

СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПОСТИНФАРКТНОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ С.Н.

Литвинович; А.В. Раков, к.м.н., доцент; И.Р. Ёрш, к.м.н., доцент

Кафедра госпитальной терапии

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Экспериментально была выполнена модель постинфарктной сердечной недостаточности на мелких лабораторных животных (мыши). Для подтверждения хронической сердечной недостаточности использовали эхокардиографический метод диагностики, макро- и микроскопический методы, определение активности гена натрийуретического пептида в кардиомиоцитах. Были выявлены рубцовая ткань на участке инфаркта миокарда, достоверное различие в показателе соотношения между конечной систолической и конечной диастолической площадью левого желудочка сердца между экспериментальной и контрольной группами животных, а также увеличение более чем в 10 раз ($p < 0.001$) уровня натрийуретического пептида в экспериментальной группе животных по сравнению с контрольной.

Ключевые слова: эксперимент, миокард, сердечная недостаточность.

Postinfarction cardiac insufficiency was simulated experimentally on small laboratory animals (mice). To confirm chronic cardiac insufficiency echocardiographic method, macro- and microscopical methods were used and the activity of natriuretic peptides gene in cardiomyocytes was determined. The scar tissue in the infarction area, significant difference in ratio index between end-systolic and end-diastolic area of the left ventricle of the heart between experimental and control groups of animals as well as more than ten-fold increase ($p < 0.001$) in natriuretic peptides in the experimental group of animals in comparison with controls was revealed.

Key words: experiment, myocardium, cardiac insufficiency.

Возможность воспроизведения у животных того или иного заболевания человека может оказать существенную помощь в разработке мероприятий по борьбе с различной патологией. Экспериментальные модели болезней человека широко используются для выяснения роли различных факторов внешней и внутренней среды в возникновении и развитии патологических процессов, дают возможность подробно изучать их патогенез и изыскивать средства для активного терапевтического вмешательства.

Хроническая сердечная недостаточность – конечная стадия многих сердечно-сосудистых заболеваний, важная причина нарушения трудоспособности и сокращения продолжительности жизни населения развитых стран. Поэтому необходимы более глубокое понимание этиологии, патогенеза, разработка креативных методов лечения, что немалозначимо без моделирования соответствующих симптомов заболевания на лабораторных животных.

Целью нашего исследования является разработка методики моделирования постинфарктной сердечной недостаточности на мелких лабораторных животных.

Материалы и методы

Мыши C57BL/6/J в возрасте 14-16 недель (весом 22-30.5 г) в количестве 50 штук; эндотрахеальная трубка размером 40.0 мм на 1.0 мм, которая представляет собой полиэтиленовую трубку из уретана с металлическим мандреном, один конец которой срезан под углом 45 градусов; весы электронные лабораторные (max. 400 г, мин. 0,1 г), аппарат для искусственной вентиляции лёгких мелких лабораторных животных Mini Vent, источник света, лигатура пролен № 6.0 с атравматической иглой, кетгут, пинцеты анатомические, вещества для наркоза, операционный столик с подогревом, 5 % спиртовой раствор йода, микроскоп, кислородный баллон.

Результаты исследования

Операции проводились под 1.5% изофлюрановым наркозом. В операционных условиях лабораторное животное, в положении на спине, фиксировалось на операционном столе. Лигатура проводилась за областями пе-

редних верхних резцов и туго натягивалась таким образом, чтобы шея была слегка оттянута. После выдвигания языка вперёд с помощью анатомического пинцета, визуально вводилась эндотрахеальная трубка на расстояние 5 мм от гортани с последующей её фиксации, во избежание её смещения. Свободный конец трубки был соединён с аппаратом искусственной вентиляции лёгких Mini Vent Harvard Instruments, который обеспечивал поступление наркозной смеси в объёме 200 микролитров с частотой 150 дыханий в минуту.

Животное фиксировалось на спине с ротацией вправо, что предназначалось для лучшей экспозиции сердца и левого желудочка. Операция проводилась на операционном столе при температуре 37 °С. После обработки операционного поля раствором йода (рисунок 1) проводилось препарирование кожи и подкожной клетчатки в области проекции сердца.

