

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ НЕПРЯМОЙ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ МИОКАРДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*А.М. Чернявский¹, П.М. Ларионов¹, В.Ю. Бондарь¹, А.В. Фомичев¹,
М.А. Чернявский¹, М.Г. Пустоветова²*

¹ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздравсоцразвития России (г. Новосибирск)

²ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»
Минздравсоцразвития России (г. Новосибирск)

В статье представлена сравнительная характеристика трех методов непрямой реваскуляризации (трансмиекардиальная лазерная реваскуляризация, имплантация моноклеарной фракции (МФ) аутологичного костного мозга посредством инъекции, сочетанная методика имплантации МФ в лазерные каналы) на экспериментальной модели хронической ишемической болезни сердца. По результатам исследования наибольший вклад в реваскуляризацию миокарда внесла сочетанная методика.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца (ИБС), непрямая реваскуляризация, моноклеарная фракция аутологичного костного мозга, лазерная реваскуляризация.

Чернявский Александр Михайлович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией ишемической болезни сердца Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е. Н. Мешалкина», e-mail: amchern@mail.ru

Ларионов Петр Михайлович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией экспериментальной хирургии и морфологии ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е. Н. Мешалкина», e-mail: admin@meshalkinclinic.ru

Бондарь Владимир Юрьевич — доктор медицинских наук, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е. Н. Мешалкина», e-mail: admin@meshalkinclinic.ru

Фомичев Алексей Вячеславович — кандидат медицинских наук ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е. Н. Мешалкина», e-mail: admin@meshalkinclinic.ru

Пустоветова Мария Геннадьевна — доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической физиологии, заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: patophysiol@mail.ru

Чернявский Михаил Александрович, старший ординатор лаборатории ишемической болезни сердца Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий Федерального государственного учреждения «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е. Н. Мешалкина», e-mail: machern@mail.ru

Неэффективность существующих методов хирургического лечения ишемической болезни сердца (ИБС) с диффузным и (или) дистальным поражением коронарного русла обращает врачей к поиску новых методов лечения [1]. На современном этапе развития хирургии ИБС большое внимание уделяется развитию альтернативных методов реваскуляризации, в том числе с использованием лазерных и клеточных технологий. Однако на данный момент не существует единого мнения о значимости того или иного метода, об их вкладе в процессы ангио- и васкулогенеза.

Целью исследования явилось изучение в эксперименте вариантов непрямой неоваскуляризации миокарда на модели ИБС у животных при использовании трансмиокардиальной лазерной реваскуляризации (ТМЛР), имплантации стволовых клеток (СК) и сочетании ТМЛР с имплантацией СК.

Материалы и методы исследования. Для работы использовались 25 беспородных собак массой от 15 до 20 кг. Животным была выполнена модель ИБС, которая осуществлялась путем перевязки передней межжелудочковой коронарной артерии и коллатеральных ветвей первой диагональной артерии в условиях интубационного наркоза. Через 2 месяца после создания модели ИБС животные были разделены на 3 группы в зависимости от метода реваскуляризации, а также группу контроля.

Животным 1-й группы (5 собак) выполнялась ТМЛР (сквозные каналы полупроводниковым лазером) (рис. 1). Количество каналов определялось из расчета — один канал на 1 см² миокарда.



Рис. 1. Схема выполнения ТМЛР на модели ИБС

Животным 2-й группы — имплантация СК инъекционным способом (7 собак).
Содержание стволовых клеток — 5×10^6 в 1 мл моноклеарной фракции (рис. 2).

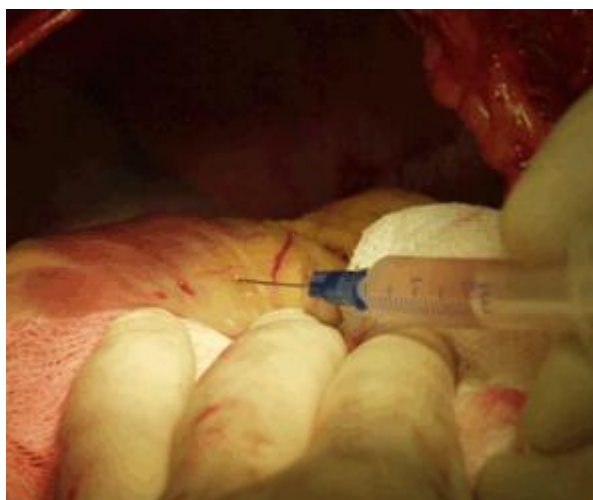


Рис. 2. Схема выполнения имплантации СК в миокард инъекционным способом

В 3-й группе (7 собак) реваскуляризация выполнялась комбинированным способом — имплантация СК в сформированные лазерные каналы.

