

Н.В.Станишевская

ГУ «Днепропетровская
медицинская академия
МЗ Украины»

Ключевые слова: ишемическое предсостояние, некроз миокарда, резистентность миокарда, экспозиционная динамика сорбции.

Надійшла: 13.11.2015

Прийнята: 22.12.2015

УДК 616-08:616-008.921.1-008.64-021.7

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОКАРДА ЖЕЛУДОЧКОВ СЕРДЦА КРЫС ПРИ НЕКОРОНАРОГЕННОМ НЕКРОЗЕ В РАЗНЫЕ СТАДИИ ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕДСОСТОЯНИЯ

Реферат. Были изучены экспозиционная динамика сорбции и гистологическое строение миокарда в разные стадии ишемического предсостояния и при некоронарогенном некрозе. Установлено, что ишемическое предсостояние повышает резистентность сердца, что проявляется снижением летальности при моделировании некроза миокарда и позитивными признаками функциональных и морфологических изменений. Позитивная динамика функциональных показателей проявлялась в том, что экспозиционная динамика сорбции в миокарде желудочков сердца повышалась во всех сериях эксперимента по сравнению с контролем. Однако в большей степени это отмечалось после моделирования некроза миокарда в первой стадии ишемического предсостояния, во второй стадии данный показатель был ниже, что свидетельствует о включении компенсаторно-приспособительных механизмов для обеспечения структурной и функциональной целостности миокарда.

Morphologia. – 2015. – Т. 9, № 4. – С. 72-75.

© Н.В.Станишевская, 2015

✉ nataly2004_ig@mail.ru

Stanishevskaya N.V. Morphofunctional changes in the myocardium of the rat heart ventricles with noncoronarogenic necrosis in different stages of ischemic precondition.

ABSTRACT. Background. The incidents of the cardiac ischemic disease and it's complications for the last years increase in all over the world. Some authors think that short periods of ischemia make myocardium more resist to long coronary occlusion. This cardioprotective mechanism was named ischemic preconditioning(IPC). Some authors believe that short periods of hypoxia contribute to the resistance to hypoxic myocardial injury . Today, however, poorly understood mechanisms of cardioprotective action IPC. **Objective.** The purpose of the study was to determine the effectiveness of ischemic preconditioning to increase the body resistance and morphofunctional adaptation of the heart to noncoronary necrosis of myocardium **Methods and results.** The study was carried out on the white Wistar rats. Exposition dynamics of sorption in the myocardium of heart ventricles was studied. This score was studied by the intracardiac entering 0,5% water solution neutral red with next getting alcoholic extract from myocardium tissue. This extract was studied with concentration photocolormeter. Sorption index was calculated in micrograms / mg by dividing the quantitative indicator of the concentration of neutral red on the weight of solids piece myocardium. Also histological sections of the myocardium of ventricls were studied at different stages of ischemic precondition and noncoronarogenic necrosis. **Conclusion.** Positive dynamics of functional scores manifested in the fact that the exposition dynamics of sorption in the myocardium of the heart ventricles was increased in all the experimental series, compared to the control and to a greater extent after the modeling of the necrosis of myocardium in ischemic precondition first step. In second step this score was lower. Changes in the functional parameter correlated with the morphological changes in the myocardium.

Key words: ischemic precondition, necrosis of myocardium, myocardial resistance, exposition dynamics of sorption.

Citation:

Stanishevskaya NV. [Morphofunctional changes in the myocardium of the rat heart ventricles with noncoronarogenic necrosis in different stages of ischemic precondition]. *Morphologia*. 2015;9(4):72-5. Russian.

Введение

Одной из актуальных проблем медицины нашего времени остается сердечно-сосудистая патология [1, 2]. При неблагоприятных условиях стресс, гипоксия, аутоиммунная реакция или экспериментальная адреналиновая интоксикация

могут явиться причиной развития некоронарогенного некроза миокарда (НМ) [3]. Ряд авторов считают, что короткие периоды гипоксии способствуют повышению резистентности миокарда к гипоксическим повреждениям [4]. Этот кардиопротекторный механизм был назван «ischemic

preconditioning» – то есть «ишемическое предсостояние» (ИПС) [5]. Однако на сегодняшний день недостаточно изучены механизмы кардиопротекторного действия ИПС

Цель работы – определить эффективность ишемического предсостояния (ИПС) в повышении резистентности организма и функциональной адаптации сердца к некоронарогенному некрозу миокарда (НМ).