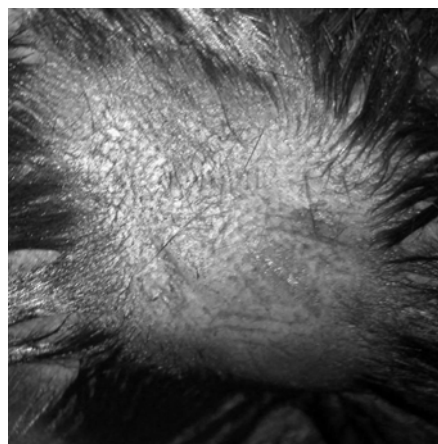


Рисунок 1 – Операционное поле, обработанное раствором йода

Тупым методом в соответствии с топографией наружная и внутренняя грудные мышцы разделялись (рисунок 2).



Рисунок 2 – Разделение наружной и внутренней грудных мышц

Торакотомия проводилась в 5 левом межреберье. После вскрытия грудной клетки и перикарда проводилась перевязка передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии под микроскопом проленом № 6.0 атравматической иглой. Шов проходил под артерией на расстоянии 1-3 мм от верхушки нормально расположенного левого ушка (рисунок 3).

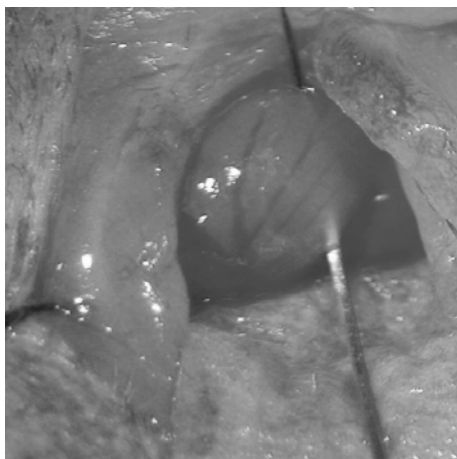


Рисунок 3 – Прохождение иглы под передней межжелудочковой ветвью левой венечной артерии

Затем переднюю межжелудочковую ветвь левой венечной артерии сдавливали с наложением узла (рисунок 4).

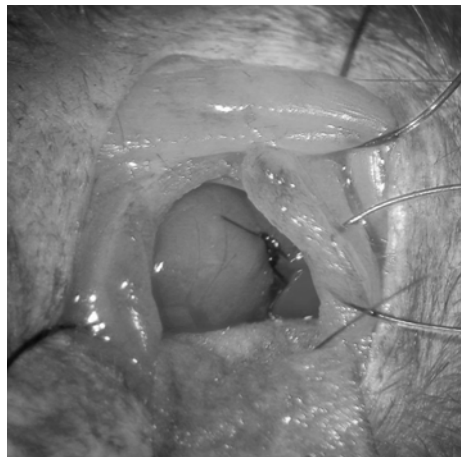


Рисунок 4 – Перевязка передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии

Факт перевязки данной артерии подтверждался изменением интенсивности окраски миокарда ниже места перевязки, а также видимым нарушением сократимости миокарда левого желудочка. Сердечная венозная сеть сердца была хорошо видна и не наблюдалось закупорки вен при указанных манипуляциях. Чтобы усилить достаточное расправление лёгких перед окончанием операции, дыхательный объём был увеличен до 300 мл, а частота дыхания уменьшилась до 100 раз/мин. Грудная клетка была зашита проленом с репозицией мышц, а кожа – при помощи кетгута (рисунок 5).

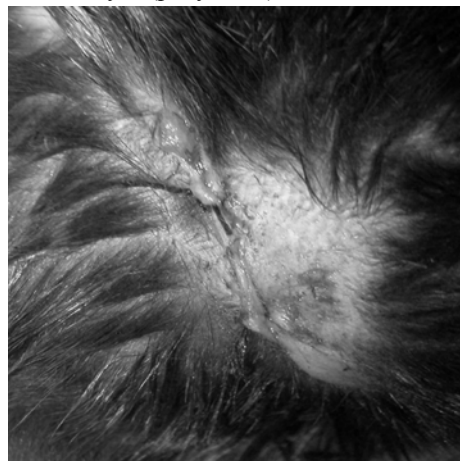


Рисунок 5 – Ушитый кожный покров

После чего животное было перевёрнуто на грудь и вентилировалось 100% кислородом до полного пробуждения от наркоза. В последующем экспериментальное животное помещалось в клетки со столиком-инкубатором, который поддерживал постоянную температуру 37 °С на 2 часа. Антибиотики в процессе эксперимента не назначались. Раны заживали без явно выраженной инфекции, что было подтверждено в последующем при аутопсии.