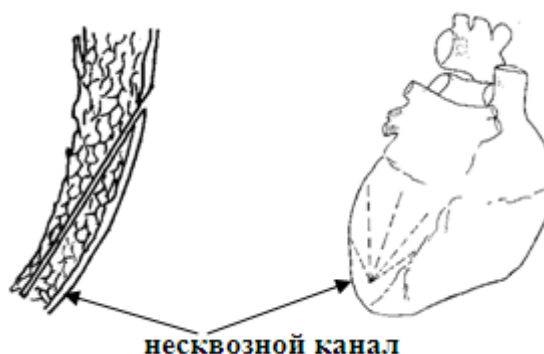


Рис. 3. Схема формирования лазерных каналов при выполнении сочетанной методики реваскуляризации

Группа контроля — 4-я группа (6 животных с моделью ИБС).

В эксперименте использовался полупроводниковый лазер: модель ЛС-1,56 мкм «ИРЭ-Полус» с длиной волны 1,56 мкм, мощностью от 2 до 10 Вт. Длительность импульсов от 50 до 2000 мс и интервал между импульсами от 50 до 2000 мс.

Для выделения моноклеарной фракции производили забор аутологичного костного мозга из костей таза.

Через 2 месяца после реваскуляризации животные выводились из эксперимента. Выполнялось гистологическое исследование миокарда в области воздействия. Производился подсчет количества сосудов и площади сечения сосудов на выделяемой площади миокарда в месте воздействия.

Исследование перфузии миокарда до и после операции выполнено посредством перфузионной сцинтиграфии с технетрилом.

Результаты

Морфологическая оценка вариантов непрямой реваскуляризации миокарда

Обзорная микроскопия ТМЛР. При обзорной микроскопии мест проведения ТМЛР можно выделить ряд постоянных морфологических черт, к которым относятся:

- формирование крупных, более 1000 мкм, тонкостенных, часто кровенаполненных сосудов, ориентированных на границу рубцовой зоны или располагающихся непосредственно в зоне рубца;
- тонкостенные сосуды синусоидного типа диаметром от 40 до 500 мкм, которые всегда ориентированы на зону воздействия;
- неоваскуляризация с формированием артериол, которые чаще были ориентированы на субэпикардальные и эпикардальные участки мест воздействия.

Обзорная микроскопия мест имплантации СК в миокард. Наиболее характерным и постоянно встречающимся морфологическим признаком было явление очагового ангиоматоза, также ориентированного на эпикард. Наблюдались характерные для ангиоматоза явления по типу формирования «сосуда в сосуде». Кроме того, именно в эпикарде и субэпикардиальных зонах мог наблюдаться диффузный рост мономорфных «штампованных» сосудов с гиперхромным эндотелием, здесь же обнаруживаются «сосудистые почки». И последней постоянной морфологической чертой мест имплантации аутологичных костномозговых СК являлось присутствие в эпикарде и субэндокарде очаговых инфильтратов из бластных клеток часто с пролиферативной активностью, частью многоядерных.

Обзорная микроскопия мест воздействия ТМЛР и имплантации СК в лазерные каналы. Практически все морфологические черты ТМЛР и имплантации СК в лазерные каналы могли обнаруживаться при сочетании этих двух методов реваскуляризации миокарда. Однако интрамиокардиальный ангиоматоз мог наблюдаться только при имплантации СК в лазерные каналы, причем в элементах, формирующих ангиоматозные структуры, сохранялась пролиферативная активность. Более того, можно констатировать, что именно для этого варианта реваскуляризации было более равномерное распределение сосудистых образований в миокарде мест воздействий.

