

УДК 616-091.811

© В.В. Плечев, Р.Ю. Рисберг, Т.И. Мустафин, Б.А. Олейник, А.В. Двинских, Д.В. Плечева, 2012

В.В. Плечев, Р.Ю. Рисберг, Т.И. Мустафин, Б.А. Олейник, А.В. Двинских, Д.В. Плечева

МОДЕЛЬ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА*ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»**Минздравсоцразвития России, г. Уфа*

В работе рассмотрены различные аспекты моделирования острого инфаркта миокарда. В эксперименте использовались 105 кроликов-самцов породы шиншилла средней массой $2,1 \pm 2,9$ кг. В контрольную группу вошли 5 лабораторных животных. В статье представлены этапы и техника моделирования патологического процесса в миокарде. Клиническими, морфологическими исследованиями, данными ЭКГ доказана 100 % воспроизводимость необратимой ишемии миокарда. В 7 случаях наблюдались различные осложнения, не повлиявшие на результаты исследования.

Ключевые слова: острый инфаркт миокарда, моделирование, некроз, кролик, ишемия, миокард, гипертрофия.

V.V. Plechev, R.Y. Risberg, T.I. Mustafin, B.A. Oleynik, A.V. Dvinskih, D.V. Plecheva

MODEL OF ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

The model of myocardial infarction was investigated in 105 chinchilla rabbits. Mean mass of animals was 2.1 ± 2.9 . The animals were divided in two groups. There were 5 rabbits in control group and 100 in experiment group. Acute myocardial infarction model stages and techniques are presented in article. 100% reproducibility of acute myocardial infarction was proved by clinical, morphological and other methods. There were 7 insignificant complications.

Key words: heart attack, modeling, necrosis, rabbit, ischemia, myocardial hypertrophy.

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) занимает значительное место среди заболеваний системы кровообращения [1,2]. Несмотря на достижения в кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии сохраняется необходимость дальнейшего изучения ишемической болезни сердца в эксперименте и клинике [2,3,4,5]. Большинство используемых в настоящее время методик воспроизведения инфаркта миокарда требуют искусственной вентилиции легких и сопровождаются высокой летальностью подопытных животных [6,7]. Все это обуславливает поиск достоверных методик воспроизведения модели острого инфаркта миокарда, сопоставимых с клиникой.

Цель исследования. Дать макро- и микроскопическую оценку модели острого инфаркта миокарда, сопоставимую с клиникой.

Материал и методы

Экспериментальный острый инфаркт миокарда вызывался у 100 кроликов-самцов породы шиншилла, средняя масса которых составляла $2,1 \pm 2,9$ кг. У 5 лабораторных животных инфаркт миокарда не вызывался, они вошли в контрольную группу. Животные содержались в соответствии с санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических помещений (вивариев), утвержденными МЗ СССР №163 от 10.03.1966 года. Работа на кроликах выполнялась в соответствии с принципами гуманного обращения с подопытными животными, утвержденными приказами МЗ СССР №755 от 12.08.1977 года «О

мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» и №701 от 27.07.1978 года «О внесении дополнений в приказ МЗ СССР №755 от 12.08.1977 года», а также положениями «Хельсинкской декларации по вопросам медицинской этики» и «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1989).

Результаты и обсуждение

Для создания модели ишемического инфаркта миокарда у кроликов перевязывалась нисходящая артерия сердца. Наступление инфаркта миокарда документировалось на операционном столе по окраске, характеру патологического процесса, анализу результатов ЭКГ на аппарате ЭКГТ-03М2. На ЭКГ появлялись патологические зубцы Q, T и изменения интервала ST. После эвтаназии животных путем инъекции ардуана проводилась аутопсия с макроскопическим исследованием сердца и внутренних органов. Кусочки сердечной ткани маркировались, фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина. После изготовления гистологических срезов толщиной 8-10 мкм последние красились гематоксилином и эозином и пикрофуксином по Ван-Гизону. Микропрепараты изучались и описывались по определенной схеме. Все болезненные манипуляции выполнялись в условиях внутримышечной инъекции раствором кетамина из расчета 75-100 мг/кг. При этом у кроликов сохранялось самостоятельное дыха-

