполнении и полно имитирует ситуацию, возникающую при данной патологии. Помимо прочего, она позволила четко локализовать инфаркт в одной области сердца у всех животных (что невозможно при фармакологическом способе, использовании токсинов, стрессе), приблизительно одинаковой площади, 100% возникновение процесса и в отличие от физических моделей альтерации (температурным режимом, ультразвуком, высокочастотным током и т.д.) при патогистологическом исследовании обнаруживаются те же изменения, что и при инфаркте миокарда у человека.

Материалы и методы исследования

Экспериментальное исследование проводилось на инбредной линии крыс Вистар-Кайото (№ 30), которые содержались в обычных условиях вивария ГУ «ИНВХ им В.К. Гусака НАМН Украины». Исследования на животных выполнялись при соблюдении международных правил биоэтики, предъявляемые международными организациями и ассоциациями, протокол экспериментального исследования был одобрен локальным этическим комитетом (председатель – проф. А.А. Штутин) и соответствует Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации 2010 г. пересмотра.

Прежде чем приступить к выполнению основной части экспериментального исследования, мы решили исследовать две модели инфаркта миокарда (путем высокочастотной электродеструкции и лигирования коронарного сосуда), а далее использовать наиболее приемлемую для поставленных задач. Моделирование ИМ с помощью высокочастотного электроповреждения проводилось на фоне наркоза. Выполняли

торакотомию и высокочастотную электродеструкцию аппаратом ЭХВЧ 120 (по разработанной нами методике).

У всех крыс в первые часы после высокочастотной электродеструкции было зарегистрировано типичная для острого ИМ электрофизиологическая картина повреждения миокарда со значительным подъемом сегмента ST выше изоэлектрической линии, которое значительно отличалось от начальной ЭКГ начальной (то есть в начале эксперимента) (рис. 1, 2). В ранние сроки непосредственно после нанесения повреждения формировался очаг коагуляционного некроза в миокарде. При этом отмечалась коагуляция цитоплазматических белков, отсутствие поперечной пестроты волокон, гемолиз эритроцитов в капиллярах.

На третьи сутки после нанесения повреждения формировался очаг коагуляционного некроза, вокруг которого формировалось демаркационное воспаление с наличием в инфильтрате большого количества нейтрофилов. К концу 1 недели эксперимента наблюдались практически полный лизис некротизированных волокон, разрастание грануляционной ткани, количество нейтрофилов, инфильтрирующих участок некроза, уменьшилось, на смену им приходили лимфоциты и макрофаги.

К концу 2 недели эксперимента в зоне повреждения наблюдалось полное отсутствие некротизированных волокон, на их месте обнаруживалась молодая соединительная ткань с начальными признаками коллагенизации.

Характерно в эти сроки после нанесения повреждения была и электрофизиологическая динамика. Все вышесказанное свидетельствует об адекватности модели в сроки 2 недель для подострого ИМ с переходом в стадию рубцевания.

Следует отметить, что модель технически проста в выполнении по сравнению с лигированием коронарного сосуда, но имеет ряд недостатков: непосредственное воздействие тока высокой частоты и коагуляция всех капилляров и клеточных структур в зоне повреждения. При данной модели не будет зон оглушенного и гибернирующего миокарда. К тому же следует отметить, что несмотря на одинаковую частоту тока и экспозицию у большого количества животных (более 50%) получался субэпикардиальный инфаркт, а у других прожигание всей стенки левого желудочка, что приводило к моментальной смерти крысы (около 20%). Все вышесказанное привело нас к отказу от данной модели острого инфаркта миокарда у крыс. Поэтому в эксперименте мы брали модель ИМ путем лигирования коронарного сосуда.

Смертность в ходе наших экспериментов при моделировании инфаркта миокарда по нашей методике составляла у крыс Вистар 15%. Главной её причиной являлись ранние ишемические аритмии. Данный результат полностью соответствует данным, приводимым в оригинальной методике Selye H. (Selye H., 1960), при которой смертность составляет 40-60% по данным различных авторов. Для экспериментов отбирали животных с трансмуральными инфарктами, наличие которых определяли визуально и по наличию зубца и инверсии Т на ЭКГ в I отведении. При этом величина зубца составляла не менее 0,15 мВ.

После моделирования ИМ изучалось ЭКГ, УЗИ сердца в покое и с изопропилнорадреналиновой нагрузкой, показатели оксида азота, эндотелина I и VEGF.