Материалы и методы

Исследование проведено на 50 крысах-самцах линии Wistar. В контрольную группу вошло 10 интактных животных. В опытную – 40 крыс. 1-я опытная группа (10 крыс) – моделировали ишемическое предсостояние (ИПС), для чего их содержали 30 – 40 мин в гипоксической среде с 10 об. % O₂. 2-я опытная группа (10 крыс) – моделировали некоронарогенный некроз миокарда (НМ) введением токсичной дозы 0,1% адреналина из расчета 0,25 мл на 100 г массы животного. 3-я и 4-я опытные группы (20 крыс) – моделировали НМ сразу после моделирования ИПС – в ИПС-I (10 крыс) и через 24 часа после моделирования ИПС - в ИПС-II (10 крыс). Изменение ЭДС у пяти животных каждой исследуемой группы изучали путем сравнения количественных показателей сорбционной способности сердечной ткани контрольных и опытных животных [6-8]. Исследование проводили под общим обезболиванием (внутримышечно 0,2 мл калипсола на 100 г массы животного) внутрисердечно вводился 0,5% водный раствор нейтрального красного (класс по Colour Index 2-е издание, BR №50040) из расчета 0,5 мл на 100 г массы животного. Для стандартизации показателей сорбционной способности миокарда экспериментально установили “пик сорбции”, который был определен на 15-ой минуте экспозиции нейтрального красного в организме животного.

Через 15 минут после инъекции раствора красителя животных декапитуировали, извлекали сердце, выделяли правый и левый желудочки, которые разделяли на блоки.

Кусочки миокарда промывали в дистиллированной воде. Для удаления остатков воды с поверхности кусочков миокарда, их на 2 – 3 мин укладывали на фильтровальную бумагу. Подсохшие кусочки помещали в пронумерованные пробирки с 4,0 мл 70° спирта, в который добавляли 3 капли 0,1% раствора соляной кислоты. Через 24 часа кусочки миокарда извлекали из спирта, помещали в термостат, где высушивали до постоянного веса при температуре +55°С, и взвешивали. Для получения стабильных показателей спиртовые вытяжки очищали путем осаждения сопутствующих примесей. Для этого в каждую пробирку со спиртовой вытяжкой добавляли по 2 мл 100% ацетона. В верхний слой спиртово-ацетоновой смеси вводили неуплотненный кусочек синтетической ваты, и про-

бирки центрифугировали в течение 5 минут при скорости 1000 об/мин. Затем раствор колориметрировали на концентрационном фотоколориметре КФК-2МП. В память ЭВМ колориметра предварительно закладывали концентрационную информацию. Показатель сорбции рассчитывали в мкг/мг путем деления количественного показателя концентрации нейтрального красного на вес сухого остатка кусочка миокарда.

У животных всех групп изучали экспозиционную динамику сорбции миокарда правого и левого желудочков сердца, а также производилось гистологическое исследование миокарда левого и правого желудочков после окрашивания гематоксилином – основным фуксином – пикриновой кислотой.

Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики. Содержание и уход за животными (включая эвтаназию) осуществляли с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных», которые используются для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1985), а также решения «Первого национального конгресса о биотике» (Киев, 2001).

Результаты и их обсуждение

В стадии ИПС-1 в сравнении с контролем выявлено повышение ЭДС в миокарде ПЖ в $1,518 \pm 0,117$ раза, а в ЛЖ – в $1,462 \pm 0,122$ раза.

В стадии ИПС-2 в сравнении с контролем выявлено повышение ЭДС в миокарде ПЖ в $1,394 \pm 0,105$ раза, а в ЛЖ – в $1,268 \pm 0,051$ раза. При сопоставлении с данными, определенными в стадии ИПС-1, обнаружили понижение ЭДС в ПЖ в $-1,09 \pm 0,029$ раза, а в ЛЖ – в $-1,114 \pm 0,09$ раза.

После моделирования НМ в сравнении с контролем выявлено повышение ЭДС в миокарде ПЖ в $1,593 \pm 0,133$ раза, а в ЛЖ – в $1,498 \pm 0,056$ раза.

После моделирования НМ в стадии ИПС-1 в сравнении с контролем выявлено повышение ЭДС в миокарде ПЖ в $1,611 \pm 0,162$ раза, а в ЛЖ – в $1,536 \pm 0,063$ раза.

Оказалось, что ЭДС в ПЖ повысилось в сравнении с показателями, определенными в стадии ИПС-1 в $1,059 \pm 0,028$ раза, а в ЛЖ – в $1,091 \pm 0,001$. В сравнении с показателями, определенными после моделирования НМ, в ПЖ ЭДС повысилось в $1,018 \pm 0,011$ раза, а в ЛЖ – в $1,026 \pm 0,007$ раза. После моделирования НМ в стадии ИПС-2 в сравнении с контролем выявлено повышение ЭДС в миокарде ПЖ в $1,505 \pm 0,143$ раза, а в ЛЖ – в $1,402 \pm 0,062$ раза.

В ПЖ ЭДС повысилась в сравнении с показателями, определенными в стадии ИПС-2 в $1,078 \pm 0,023$ раза, а в ЛЖ – в $1,106 \pm 0,085$.

