

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ РІЗНИХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МОДЕЛЕЙ КАРДІОСКЛЕРОЗУ З РОЗВИТКОМ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

©Г. С. Сатурська

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

РЕЗЮМЕ. У статті проведено детальний аналіз ступеня некротизування кардіоміоцитів на ранньому етапі дослідження при моделюванні кардіосклерозу, інтенсивності розвитку сполучної тканини та вираженості клінічних ознак серцевої недостатності у міокарді на етапі сформованих кардіосклеротичних змін, а також даних про загиблих тварин на усіх етапах дослідження при різних експериментальних моделях кардіосклерозу з серцевою недостатністю. Зроблено висновок про доцільність використання кожної з описаних моделей в експерименті.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кардіосклероз, експериментальна модель, шури.

Вступ. Незважаючи на значні наукові досягнення у галузі експериментальної та клінічної кардіології, статистичні дані про захворюваність, смертність та інвалідизацію населення країн усього світу від серцевої патології залишаються невтішними. За захворюваністю на серцево-судинну патологію Україна посідає одне з перших місць у Європі [1], а за даними міжнародних експертів, від кардіологічної патології страждають більше людей, ніж від раку, СНІДу, та захворювань легень разом взятих. Тому й не дивно, що до проблеми серцево-судинної патології нині прикуті погляди вітчизняних і зарубіжних кардіологів, а також спрямовані зусилля багатьох науковців експериментальної медицини.

Терміном “кардіосклероз” (синонім – “міокардіосклероз”) прийнято називати розростання сполучної тканини в серцевому м’язі, зазвичай на місці загиблих м’язових волокон. Морфологічно розрізняють осередковий і дифузний кардіосклероз, за етіологією – постінфарктний, міокардитичний, кардіосклероз внаслідок кардіоміопатій і замісний кардіосклероз (фіброз міокарда) у результаті міокардіодистрофії різного генезу, в тому числі внаслідок гіпоксії міокарда при атеросклерозі вінцевих артерій серця (так званий атеросклеротичний кардіосклероз) і його поєднання з гіпертонічною хворобою (ангіогенний кардіосклероз). Цікаво відмітити, що у зарубіжній літературі відповідні зміни у міокарді прийнято називати diffuse myocardial fibrosis або fibrosis of myocardium [2].

У науковій літературі зустрічаються описи деяких експериментальних моделей кардіосклерозу, зокрема атеросклеротичного [3], коронарогенного кардіосклерозу, при цукровому діабеті та інших метаболічних порушеннях. Проте, для досліджень патогенетичних особливостей перебігу кардіосклеротичного процесу, необхідно змоделювати та аргументувати вибір для подальших досліджень такої експериментальної моделі, яка б максимально наблизилася до перебігу даної патології у людини. Адже етіологія і патогенез кардіосклерозу у людини дуже складні і багатогранні, що зумовлено дією

надзвичайно великої кількості чинників протягом усього життя. Окрім того, у процесі розвитку кардіосклерозу долучаються інші чинники, що іноді створює додаткові труднощі для науковців-клініцистів при інтерпретації причинно-наслідкових зв’язків. Патолофізіологи, завдяки експериментальному методу, створюючи так звані “ідеальні” умови, можуть до певної межі спростити перебіг патології, диференційовано вивчати вплив ріноманітних чинників та поетапно вивчати патогенез. Таке розкладання хвороби чи патологічного процесу на основні ланки дає змогу більш повно відтворити досліджувану патологію з високим ступенем доказовості.

Мета дослідження – порівняти дані, отримані при різних експериментальних моделях дифузного кардіосклерозу, виявити переваги та недоліки кожної моделі, а також вибрати найбільш оптимальну модель для проведення подальших досліджень патогенетичних особливостей кардіосклеротичного процесу.