ние, что исключало применение искусственной вентиляции легких. Животные фиксировались на операционном столе в положении лежа на спине. После тщательного бритья производилась обработка операционного поля антисептическим раствором Лижен. Далее операционное поле обкладывалось стерильными одноразовыми простынями, затем производился разрез кожи и мягких тканей по срединной линии от яремной вырезки грудины до мечевидного отростка. Остроконечным скальпелем грудина разрезалась с осторожностью, чтобы не повредить плевральные мешки и крупные сосуды (рис. 1 а). Замечено, что повреждение одного из плевральных мешков приводит к коллапсу одного из легких. При этом спонтанное дыхание сохранялось, что не мешало завершить оперативное вмешательство. В некоторых случаях предсуществующее врожденное сообщение обнаруживалось между плевральными полостями. В этих условиях повреждение даже одной плевральной полости обуславливает развитие коллапса обоих легких и острой дыхательной недостаточности. Рассеченная грудина постепенно разводилась с помощью ранорасширителя на 5-6 см до обнажения перикарда. Последний рассекался вдоль раневой поверхности (рис. 1 б).

После вскрытия перикарда передняя нисходящая артерия (НПА) идентифицировалась, данный сосуд перевязывался нитью пролен 8-0 (игла 9.3) в области нижней границы ушка левого предсердия. Обозначенный выше прием позволяет получить достаточный очаг ишемии и избежать фибрилляции желудочков (рис. 1 в). Наступление необратимой ишемии миокарда в интраоперационном периоде подтверждалось результатами электрокардиографии (ЭКГ). На ЭКГ в III стандартном отведении выявлялись патологические зубцы Q, отмечались изменение интервала ST и смещение зубца T ниже изолинии. Интраоперационное возникновение очага инфаркта миокарда определялось следующим образом. В краевую вену уха вводили болюсно раствор тетрациклина из расчета 100 мг на 1 кг тела животного. Известно, что тетрациклин обладает способностью к флуоресценции в лучах ультрафиолетового света. При освещении сердца лампой Вуда в темном помещении определялась яркая желто-зеленая флуоресценция органа с дефектом перфузии в области кровоснабжения передней нисходящей артерии, что соответствовало зоне инфаркта (рис. 1 г).

