

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ УШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА У ДОСЛІДЖЕННІ НОВИХ МЕТОДІВ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАННЯ СЕРЦЯ

Доманський Т.М.

ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова НАМН» (Київ)

В дослідженні проведено порівняльний аналіз функціональних (ЕКГ) та морфологічних ознак ураження міокарда при адреналін-індукованій та при ізопротеренол-індукованій моделі кардіоміопатії неішемічного генезу на мишах. Доведено, що при дослідженні захворювань, які супроводжуються хронічною серцевою недостатністю, більш доцільно використовувати ізопротеренол-індуковану модель ураження.

Ключові слова: моделювання, захворювання серця, катехоламіни.

Однією з проблем дослідження ефективності методів лікування є розробка коректних експериментальних моделей захворювання. Методика моделювання повинна відповідати ряду критеріїв: при достатній сталості одержуваних результатів необхідно створювати модель, найбільш близьку до відповідного захворювання людини в патогенетичному відношенні [1].

Катехоламіни є важливими нейротрансмітерами, що беруть участь у регуляції функцій серцево-судинної системи. У фізіологічних концентраціях вони стимулюють функцію та метаболізм міокарда, не викликаючи патологічних зрушень. Проте значне і тривале підвищення рівня катехоламінів у крові призводить до пошкодження кардіоміоцитів [2]. Адреналін у великих концентраціях сприяє порушенню кровопостачання, провокує метаболічний дисбаланс. Цю модель широко використовують для дослідження некротичних процесів міокарда та протекторної дії різноманітних кардіотропних препаратів [3–5]. Ізопротеренол, синтетичний неселективний агоніст α -адренорецепторів, унаслідок позитивного хроно- і інотропного ефектів, викликає ішемію. В міокарді піддослідних тварин—моделей рееструються дифузні вогнища дегенерованих та некротизованих м'язових волокон, які заміщуються скопиченнями сполучнотканинних клітин. В подальшому, після ін'єкції ізопротеренолу, розвивається хронічна серцева недостатність (ХСН) без ознак декомпенсації [6].

В зв'язку з відсутністю загально визнаних протоколів **метою роботи** було визначення оптимальної експериментальної моделі для дослідження хронічних уражень серця. Ця мета зумовила такі **завдання роботи**: 1) описати ЕКГ та морфологічні ознаки ураження при адреналін-індукованій моделі ураження міокарда; 2) описати ЕКГ та морфологічні ознаки ураження при ізопротеренол-індукованій моделі ураження міокарда; 3) провести порівняльний аналіз моделей.

Матеріали та методи досліджень. Експериментальні дослідження були проведені на самках мишей FVB віком 6 міс., з масою тіла 25–30 г. В I групі (10 тварин) моделювання ушкоджень міокарда виконували одноразовим внутрішньочеревним введенням розчину адреналіну гідротартрат у дозі 3,6 мг/кг. В II групі (10 тварин) підшкірно вводили розчин ізопротеренола в дозі 100 мг/кг 5 днів поспіль. Як контрольну групу використовували тварин, яким вводили 0,4 мл 0,9% розчину NaCl підшкірно (15 тварин).

Виведення тварин з експерименту проводили в контрольній групі на 0, 14, 28 добу, при адреналін-індукованій та ізопротеренол-індукованій моделях ураження – на 14, 28 добу (по 5 тварин у кожній підгрупі). При цьому під загальним знеболюванням реєстрували ЕКГ та вилучали серця для гістологічного дослідження. Роботи з експериментальними тваринами проводилися з дотриманням принципів біоетики та норм біологічної безпеки.

Результати та обговорення. При аналізі ЕКГ тварин, яким проводили моделювання ураження введенням розчину адреналіну (І група) або ізопротеренолу (ІІ група), були зареєстровані ознаки суттєвого порушення функцій збудження та проведення в міокарді. У тварин, яким було введено фізіологічний розчин (в групі порівняння), на 14 та 28 добу після початку експерименту жодних відмінностей від похідного стану до введення фізіологічного розчину (0 доба) зареєстровано не було.