Матеріал і методи дослідження. Досліді проведено на 72 білих нелінійних щурах-самцях масою 180–250 г. Дослідним тваринам моделювали дифузний кардіосклероз трьома способами. Перший спосіб включав етапи катехоламінового та кальцієвого механізмів пошкодження кардіоміоцитів [4]. Другий спосіб моделювання кардіосклеротичного процесу полягав у створенні в організмі експериментальної тварини високої концентрації адреналіну з наступним некротизуванням кардіоміоцитів та послідуною репарацією із заміщенням некротизованих клітин сполучнотканинними елементами. Особливістю третьої експериментальної моделі дифузного кардіосклерозу було гіпоксичне пошкодження мембран кардіоміоцитів, спричинене гострою крововтратою. Для цього під загальним тіопенталовим наркозом проводили збір крові з яремної вени із розрахунку 1 мл/100 г маси тварини впродовж 30 хв, причому кровопускання здійснювали дискретно, а саме у три етапи при кількісному співвідношенні взятої крові як 2:1:1. Контролем слугували інтактні тварини, аналогічні за віком та масою.

При даних експериментальних моделях провели підрахунок відсотка загиблих тварин через 1 год, 24 год та 30 днів з моменту дії пошкоджувальних чинників. Для визначення ступеня пошкодження та некротизування кардіоміоцитів на ранньому етапі спостереження (1 год та 24 год) дослідили гістологічні зрізи міокарда шлуночків, які фарбували за Гейденгайном та підраховували кількість некротизованих кардіоміоцитів, що забарвлювалися в чорний колір, у 20 випадково вибраних полях зору (збільшення $\times 200$) [5]. Висновок про відтворення кардіосклерозу при усіх експериментальних моделях робили на 30-ту добу після дії пошкоджувального чинника за морфологічними змінами в міокарді, використовуючи фарбування за Масоном [6], що дало можливість диференціювати сполучну тканину, яка при цьому методі фарбування забарвлюється у синій колір.

Усі експериментальні дослідження та евтаназію тварин проводили з дотриманням "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [7]. Результати оброблено параметричними методами варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента [8].

Результати й обговорення. Моделювання дифузного кардіосклеротичного процесу призвело до загибелі деяких тварин. Найбільше щурів загинуло у перші 30–60 хвилин після уведення пошкоджувальних чинників. При катехоламіново-кальцієвій моделі (ККМ) у цей період загинуло 16,7 % тварин, при адреналіновій моделі (АМ) – 33,5 %, а при ГМ (гіпоксичній моделі) – відповідно 42,9 % тварин даної групи (рис. 1). На наступних етапах спостереження, через 24 год і 30 днів після пошкодження міокарда, загибель тварин була меншою і коливалася у межах від 14,3 % до 16,7 % тварин. Найбільш інтенсивна загибель тварин у ранній період моделювання патології зумовлена глибо-

кими розладами метаболічних процесів у міокарді [9, 10]. Цей етап спостереження відповідає аварійній стадії фази компенсаторної гіперфункції міокарда за Ф. З. Меєрсоном, яка розвивається безпосередньо після дії на міокард пошкоджувального чинника і характеризується поєднанням патологічних змін у міокарді із мобілізацією резервів міокарда та організму в цілому. Слід відмітити, що загальна кількість загиблих тварин була найменшою при ККМ і становила 33,4 %.

Отже, при ККМ виживання тварин під час експерименту було максимальним, у порівнянні з іншими моделями, що є дуже важливою умовою для використання даної моделі у подальших дослідженнях.

Усі вищеперераховані моделі дифузного кардіосклерозу включали етап некротичного пошкодження кардіоміоцитів, який вивчали за патогістологічними змінами зрізів серцевої тканини, зафарбованих за Гейденгайном, через 1 год та 24 год після ініціювання некротичного пошкодження міокарда (рис. 2). На даному етапі спостереження виявили окремі та зливні вогнища некротизованих кардіоміоцитів, які забарвлювалися у чорний колір. При мікроскопії мікропрепаратів контрольних тварин зрідка траплялися поодинокі кардіоміоцити, забарвлені у чорний колір, що відображає природні процеси елімінації клітин в організмі.