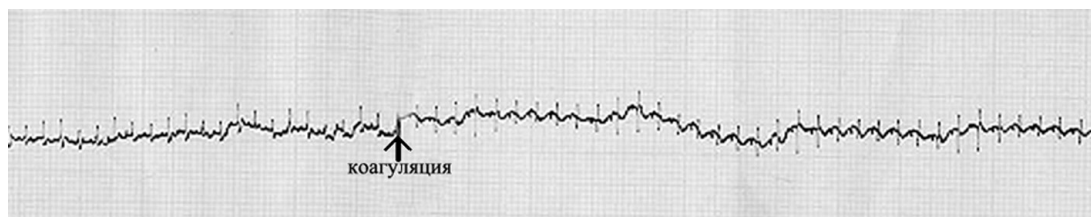


Рис. 1. Электрокардиограмма крысы после нанесения электроповреждение

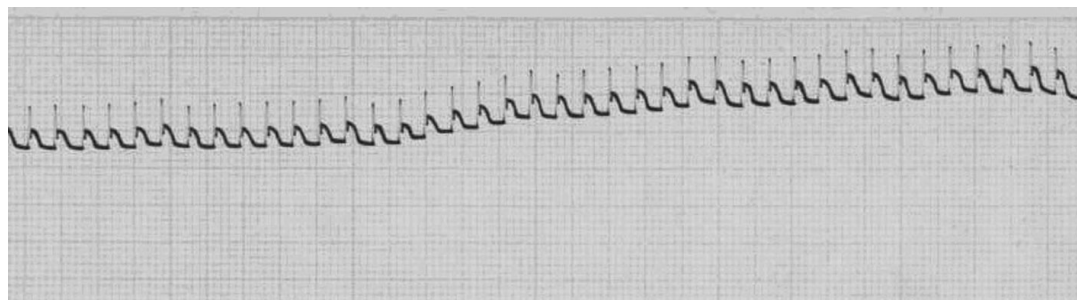


Рис. 2. Формирование некроза (первые сутки после электроповреждения)

Результаты исследования и их обсуждение

Через 1 час после ИМ, концентрация оксида азота возрастает с $0,58 \pm 0,03$ до $0,86 \pm 0,04$ мкг/мл, далее, через 6 часов в группе с ИМ содержание NO возрастает до $0,92 \pm 0,03$ мкг/мл и достигает максимального значения к концу 1 суток и составляет $1,12 \pm 0,05$ мкг/мл. К 7 суткам после ИМ уровень оксида азота снижается и эта тенденция сохраняется до конца 1 месяца, когда уровень вазодилатора достигал $0,88 \pm 0,03$ мкг/мл, что гораздо выше нормы. Во все временные сроки после ИМ концентрация оксида азота продолжала снижаться. Через 1 месяц после ИМ уровень NO достигал $0,96 \pm 0,05$ мкг/мл, тем не менее оставался на более высоком уровне по сравнению с нормой.

При изучении динамики вазоконстриктора эндотелина 1 в группе ИМ, установили 2-х кратное увеличение содержания по сравнению с нормой ($10,6 \pm 0,7$ моль/мл). К концу 7 суток концентрация эндотелина 1 сохранялась на высоком уровне. Максимальный пик $12,9 \pm 0,4$ моль/мл данный показатель достигал к 1 суткам, а к концу опыта возвращался к норме. При изучении динамики концентрации VEGF, который отражает интенсивность ангиогенеза, установили, что до 6 часов после развития ИМ, данный показатель не отличался от контрольных значений.

К 6 часу в группе с ИМ содержание VEGF возрастало до $126,72 \pm 24,05$ пг/мл и достигало максимального пика к концу 1 суток – $220,45 \pm 22,13$ пг/мл. К концу месяца VEGF снижался до $89,74 \pm 21,38$ пг/мл, что не отличается от нормы при $t = 0,91$; $p > 0,05$.

Как известно, NO отвечает за эффект релаксирующего фактора, выделяемого эндотелием. В ответ на ишемическое повреждение эндотелия сосудов вырабатывает семейство аминокислот, к которым относится эндотелин 1. Полагают, что вазодилаторное действие NO направлено против вазоконстрикторного эффекта эндотелинов.

Полагают, что восстановление функции миокарда может быть достигнуто путем увеличения количества сократительных клеточных элементов в миокарде и/или путем повышения функционального резерва кардиомиоцитов реципиента за счет стимуляции в них процессов внутриклеточной регенерации, изменения биомеханических свойств сердечной мышцы, улучшения васкуляризации миокарда.

Из качественных характеристик УЗИ сердца следует отметить: наличие систолического утолщения пораженного сегмента миокарда при ИМ в систолу либо снижено, либо вообще отсутствует. В сроки от 1 месяца отмечается истончение пораженного сегмента миокарда. Истонченный сегмент обладает повышенной эхогенностью по сравнению с прилегающими сегментами

вследствие большего количества соединительной ткани. Визуализируется нарушение подвижности стенки: гипокинезия, акинезия или дискинезия, т.е. движение пораженного сегмента в систолу внутрь частично снижено, отсутствует или парадоксально направлено наружу. Сегменты стенки противоположной пораженной при остром инфаркте миокарда, как правило, компенсаторно гиперкинетичны. У ряда животных в группе с ИМ визуализировалась аневризма левого желудочка, в виде выпячивания «молчащей» стенки.