Підвищення збудження синусного вузла було характерне для обох піддослідних груп. Порівняно з контролем (ЧСС 400–460 уд/хв), у тварин, яким вводився адреналін, тахікардія була помірно вираженою (475–500 уд/хв) як на 14 добу, так і на 28 добу. Найбільш виражена тахікардія була зареєстрована у тварин, яким вводився ізопротеренол на 14 добу (до 600 уд/хв), що поступово послаблювалась на 28 добу (до 480–540 уд/хв). Ймовірно, зниження тахікардії було зумовлене перебігом процесів фізіологічної регенерації серця після ураження.

Суттєві відмінності між групами спостерігались за показниками, що характеризують внутрішньошлуночкове проведення електричного збудження. Порівняно з контролем, у групі адреналін-індукованої моделі як на етапі 14 діб, так і на 28 добу було зареєстровано розширення комплексу QRS. При ізопротеренол-індукованій моделі було зареєстровано суттєве погіршення внутрішньошлуночкового проведення на 14 добу, яке на 28 добу прогресувало. Крім того, виключно при ізопротеренол-індукованій моделі були зареєстровані внутрішньошлуночкові блокади, вираженість яких наростала з часом. Ще однією ознакою порушення внутрішньошлуночкової провідності були зазубреність та навіть розчеплення комплексу QRS. Слід відзначити, що при адреналін-індукованій моделі на 28 добу порівняно з 14 добою спостерігається несуттєве відновлення функції внутрішньошлуночкового проведення. При ізопротеренол-індукованій моделі, навпаки, з плином часу спостерігалось погіршення функції внутрішньошлуночкового проведення. Формувалося не лише розширення, а розчеплення зубця R.

Слабо виражена електрична альтернація комплексу QRS на 14 добу була відмічена лише при ізопротеренол-індукованій моделі. Її прогресування та формування пізніх зубців R у цій групі було зареєстроване на 28 добу. Це свідчить про поглиблення ішемії міокарда, виражені у тварин з ізопротереноловим пошкодженням міокарда. У групі тварин, яким вводили адреналін, електрична альтернація комплексу QRS або пізні зубці R не спостерігались.

Одночасно з погіршенням внутрішньошлуночкової провідності було зареєстроване формування ектопічних джерел ритму в шлуночках. При адреналін-індукованій моделі виникнення поодиноких екстрасистол було виключно на 28 добу експерименту. При ізопротеренол-індукованій моделі поодинокі шлуночкові екстрасистоли виникали вже на 14 добу, а на 28 добу кількість їх суттєво зростала.

Знижений вольтаж зубців на ЕКГ, порівняно з контролем, відзначається у тварин обох груп. Це характерно при порушенні процесів метаболізму міокарда та/або змінах в обмінних електролітних процесах у міокарді. Значно знижений вольтаж було відмічено на 14 добу в адреналін-індукованій моделі. На 28 добу ці ознаки в групі тварин, яким вводи-

ли адреналін, поступово зменшуються. Це може свідчити про відновлення міокарда. У тварин, яким вводився ізопротеренол, зниження вольтажу зубців майже не відмічено на 28 добу, що свідчить про прогресування змін у міокарді з плином часу. Елевація або депресія сегмента ST, негативний зубець T було зареєстровано на 14 добу виключно у групі тварин, яким вводили адреналін. Депресія сегмента ST також зберігалась у цій групі і на 28 добу експерименту. Зникнення негативного зубця T у тварин, яким вводили адреналін на 28 добу, свідчить про покращення метаболічних процесів. При ізопротеренол-індукованій моделі порушення (депресія сегмента ST та негативний зубець T) були зареєстровані виключно на 28 добу, що говорить про прогресування ушкодження міокарда.