При порівнянні відсотків некротизованих кардіоміоцитів у тварин на різних етапах розвитку патології виявлено, що на 24 год патології кількість пошкоджених кардіоміоцитів була більшою, ніж на 1 год і ця закономірність виявлялася при усіх досліджуваних моделях, за винятком ККМ, при якій, незважаючи на тенденцію до зростання кількості некротизованих кардіоміоцитів, достовірної відмінності на даних часових проміжках спостереження не було. Вірогідно, що це зумовлено особливістю цієї моделі, а саме поетапним уведенням пошкоджувальних чинників у менших дозах. Це

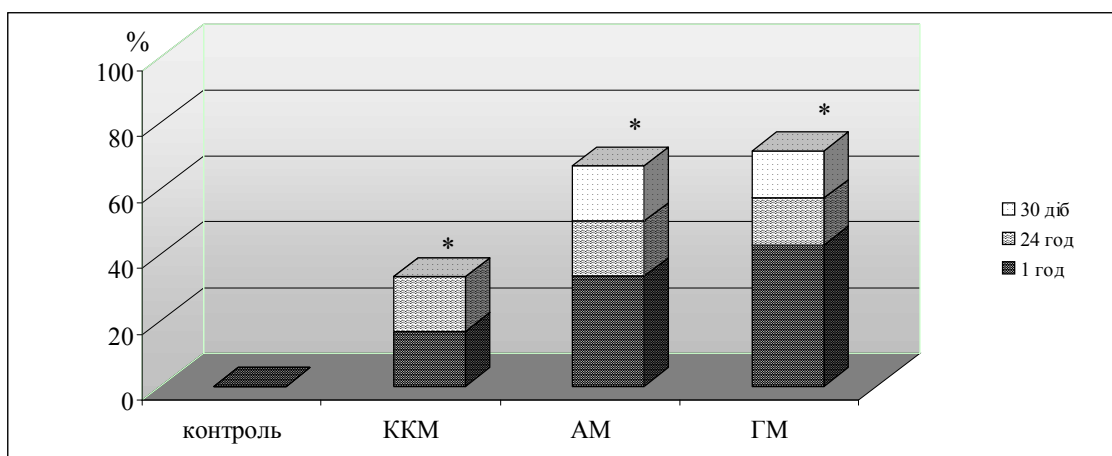


Рис. 1. Порівняння відсотків загиблих тварин при різних моделях кардіосклеротичного процесу на етапах спостереження 1 год, 24 год, 30 днів. (Примітка. * – достовірна відмінність між показниками порівнюваних груп).