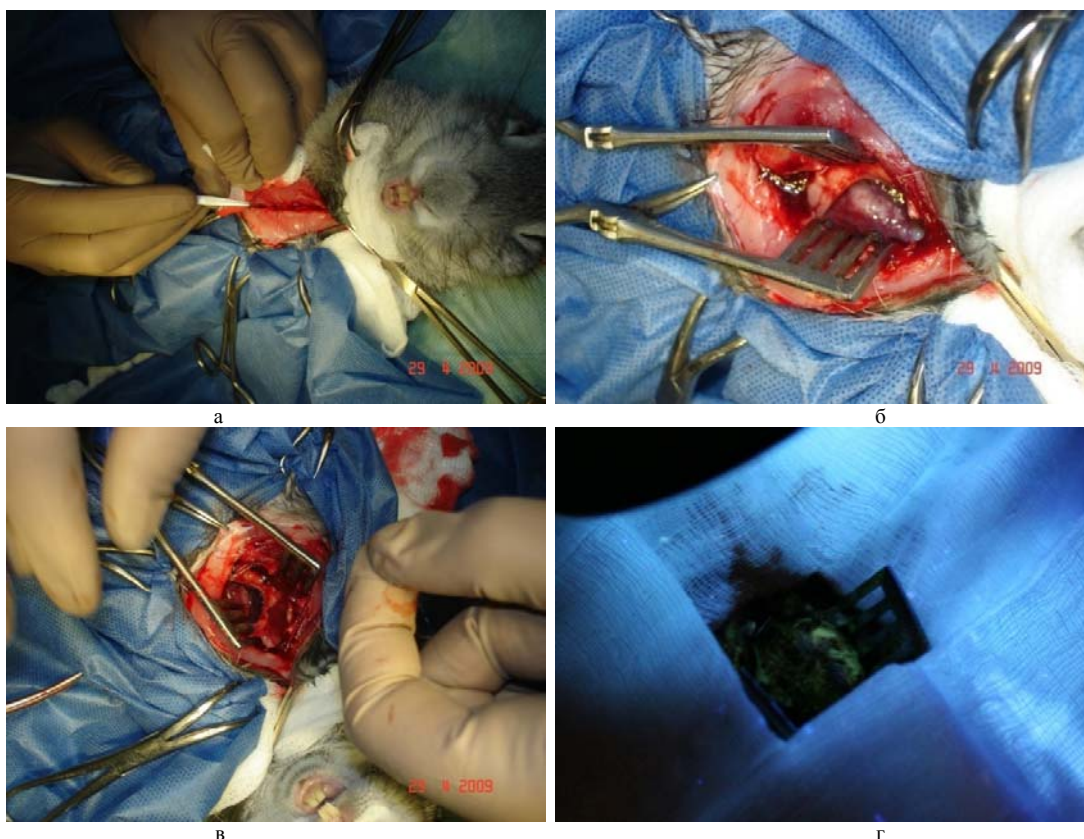


Рис.1. Этапы формирования экспериментального инфаркта миокарда:
а – продольная стернотомия остроконечным скальпелем; б - перикард рассечен, к ране прилежит сердце;
в – подготовка к перевязке НПА; г - в зоне инфарктаотсутствует желто-зеленое свечение

При создании модели инфаркта миокарда у 7 (7%) кроликов наблюдались различные осложнения, которые не повлияли на результаты исследования. В 4 случаях наблюдалось двухстороннее повреждение плевральных полостей с развитием у них коллапса легких и острой дыхательной недостаточности. В 2 случаях имела место фибрилляция желудочков. В интраоперационном периоде у одного животного наблюдалось смертельное кровотечение. Описанные осложнения регистрировались в начальном периоде экспериментальных исследований.

После эвтаназии животного проводилась аутопсия с макро- и микроскопическим описанием сердца. Последнее несколько увеличено в размерах, как нам представляется, за счет гемодинамических расстройств, отека и набухания интерстиции. В области операционного доступа эпикард был суховатым и тусклым, на его поверхности обнаруживались серый налет и мелкие кровоизлияния. На передней стенке левого желудочка выявлялся серовато-желтый очаг инфаркта миокарда неправильной формы с кровоизлияниями по периферии. Зона ишемического инфаркта составляла значительную площадь и толщину, во многом соответствующие трансмуральному варианту. Во внутренних органах животных находили признаки венозного полнокровия. Для гистологического исследования забирались кусочки тканей сердца, которые маркировались и помещались в емкость с раствором 10 % нейтрального формалина на 24 часа. Далее готовились гистологические срезы толщиной 8-10 мкм, которые подвергались окраске гематоксилином и эозином, пикофуксином по Ван-Гизону.

Затем микропрепараты изучались и описывались по определенной схеме. Окрашенные срезы фотографировались цифровой камерой CannonEOS 20D. Компьютерная обработка изображений осуществлялась с помощью программы AdobePhotoshop. Общая площадь некроза вычислялась по трем признакам и представлялась в процентном соотношении к площади гистологического среза на 5-7-е сутки опыта, а склероза - на 4-8-й неделе болезни. Степень дилатации левого желудочка рассчитывалась как отношение

площади просвета левого желудочка к площади миокарда обоих желудочков. Полученный индекс дилатации (в отн. ед.) левого желудочка вычислялся по трем срезам с последующим выходом к среднему значению. Индекс дилатации определялся к 4-8-й неделям опыта.