Влияние ИМ на диастолический объем сердца, на прямую отражает изменение основных функций сердца. Следует учитывать, минутный объем сердца, т.е. объем крови, выбрасываемый сердцем в сосудистую сеть в течение одной минуты. Нами было изучено изменение МО при стресс-имитируемой нагрузке с изопропилнорадреналином. Установлено, что у крыс с моделью ИМ существенно снизился по сравнению с нормой с $121,25 \pm 2,49$ до $65,39 \pm 1,12$ мл/мин при $t = 20,26$; $p < 0,001$. Интересен тот факт, что МО при максимальной нагрузке изопропилнорадреналином, достоверно увеличивался у здоровых животных с $121,25 \pm 2,49$ до $129,25 \pm 3,2$ мл/мин при $t = 1,97$; $p < 0,05$. В конце опыта МО равнялся начальному показателю, т.е. $1223,25 \pm 2,04$ (при $t = 0,62$; $p > 0,05$) и $120,72 \pm 2,33$ мл/мин (при $t = 1,06$; $p > 0,05$). В группе крыс с ИМ без лечения не происходило изменение МО на протяжении всего опыта, исходя из математической зависимости $МО = УО \cdot ЧСС / 1000$, мы видим, что при учащении сердечных сокращений, уменьшался ударный объем сердца.

Выводы

Развитие острого инфаркта миокарда у крыс сопровождается депрессией сегмента ST на ЭКГ, снижением сократительной функции левого желудочка, повышением концентрации эндотелина-1 с $5,2 \pm 0,4$ до $8,1 \pm 0,3$ моль/мл к концу 1 суток при $p < 0,05$, а также содержания в плазме крови VEGF и оксида азота. При ультразвуковом исследовании отмечалось снижение сократительной функции левого желудочка и нарушения кинетики движения миокарда.

Список литературы

1. Беленков Ю.Н. Хроническая сердечная недостаточность / Ю.Н. Беленков, В.Ю. Мареев, Ф.Т. Агеев. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 145 с.

2. Беришвили И.И. Результаты изолированной трансмиокардиальной лазерной реваскуляризации у больных, предварительно планирующих на аорто-коронарное шунтирование / И.И. Беришвили, Ю.В. Игнатъевна, П.В. Гусев // Сердечно-сосудистые заболевания. – 2009. – Т. 10, № 6. – С. 66.

3. Биологические основы и перспективы терапии стволовыми клетками / Е.Б. Владимирская, О.А. Майоров, С.А. Румянцев, А.Г. Румянцев. – Москва: Медпрактика, 2005. – 392 с.

4. Бокерия Л.А. Результаты трансмиокардиальной лазерной реваскуляризации (ТМЛР) в сочетании с трансплантацией аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у повторных больных / Л.А. Бокерия, И.И. Беришвили, М.Н. Вахромеева [и др.] // IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова. – тезисы докладов. – М., 2008. – С. 39–40.

5. Бокерия Л.А. Современные состояния проблемы клеточной терапии сердечно-сосудистых заболеваний. Литературный обзор в 3 частях / Л.А. Бокерия, З.Б. Махалдани, А.В. Сергеев // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. – 2006. – С. 5–7.

6. Бокерия Л.А. Эффективно ли сочетание ТМЛР с ангиогенным фактором (α -ESGF) в лечении больных ИБС с поражением дистального русла? / Л.А. Бокерия, И.И. Беришвили, von Specht Brend [и др.] // IV Всероссийский съезд трансплантологов им. акад. В.И. Шумакова: тезисы докладов. – М., 2008. – С. 49.

7. Брылякова С.Е. Непосредственные и отдаленные результаты чрескожных коронарных вмешательств у больных ишемической болезнью сердца / С.Е. Брылякова, И.В. Рогачев, З.Д. Романова // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2008. – Т. 7, № 6, приложение № 1. – С. 58.

8. Бутенко Г.М. Регенеративная медицина и стволовые клетки – проблемы и решения / Г.М. Бутенко, В.М. Кирик // Журнал НАМН Украины. – 2011. – Т. 17, № 1. – С. 62–66.

9. Михайличенко В.Ю. Мезенхимальные стволовые клетки в лечении инфаркта миокарда: перспективы ангиогенеза и регенерации / В.Ю. Михайличенко // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2009. – Т. 10, № 1. – С. 102–105.

10. Михайличенко В.Ю. Применение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора при лечении инфаркта миокарда / В.Ю. Михайличенко // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2009. – Т. 10, № 3. – С. 352–355.

11. Михайличенко В.Ю. Роль VEGF в ангиогенезе при норме и патологии / В.Ю. Михайличенко // Новоутворення. – 2010. – № 5. – С. 174–181.

12. Михайличенко В.Ю. Патологические аспекты инфаркта миокарда у крыс после различных способов кардиомиопластики / В.Ю. Михайличенко // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2010. – Т. 11, № 2. – С. 250–253.

13. Михайличенко В.Ю. Ангиогенез при инфаркте миокарда и его коррекция трансплантацией мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте / В.Ю. Михайличенко, С.А. Самарин // Кубанский научный медицинский вестник. – 2015. – № 2 (151). – С. 98–105.

14. Михайличенко В.Ю. Оценка влияния клеточной кардиомиопластики мезенхимальными стволовыми клетками (МСК) на показатели метаболической активности кардиомиоцитов при экспериментальном инфаркте миокарда / В.Ю. Михайличенко, С.А. Самарин // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1. – С. 789–792.