Анализ перфузии миокарда по данным сцинтиграфии при вариантах непрямой реваскуляризации

При сопоставлении результатов непрямой реваскуляризации миокарда методом сцинтиграфии выявлено, что выполнение ТМЛР и имплантации СК значительно снижает дефекты перфузии при сравнении с предоперационным состоянием. Так, при использовании лазерного воздействия перфузия в зоне воздействия улучшилась на 20 %, при имплантации СК отмечается увеличение перфузии на 30 %, использование комбинированного метода привело к увеличению перфузии на 50 % в верхушечном сегменте и исчезновение дефекта перфузии по боковой стенке левого желудочка.

Обсуждение. Использование лазерных технологий для выполнения процедуры непрямой реваскуляризации миокарда в настоящее время широко распространено. Как показали первые экспериментальные исследования [2], каналы, создаваемые с помощью лазера, остаются открытыми и могут перфузировать миокард, защищая от ишемии. Первые гистологические данные о проходимости каналов представил М. Mirhoseini. Он и его коллеги сообщили об оставшихся открытыми в течение двух лет после операции каналах. Позднее М. Okada et al. также известили о сохранении проходимости каналов через

несколько лет после операции. Наши результаты показали, что к третьему месяцу после операции отмечено формирование соединительнотканного рубца в местах лазерного воздействия, в составе которого встречаются крупные сосудистые образования размерами более 1000 мкм, тонкостенные, эритроносодержащие, а также крупные тонкостенные синусоидального типа сосудистые образования меньших размеров. В течение последних лет изучение СК является предметом исследований ученых всего мира. Многочисленные авторские работы [3–10] подтверждают компетентность региональных СК в восстановлении микроциркуляторного русла ишемизированного миокарда и, вероятно, в замещении в той или иной степени дефекта миокарда на функционирующие кардиомиоциты, что в свою очередь приводит к снижению класса стенокардии и частичному восстановлению сердечной сократимости.

В литературе имеются противоречивые данные относительно влияния индуцированного ангиогенеза на кровоток. Большинство из этих исследований оценивали перфузию в достаточно короткий промежуток после ТМЛР, когда новообразованных сосудов много, но они еще незрелые и не способны адекватно повлиять на изменение перфузии миокарда. Подавляющее большинство исследователей оценивали количество новообразованных сосудов путем простого подсчета их в определенном объеме без учета их удельного объема. Наше исследование показывает, что при оценке степени ангиогенеза необходимо ориентироваться на показатели удельного сосудистого объема, которые определяют функциональную зрелость новообразованных сосудов. Считаем, что полученные результаты позволяют сделать вывод о кумулятивном реваскуляризирующем эффекте лазерной реваскуляризации и клеточной терапии.

Заключение. Резюмируя все вышесказанное, можно заключить: морфологический и инструментальный анализы вариантов не прямой лазерной реваскуляризации показал, что наиболее эффективным методом для улучшения перфузии миокарда является сочетание ТМЛР с имплантацией СК, что в своей основе потенцирует эффекты стимулированного ангио- и васкулогенеза.

Список литературы

1. Бураковский В. И. Первые шаги. Записки кардиохирурга / В. И. Бураковский. — М.: Медицина, 1988. — С. 34.
2. Скобелкин О. К. Реваскуляризация миокарда / О. К. Скобелкин, Ю. Ю. Бредикис, В. И. Брехов [и др.] // Хирургия. — 1984. — № 10. — С. 99–102.
3. Verheul H. A., Moulijn A. C., Hondema S. [et al.] // Amer. J. Cardiol. — 1991. — Vol. 67. — P. 24–30.
4. Asahara N., Masuda H., Takahashi T. [et al.] // Circ. Res. — 1999. — Vol. 85. — P. 221–228.
5. **Bianco P.**, Riminucci M., Gronthos S. // Stem. Cell. — 2001. — Vol. 19. — P. 180–192.
6. Bhattacharya V., Peter A., McSweeney K. [et al.] // Blood. — 2000. — Vol. 95. — P. 1134–1141.
7. Bunting K. D. // Stem. Cell. — 2002. — Vol. 20. — P. 11–20.
8. **Campagnoli C., Roberts I. A., Kumar S.** // Blood. — 2001. — Vol. 98. — P. 2396–2402.
9. Cayton M., Wang Y., Jerosch-Herold M. [et al.] // Circulation. — 1996. — Vol. 94. — Suppl. 2. — P. I476.
10. Chu V. F., Giaid A., Kuang J. [et al.] // Ann. Thorac. Surg. — 1999. — Vol. 68. — P. 301–308.