При аналізі морфологічних змін міокарда після моделювання ураження встановлено, що при адреналіновій і ізопротеренолової моделі виявлені виражені ознаки ушкодження. В контрольній групі тварин ознак ураження міокарда не встановлено незалежно від терміну після ін'єкції фізіологічного розчину (0 – 14 – 28 доба). У випадку адреналін-індукованого і ізопротеренол-індукованого ураження міокарда спостерігається як набряк, так і гетерохроматизація ядер кардіоміоцитів. У випадку адреналін-індукованого ураження вираженість цих змін ядер зменшується на 28 добу порівняно з 14 добою, що може свідчити про розвиток у міокарді процесів регенерації. В обох моделях спостерігається гіпертрофія ядер кардіоміоцитів на 14 добу. Однак на відміну від адреналін-індукованої моделі, при якій гіпертрофія ядер на 28 добу зберігається, при ізопротеренолової моделі гіпертрофія ядер кардіоміоцитів зникає на 28 добу, що, можливо, зумовлено зменшенням ознак важкої гібернації кардіоміоцитів в результаті менш тривалого впливу ізопротеренолу на кардіоміоцити. Також при гістологічному дослідженні в обох моделях був зареєстрований однаково виражений набряк цитоплазми кардіоміоцитів та звивистість ланцюжків кардіоміоцитів. Ці ознаки ураження міокарда зберігаються на 14 та 28 добу. Це свідчить про те, що частина кардіоміоцитів гине шляхом некрозу (набряк цитоплазми, лізис органел, розрив зовнішньої цитоплазматичної мембрани). Крім того, виявлено розрив ланцюжків кардіоміоцитів, який був найбільш виражений при адреналіновій моделі на 14 добу, що є проявом руйнування вставних дисків і контактів між кардіоміоцитами. На 28 добу при адреналін і ізопротеренол-індукованій моделях розриви ланцюжків зберігаються. При ураженні міокарда в обох методах спостерігаються контрактири кардіоміоцитів на 14 і на 28 добу. При цьому максимальна кількість контрактур кардіоміоцитів була зареєстрована в ізопротеренол-індукованій моделі на 14 добу, що свідчить про більш сильне ураження енергетичної системи кардіоміоцитів, а саме мітохондрій.

В обох експериментальних моделях виявлено також добре виражений набряк периваскулярного простору. Але у тварин, яким вводили ізопротеренол, набряк периваскулярного простору посилюється на 28 добу. Це свідчить про поглиблення патологічних змін судинного ендотелію, які є характерними для процесу порушення проникності судинної стінки. Ці зміни спричиняють порушення постачання поживних речовин міокарда, що у випадку адреналінової та ізопротеренолової моделі на 14 і на 28 добу призводить до гіпоперфузії кардіоміоцитів.

Важливим маркером розвитку ураження та поглиблення пошкоджень є міграція клітин (лімфобластів, фібробластів) до периваскулярного простору. В контрольній групі були зареєстровані поодинокі лімфобласти та фібробласти в периваскулярному просторі як безпосередньо при введенні фізіологічного розчину, так і на 14 та 28 добу експерименту. Наявність поодиноких клітин є фенотипічною особливістю мишей та не свідчить про ураження міокарда. Разом із тим активація процесів міграції лімфоцитів та фібробластів

до периваскулярного простору є типовим проявом процесу запалення та розвитку фіброзу. При цьому більш виражена міграція спостерігалася при ізопротереноловому пошкодженні. Слід зазначити, що з плином часу (28 доба порівняно з 14 добою) при адреналіновому пошкодженні міграція клітин до периваскулярного простору залишалась сталою, а при ізопротереноловому пошкодженні зростала. В обох моделях порушується кровонаповнення артерій, капілярів та венул. Це формує передумови для порушення процесів нормального самовідновлення і є характерною ознакою ішемічного ушкодження серцевого м'яза.

Таким чином, застосування в експерименті катехоламінів, а саме розчину адреналіну (в дозі 3,6 мг/кг) та ізопротеренолу (в дозі 100 мг/кг в 0,1 мл 0,9 % розчину NaCl), дозволило отримати очікуване пошкодження та змодельовати серцеву недостатність піддослідних тварин. Деякі з цих змін з часом нівелюються та інколи взагалі зникають, а деякі ознаки навпаки – прогресують. Незважаючи на те, що хімічні речовини належать до однієї групи катехоламінів, зміни, що вони викликають у міокарді, характеризуються різним рівнем вираженості. Більш глибокі ураження спостерігаються у тварин, яким вводили ізопротеренол. Ці ознаки зберігаються та прогресують із часом, що свідчить про стабільність моделі, та характерні для розвитку постішемічних уражень при хронічних захворювань серця. При адреналін-індукованій моделі ушкодження міокарда реєструвалось часткове відновлення порушень ЕКГ та морфологічних змін у міокарді на 28 добу порівняно з 14 добою. Динаміка сукупності ЕКГ та морфологічних ознак, що реєструвались у групі тварин, яким вводили адреналін, більш характерна для гострого ушкодження серця.