Для подтверждения хронической сердечной недостаточности использовали эхокардиографический метод диагностики, макро- и микроскопический методы, определение активности гена натрийуретического пептида в кардиомиоцитах.

При проведении эхокардиографического исследования из левого парастернального доступа в М-режиме у животных, при помощи ультразвукового сканера Medical Systems Vivid 7 и датчика 12 МГц фирмы General Electric, США под перитонеальным наркозом с применением растворов кетамина и силасина в дозах, соответственно, 120 мг/кг и 3мг/кг массы тела, была выявлена рубцовая ткань на участке инфаркта. Площадь рубцовой ткани на участке инфаркта миокарда составляла от 0,06 см² до 0,3 см².

Кроме того, по короткой оси определяли показатель соотношения между конечной систолической и конечной диастолической площадью левого желудочка сердца. В группе экспериментальных животных с произведенной перевязкой передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии колебания искомого показателя составляли от 8% до 31%, а в контрольной группе животных без перевязки передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии – от 45% до 50% (p<0.0001).

При макроскопическом исследовании было выявлено, что при перевязке передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии зона некроза захватывала переднебоковую стенку, верхушку и заднюю стенку левого желудочка сердца.

Фактом микроскопического подтверждения перевязки передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии служит рисунок 6.

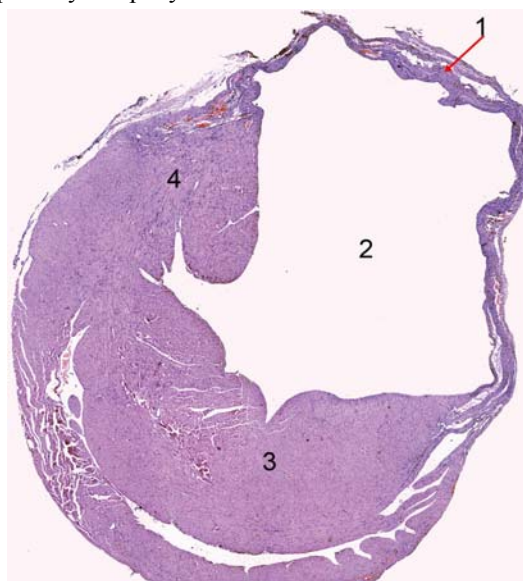


Рисунок 6 – Участок инфаркта левого желудочка сердца.
Окраска Гематоксилин-Эозин, х40

Примечание: 1 - соединительная ткань, образовавшаяся на участке инфаркта миокарда
2 - полость левого желудочка сердца
3 - межжелудочковая перегородка сердца
4 - миокард левого желудочка сердца

Из рисунка 6 видно, что большая половина миокарда левого желудочка сердца выполнена соединительной тканью. Всю оставшуюся сократительную функцию левого желудочка взяла на себя межжелудочковая перегородка и сохранившаяся часть миокарда левого желудочка сердца.

При помощи полимеразной цепной реакции в режиме реального времени была исследована активность гена натрийуретического пептида в кардиомиоцитах. Использовалась система детекции ABI PRISM 7900HT фирмы Applied Biosystems. Для определения натрийуретического пептида использовались праймеры TaqMan Gene Expression Assays Mm01255747-g1 фирмы Applied Biosystems, США, для исследования глицероальдегида 3-фосфат дегидрогеназы применялись праймеры TaqMan Gene Expression Assays Mm999999-g1 фирмы Applied Biosystems, США.

Уровни натрийуретического пептида в группе экспериментальных животных, которым была произведена перевязка передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии по сравнению с контрольной группой животных, были увеличены более чем в 10 раз ($p < 0.001$), что подтверждает наличие у них сердечной недостаточности.

Выводы

В результате перевязки передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии у экспериментальных животных наблюдалось нарушение кровообращения переднебоковой стенки левого желудочка сердца, что подтверждено макроскопическим и микроскопическим методами исследования. При использовании ультразвукового метода были выявлены рубцовая ткань на участке инфаркта миокарда, достоверное различие в показателе соотношения между конечной систолической и конечной диастолической площадью левого желудочка сердца между экспериментальной и контрольной группами животных. По сравнению с контрольной группой животных уровень натрийуретического пептида в экспериментальной группе был увеличен более чем в 10 раз.

Таким образом, предложенная методика может быть использована для осуществления моделирования экспериментальной постинфарктной сердечной недостаточности на мелких лабораторных животных.

Поступила 21.04.2011