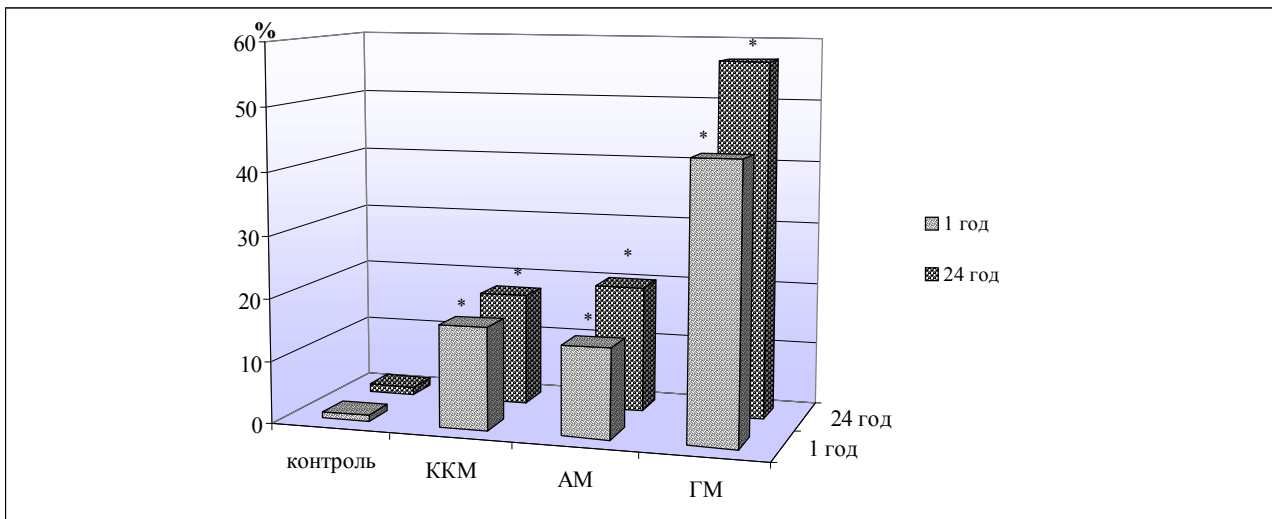


Рис. 2. Відсоток некрозів у мікропрепаратах міокарда шлуночків щурів при моделюванні дифузного кардіосклерозу різними способами на етапах спостереження 1 год та 24 год. (Примітка. * – достовірна відмінність між показниками порівнюваних груп і контролю.)

призводить до активації негайних та довгострокових адаптаційно-компенсаторних механізмів, на тлі яких повторна дії пошкоджувальних чинників викликає менш інтенсивні зміни некротичного характеру у серці.

Отже, дані морфометрії підтверджують попередньо встановлену при аналізі відсотків загиблих тварин закономірність інтенсивнішого пошкодження серця тварин при ГМ та АМ, ніж при ККМ.

На 30 добу розвитку дифузного кардіосклерозу у щурів проводили фарбування поперечних зрізів міокарда за Масоном. На мікропрепаратах сердець здорових тварин (група контролю) сполучна тканина представлена дуже незначно у вигляді тонких колагенових волокон (рис. 3), тоді як

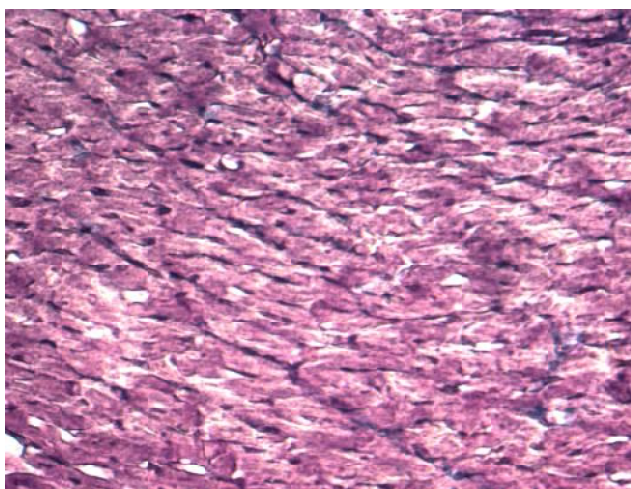


Рис. 3. Міокард щура контрольної групи. Забарвлення за Масоном. х 400.

на мікропрепаратах сердець при розвитку кардіосклерозу за катехоламіново-кальцієвою моделлю (рис. 4), за допомогою введення адреналіну та після гострої крововтрати виявили наявність осередкового кардіосклерозу, периваскулярного склерозу, гіпереластозу внутрішньої мембрани судин мікроциркуляторного русла, гіпертрофії кардіоміоцитів, дифузного розростання сполучної тканини. Всі вищеперераховані ознаки свідчать про розвиток дифузного кардіосклерозу. Необхідно зазначити, що при ККМ кардіосклеротичні зміни були у всіх тварин, яким проводилось моделювання даної патології, тоді як при АМ та ГМ розвиток сполучної тканини був менш рівномірним: від незначних змін у деяких тварин до великих ділянок склерозування серця у інших.