Висновки

1. Застосування адреналіну та ізопротеренолу в експериментальних тварин призводить до функціональних та морфологічних змін міокарда та формує експериментальну модель серцевих захворювань.
2. При адреналін-індукованій моделі в міокарді виникають зміни, які відновлювались із плином часу, що характерно для гострого ураження серця.
3. При ізопротеренол-індукованій моделі виникають морфо-функціональні зміни в міокарді, які з часом поглиблюються та прогресують. Ці процеси більш характерні для хронічного ушкодження серця.
4. Для вивчення хронічних захворювань серця (хронічна серцева недостатність, кардіоміопатія, хронічні міокардити тощо) перевага може бути надана ізопротеренол-індукованій моделі уражень міокарда.

Література

1. A Simple and Fast Experimental Model of Myocardial Infarction in the Mouse. Jinfeng Wang, Huaben Bo, Yin Wu, et al. // *Tex Heart Inst J.* – 2006. – Vol. 33(3). – P. 290–293.
2. Хара М.Р. Роль холінергічної системи в патогенезі адреналінової міокардіодистрофії у тварин різної статі: Автореферат дисертації...д-ра мед.наук. – Тернопіль, 2006. – 32 с.
3. Лепявко А.А. Морфометричний аналіз ступеня структурного пошкодження міокарда в щурів різного віку і статі при дії токсичної дози адреналіну / А.А. Лепявко, М.Р. Хара // *Клінічна та експериментальна патологія.* – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 29–31.
4. Лебедева Т.А. Вплив попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту на метаболічні процеси в ушкодженному адреналіном міокарді в експерименті: Автореф. дис.... канд. мед. наук: Спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / Т.А.Лебедева. – Тернопіль, 2009. – 23 с.

5. Мисула І.Р. Морфологічні зміни серцевого м'яза щурів при гіпоергічному та гіперергічному перебігу адреналінової міокардіопатії в експерименті / І.Р. Мисула, А.Б. Бойків // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. — 2008.— Т. 8, № 1. — С. 47–51.
6. Ерохина И.Л., Оковитый С.В., Куликов А.Н., Казаченко А.А., Емельянова О.И. Влияние ингибиторов ренин-ангиотензиновой системы на плотность тучных клеток в миокарде, перикарде и легком крысы при экспериментальной сердечной недостаточности // Цитология. — 2009. — Том 51, № 9. — С. 736–740.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА В ИССЛЕДОВАНИИ НОВЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ СЕРДЦА

Доманский Т.Н.

В исследовании проведен сравнительный анализ функциональных (ЭКГ) и морфологических признаков поражения миокарда при адренало-индуцированной и при изопротеренол-индуцированной модели кардиомиопатии неишемического генеза на мышцах. Доказано, что при исследовании заболеваний, сопровождающихся хронической сердечной недостаточностью, более целесообразно использовать изопротеренол-индуцированную модель поражения.

Ключевые слова: *моделирование, заболевания сердца, катехоламины.*

EXPERIMENTAL MODEL OF MYOCARDIAL INJURY IN THE STUDY OF NEW TREATMENTS OF HEART DISEASE

Domansky T.M.

The study conducted a comparative analysis functional (ECG) and morphological features of myocardial damage during adrenaline-induced and in isoproterenol-induced cardiomyopathy model of non-ischemic genesis in mice. It is shown that to study of diseases that are accompanied by congestive heart failure it is more appropriate to use isoproterenol-induced lesion model.

Key words: *modeling, heart disease, catecholamines.*