На светооптическом уровне выявлялся очаг лизированных кардиомиоцитов. По периферии некроза определялись лейкоцитарная инфильтрация, полнокровие сосудов, перифокальное кровоизлияние (рис.2а). К концу первой недели в патологическом очаге преобладали клетки макрофагального ряда, между которыми встречались фибробласты, фибробластоподобные клетки, множественные новообразованные сосуды (рис.2б). Ко второй неделе клеточная реакция уменьшалась, как и количество сосудов, появлялись коллагеновые структуры. При этом происходило формирование соединительной ткани (рис.2в). К 4 – 5-й неделям встречались единичные лизированные кардиомиоциты, значительное число полнокровных мелких и мельчайших сосудов, фибробласты, коллагеновые волокна, единичные круглоклеточные элементы. При этом очаг некроза замещался соединительной тканью (рис. 2г). На 6-8-й неделях можно было заметить умеренное увеличение размеров органа и некоторое превышение его массы от нормы, как нам представляется, за счет гипертрофических процессов. На передней стенке левого желудочка сердца зачастую выявлялось аневризматическое выпячивание. На разрезе постинфарктный крупноочаговый кардиосклероз представлял собой белесоватый очаг неправильной формы плотной консистенции. Стенка рубца была тонкой, и наоборот, миокард по периферии – утолщенный за счет компенсаторной гипертрофии (рис.6г). Площадь рубца составляла в среднем $22,4 \pm 2,5$ % от общей площади среза. В то же время толщина рубца была равна $1,5 \pm 0,25$ % мм, миокарда - $5,3 \pm 1,72$ % мм. При этом индекс дилатации левого желудочка равнялся $0,19 \pm 0,34$ отн. ед. Под микроскопом определялась зона склероза, представленная зрелой фиброзной тканью. По периферии рубца кардиомиоциты были гипертрофированными при умеренной плотности сосудов.

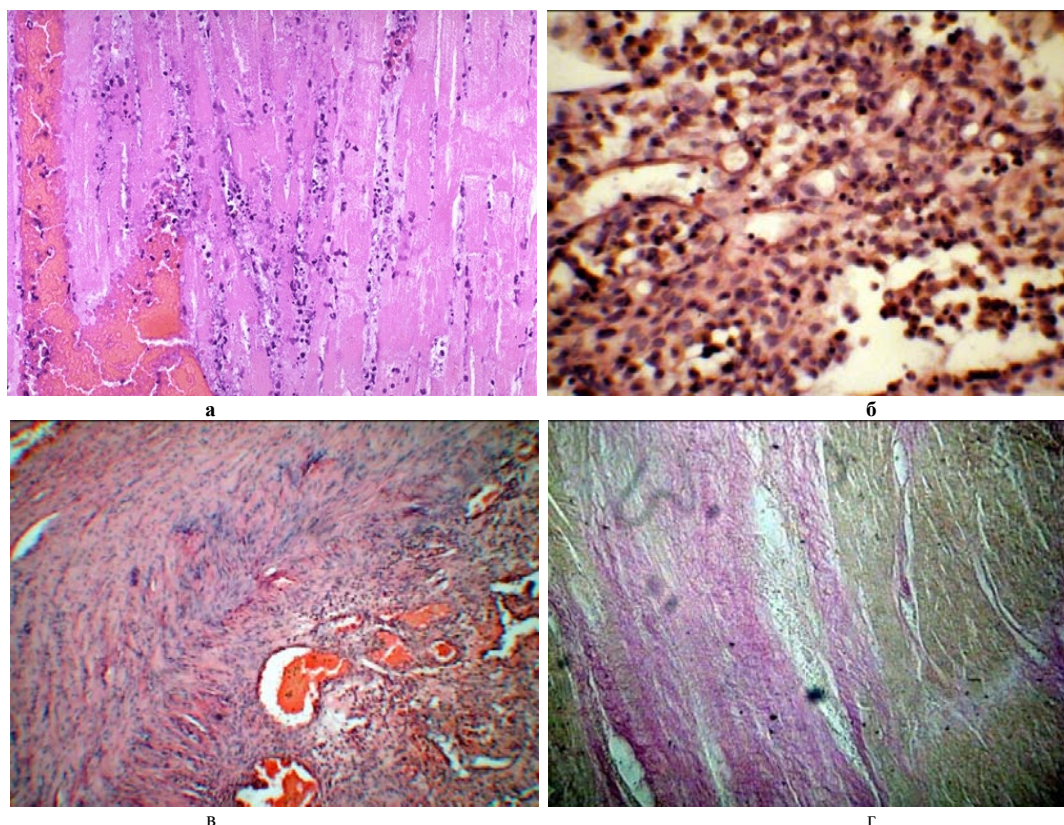


Рис. 2. Морфологическая картина экспериментального острого инфаркта миокарда в различные сроки опыта:

а – в 1-ю неделю в центре препарата – некротизированные кардиомиоциты, по периферии некроза определяются лейкоцитарная инфильтрация, перифокальное кровоизлияние (окраска гематоксилином и эозином, об.10, x100);
 б – во 2-ю неделю в патологическом очаге преобладающими клетками выступают макрофаги, между макрофагами располагаются вытянутые фибробласты, круглоклеточные элементы, множественные новообразованные сосуды (окраска гематоксилином и эозином, об.10, x100);
 в – в 4-ю неделю в очаге встречались единичные лизированные кардиомиоциты, значительное число полнокровных мелких и мельчайших сосудов, фибробласты, коллагеновые волокна, единичные круглоклеточные элементы, видны поля соединительной ткани (окраска гематоксилином и эозином, об.10 x100);
 г – в 6-8-ю недели в центре рубца выявляются коллагеновые волокна, фиброциты, по периферии определяются гипертрофированные кардиомиоциты (окраска пикрофуксином по Ван Гизону, об.10 x100).

Заключение

Таким образом, предложенная модель острого инфаркта миокарда воспроизводится в 100 % случаев, при ней макро- и микроскопические проявления патологического процесса в сердечной ткани и внутренних орга-

нах сопоставимы с таковыми с клиникой. В этих условиях при планировании научных исследований возможен поиск наиболее рациональных лечебных методик воздействия на патологический очаг в сердечной ткани.

Сведения об авторах статьи:

Плечев Владимир Вячеславович – д.м.н., профессор, зав. кафедрой госпитальной хирургии БГМУ.

Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3..

Рисберг Роман Юрьевич – аспирант кафедры госпитальной хирургии, врач сердечно-сосудистый хирург отделения РХМДиЛ № 1 ГБУЗ РКД.

Мустафин Тагир Исламнурович – д.м.н., профессор, зав. кафедрой патологической анатомии БГМУ.

Олейник Богдан Александрович – к.м.н., доцент кафедры госпитальной хирургии БГМУ.

Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

Двинских А.В. – кафедра патологической анатомии БГМУ. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

Плечева Дина Владимировна – к.м.н., доцент кафедры госпитальной хирургии БГМУ. Адрес: г. Уфа, ул. Ленина, 3.

ЛИТЕРАТУРА

1. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – Киев: «Вища школа», 1983.
2. Хилькин А.М., Светлов В.Я. Моделирование поражений сердца и сосудов в эксперименте. – М.: Медицина, 1979.
3. Шалимов С.А., Радзиховский А.П., Кейсевич Л.В. Руководство по экспериментальной хирургии. – М.: Медицина, 1989.
4. Eagle KA, Mehta RH, Riba AL, Defranco AC, Montoye CK. Taking the ACC/AHA guidelines for care of Acute Myocardial Infarction to the bedside: the GAP projects in southeastern Michigan // Am Heart J. – 2004.-148(5).- P. 49-51.
5. Harrington RA. Controversies surrounding platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in percutaneous coronary intervention and acute coronary syndromes // Semin Thromb Hemost. -2004. - 30. - P.639-47.
6. Horrigan MC, Malycky JL, Ellis SG, Topol EJ, Nicolini FA Reduction in myocardial infarct size by basic fibroblast growth factor following coronary occlusion in a canine model. J Cardiol. 1999 Apr 10;68 Suppl 1:S85-91
7. Katz AM, Zile MR. New molecular mechanism in diastolic heart failure // Circulation.-2006. -113(16). – P.1922-5.