COMPARATIVE MORPHOFUNCTIONAL ESTIMATION OF VARIOUS METHODS OF MYOCARDIUM INDIRECT REVASCULARIZATION IN EXPERIMENT

A.M. Chernyavsky¹, P.M. Larionov¹, V.Y. Bondar¹, A.V. Fomichev¹, M.A. Chernyavsky¹, M.G. Pustovetova²

¹FSBE «Novosibirsk scientific research institute of circulation pathology n.a. academician E. N. Meshalkin» Minhealthsocdevelopment (Novosibirsk c.)

²SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment» (Novosibirsk c.)

The comparative characteristic of three methods of indirect revascularization (transmyocardial laser revascularization, implantation of mononuclear fraction (MF) of autologous bone marrow by injection, combined technique of implantation of MF to laser channels) on experimental model of chronic ischemic heart disease is presented in the article. According to results of research the greatest contribution to revascularization of myocardium was made with combined technique.

Keywords: ischemic heart disease (IHD), indirect revascularization, mononuclear fraction of autologous bone marrow, laser revascularization.

About authors:

Chernyavsky Alexander Mikhaylovich — doctor of medical sciences, professor, the head of laboratory of ischemic heart disease at aorta, coronary and peripheral artery Surgery Center at FSBE «Novosibirsk scientific research institute of circulation pathology n.a. academician E. N. Meshalkin» Minhealthsocdevelopment, e-mail: amchern@mail.ru

Larionov Petr Mikhaylovich — doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of experimental surgery and morphology at FSBE «Novosibirsk scientific research institute of circulation pathology n.a. academician E. N. Meshalkin» Minhealthsocdevelopment, e-mail: admin@meshalkinclinic.ru

Bondar Vladimir Yurievich — doctor of medical sciences at FSBE «Novosibirsk scientific research institute of circulation pathology n.a. academician E. N. Meshalkin» Minhealthsocdevelopment, e-mail: admin@meshalkinclinic.ru

Fomichev Alexey Vyacheslavovich — candidate of medical sciences at FSBE «Novosibirsk scientific research institute of circulation pathology n.a. academician E. N. Meshalkin» Minhealthsocdevelopment, e-mail: admin@meshalkinclinic.ru

Pustovetova Maria Gennadievna — doctor of medical sciences, professor of pathological physiology chair, head of Central research laboratory at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», e-mail: patophysiol@mail.ru

Chernyavsky Michael Aleksandrovich — senior hospital physician of the laboratory of coronary disease at aorta, coronary and peripheral artery Surgery Center at FSBE «Novosibirsk scientific research institute of circulation pathology n.a. academician E. N. Meshalkin» Minhealthsocdevelopment, e-mail: machern@mail.ru

List of the Literature:

1. Burakovsky V. I. First steps. Notes of cardiosurgeon / V. I. Burakovsky. — M: Medicine, 1988. — P. 34.
2. Skobelkin O. K. Myocardium revascularization / O. K. Skobelkin, Y. Y. Bredikis, B. I. Brekhov [etc.] // Surgery. — 1984. — № 10. — P. 99–102.
3. Verheul H. A., Moulijn A. C., Hondema S. [et al.] // Amer. J. Cardiol. — 1991. — Vol. 67. — P. 24–30.
4. Asahara N., Masuda H., Takahashi T. [et al.] // Circ. Res. — 1999. — Vol. 85. — P. 221–228.
5. **Bianco P.**, Riminucci M., Gronthos S. // Stem. Cell. — 2001. — Vol. 19. — P. 180–192.
6. Bhattacharya V., Peter A., McSweeney K. [et al.] // Blood. — 2000. — Vol. 95. — P. 1134–1141.
7. Bunting K. D. // Stem. Cell. — 2002. — Vol. 20. — P. 11–20.
8. **Campagnoli C., Roberts I. A., Kumar S.** // Blood. — 2001. — Vol. 98. — P. 2396–2402.
9. Cayton M., Wang Y., Jerosch-Herold M. [et al.] // Circulation. — 1996. — Vol. 94. — Suppl. 2. — P. I476.
10. Chu V. F., Giaid A., Kuang J. [et al.] // Ann. Thorac. Surg. — 1999. — Vol. 68. — P. 301–308.