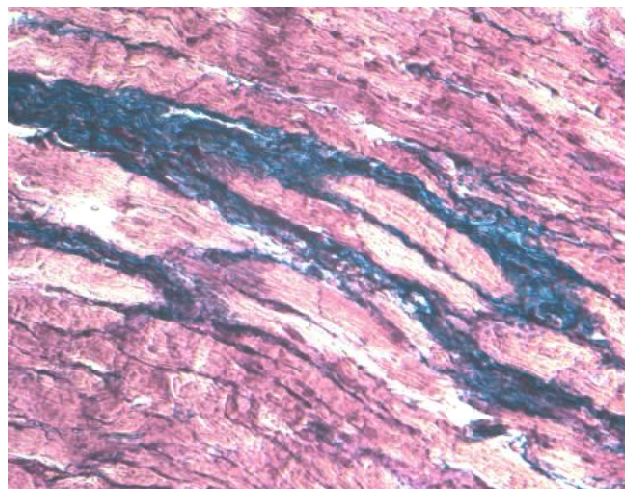


Рис. 4. Розростання сполучної тканини у міокарді щура при ККМ (30-та доба), виражена гіпертрофія кардіоміоцитів. Забарвлення за Масоном. х 400.

Спостереження за тваринами в процесі розвитку кардіосклеротичних змін показало, що до 30-ї доби у більшості тварин з серії ККМ появилися клінічні ознаки хронічної серцевої недостатності за лівошлуночковим типом, такі як: задишка, во-



Рис. 5. Рідина у черевній порожнині щура при моделюванні дифузного кардіосклерозу за ККМ.

Можна стверджувати, що у даний період у всіх тварин з ККМ кардіосклерозу розвивається хронічна серцева недостатність змішаного типу з переважанням лівошлуночкової серцевої недостатності. При КМ та ГМ кардіосклерозу також у деяких тварин були наявні ознаки хронічної серцевої недостатності, проте виявлені зміни були неоднакової інтенсивності у різних тварин в межах однієї групи, що вказує на їх неоднорідність, значну залежність від індивідуальної реактивності тварин, що пов'язано з їх неоднаковою вродженою резистентністю до гіпоксичних впливів.

У клінічній практиці важливе місце займає не тільки дифузний кардіосклероз, а й постінфарктний крупновогнищевий кардіосклероз (постінфарктний рубець), який формується в результаті крупновогнищєвого інфаркту міокарда шляхом заміщення загиблої ділянки м'яза серця сполучною тканиною. Кардіосклероз після дрібновогнищєвих інфарктів міокарда відрізняється лише розмірами рубця, що утворився. Після повторних інфарктів спостерігаються великі рубці різної локалізації, довжини, ізольовані чи поєднані один з одним. Серце при постінфарктному кардіосклерозі збільшене, порожнини його розширені, на розрізі в стінці видні білі поля сполучної тканини. Вони можуть мати вигляд прошарків чи й поширюватися на всю товщу міокарда. Рубцеві поля під впливом систолічного тиску можуть піддаватися розтяганням з утворенням аневризми серця. Слід зазначити, що останнім часом збільшилася частота виявлення дрібновогнищєвого інфаркту міокарда. Ще одним клінічним прототипом дифузного кар-

логі хрипи, які було чути на відстані, ціаноз, пригнічення рухової активності, а також ознаки хронічної серцевої недостатності за правошлуночковим типом: асцит (рис. 5), збільшення печінки (рис. 6).



Рис. 6. Збільшення печінки при моделюванні дифузного кардіосклерозу за ККМ.

діосклеротичного процесу є міокардитичний кардіосклероз – результат міокардитів, що супроводжуються деструктивними змінами кардіоміоцитів і проліферативними процесами в стромі міокарда. Він частіше має дифузний характер, виражається в розповсюдженому огрубінні строми міокарда, що додає їй вигляду грубих решіток, в осередках яких укладені окремі групи м'язових волокон. Слід зауважити, що зміни такого характеру спостерігалися і при ККМ кардіосклерозу в експерименті (рис. 7,8).

Такий кардіосклероз називають стромогенним. У разі загибелі невеликих груп кардіоміоцитів виникають невеликі рубчики, чи вогнища кардіосклерозу. При дифузному ревматичному міокардиті спостерігається дифузний інтерстиціальний фіброз, одночасно як результат ревматичних гранульом біля судин з'являються овальні чи зірчасті рубчики.

Кардіосклероз внаслідок кардіоміопатій і замісний кардіосклероз у результаті міокардіодистрофії в більшості випадків має характер дифузного фіброзу міокарда. Відповідно до причин, у кардіології виділяють два типи кардіосклерозу: атеросклеротичний (при атеросклерозі артерій серця) і міокардитичний (після перенесеного запалення міокарда). Є дані, що свідчать про можливість розвитку кардіосклерозу внаслідок тривалої інтоксикації міокарда алкоголем. Алкогольні кардіопатії в кінцевому підсумку також закінчуються кардіосклерозом, серцевою недостатністю. Отже, катехоламіново-кальцієва модель кардіосклерозу може слугувати експериментальним еквівалентом для більшості захворювань серця, які маніфестують у кардіосклероз з розвитком серцевої недостатності.

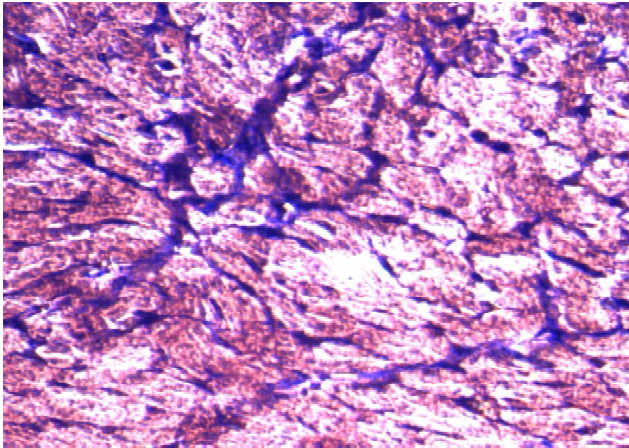


Рис. 7. Периваскулярні та дифузні кардіосклеротичні зміни при ККМ (30-та доба), гіпертрофія кардіоміоцитів. Забарвлення за Масоном. x 400.

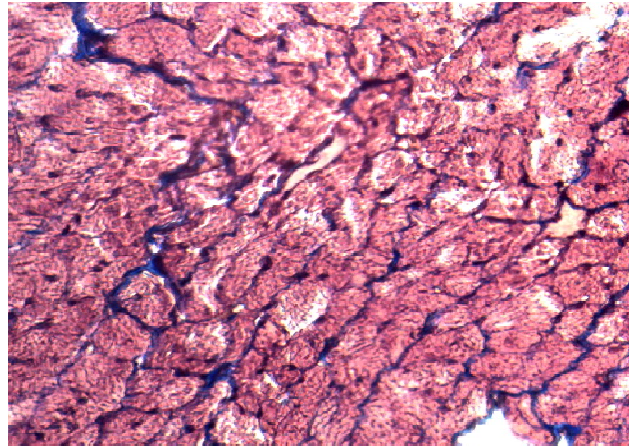


Рис. 8. Розростання сполучної тканини дифузного характеру у міокарді щура при ККМ (30-та доба). Забарвлення за Масоном. x 400.

Висновки. 1. З усіх моделей кардіосклерозу даного експериментального дослідження катехоламіново-кальцієва модель дифузного кардіосклерозу виявилася найбільш оптимальною для використання в експериментальній медицині з метою дослідження патогенезу некротичних і склеротичних змін у міокарді, пошуку шляхів їх фармакологічної корекції, а також для дослідження особливостей патогенетичних змін у цілому організмі в умовах розвитку кардіосклерозу та серцевої недостатності.

2. Модель дифузного кардіосклерозу, в якій застосовано катехоламіново-кальцієву деструкцію кардіоміоцитів, має стовідсотковий рівень відтвореності, що підтверджується об'єктивними даними гістологічного дослідження та наявністю у всіх тварин ознак серцевої недостатності, а також,

що дуже важливо для експериментальних досліджень, супроводжується низьким рівнем смертності експериментальних тварин.

3. Гіпоксичну та адреналінову моделі кардіосклерозу можна рекомендувати лише для диференційованого вивчення дії даних етіологічних чинників, а в інших випадках – обмежити через високу смертність експериментальних тварин.

Перспективи подальших досліджень. У наступних дослідженнях необхідно поглибити вивчення патогенетичних особливостей розвитку кардіосклеротичного процесу залежно від вікової та статевої реактивності організму, а також продовжити дослідження холінергічної регуляції серця при дифузному кардіосклерозі в експериментальних умовах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лугай М. І. Захворюваність і смертність від хвороб системи кровообігу в Україні / Лугай М. І., Дорогий А. П. // Нова медицина. – 2002. – № 3. – С.18–21.
2. Evaluation of diffuse myocardial fibrosis in heart failure with cardiac magnetic resonance contrast-enhanced T1 mapping / L. Iles, H. Pfluger, A. Phrommintikul [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2008. – Vol. 4, № 52 (19). – P. 1574–1580.
3. Кондаков И. И. Экспериментальный атеросклероз и лейкоцитарный клиренс липидов при аллогенной трансплантации криоконсервированной плаценты / И. И. Кондаков // Проблемы криобиологии. – 2006. – Т.16, №4. – С. 448.
4. Пат. 66297 Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання дифузного кардіосклерозу / Хара М. Р., Боднар Я. Я., Сатурська Г. С., Пелих В. Є.; заявник і патентовласник Терн. держ. мед. університет ім. І. Я. Горбачевського. – № u 2011 08088 ; заявл. 29.06.11 ; опубл. 26.12.11, Бюл. № 24.
5. Автандилов Г. Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах мор-

фометрии / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина. – 1984. – С. 10–57.

6. Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники / Меркулов Г. А. – Л. : Медицина, 1969. – 422 с.

7. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.

8. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Стентон Гланц; пер. с. англ. Ю. А. Данилов, Н. Е. Бузикашвили, Д. В. Самойлова. – М. : Практика, 1998. – 459 с.

9. Сатурська Г. С. Визначення інтенсивності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді щурів в умовах розвитку серцевої та ендокринної патології / Г. С. Сатурська, Н. Я. Потіха, В. Є. Пелих // Буковинський мед. вісник. – 2012. – Т. 16, № 3. – С. 95–98.

10. Сатурська Г. С. Вплив активатора опіатних рецепторів даларгіну на інтенсивність процесу ліпопероксидації в пошкодженому адреналіному серці залежно від статі / Г. С. Сатурська, М. Р. Хара // Здобутки клін. та експер. мед. – 2008. – Т. 8, № 1. – С. 60–63.

COMPARATIVE ANALYSIS OF DIFFERENT EXPERIMENTAL MODELS OF CARDIOSCLEROSIS WITH HEART FAILURE

©**H. S. Saturdayska**

SHEI «Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky of MPH of Ukraine»

SUMMARY. This article represents full analysis of the cardiomyocytes' necrosis degree in early stage of cardiosclerosis, the intensity of the connective tissue development and the appearance of clinical signs of heart failure in the myocardium at the stage of formed cardiosclerotic changes, and data about dead animals at all stages of the research in different experimental models of cardiosclerosis with heart failure. The conclusion about the expediency of using each experimental models was made.

KEY WORDS: cardiosclerosis, experimental model, rats.