В сравнении с показателями, определенными после моделирования НМ, в ПЖ ЭДС понизилось в $-1,058 \pm 0,005$ раза, а в ЛЖ – в $-1,071 \pm$

0,008 раза.

ЭДС в ПЖ понизилось в сравнении с показателями, определенными после моделирования НМ в стадии ИПС-1 в $-1,069 \pm 0,006$ раза, а в ЛЖ – в $-1,099 \pm 0,011$.

Оказалось, что большие изменения ЭДС относительно контрольных показателей были у животных после моделирования НМ у интактных животных и в стадии ИПС-1.

При окраске гистологических срезов гематоксилином – основным фуксином – пикриновой кислотой в миокарде животных контрольной группы мышечные волокна окрашиваются в специфический желтый цвет. Ядра окрашиваются в темно-коричневый цвет (рис. 1). В ИПС-1 на гистологических препаратах миокарда желудочков сердца были определены фуксинофильные очаги, которые указывали на метаболические изменения в миокарде (рис. 2). В ИПС-II выявленные изменения практически полностью исчезли.

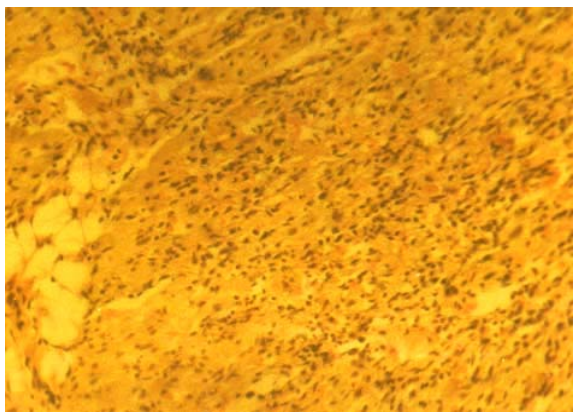


Рис. 1. Миокард желудочка сердца животного контрольной группы. Мышечные волокна окрашены в желто-коричневый цвет, ядра – в коричневый или темно-коричневый. Окраска гематоксилином – основным фуксином – пикриновой кислотой. $\times 80$.

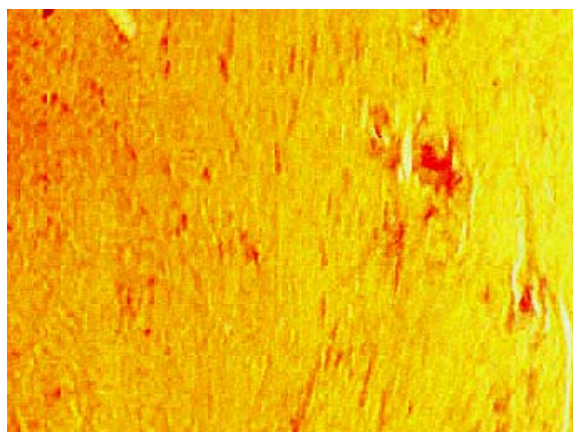


Рис. 2. Миокард желудочка сердца в стадии ИПС-1. Окраска гематоксилином – основным фуксином – пикриновой кислотой. $\times 140$.

После моделирования некоронарогенного НМ гибли 40 % животных. На гистологических препаратах были обнаружены грубые очаги гипоксических повреждений миокарда, вплоть до некроза (рис. 3). После моделирования некоронарогенного НМ в ИПС-1 гибли 60 % животных. На гистологических препаратах обнаружены неодинаковой интенсивности очаги гипоксических повреждений миокарда. У животных, которые погибли в процессе эксперимента, деструкция миокарда распространялась на всю толщу стенки левого желудочка сердца (рис. 4). После моделирования НМ в ИПС-II выживало 100 % животных. На гистологических препаратах отмечалась позитивная динамика.

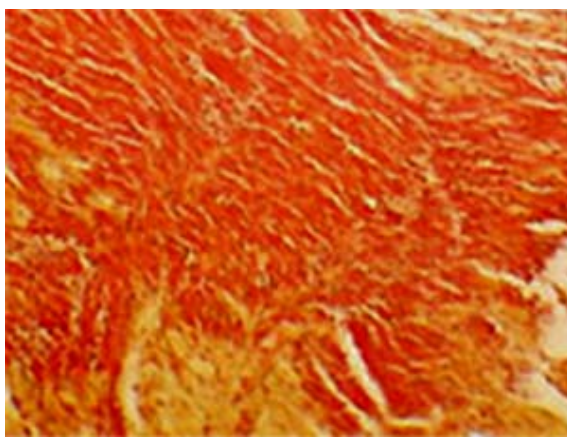


Рис. 3. Миокард желудочка сердца после моделирования некоронарогенного некроза миокарда. Окраска гематоксилином – основным фуксином – пикриновой кислотой. $\times 140$.

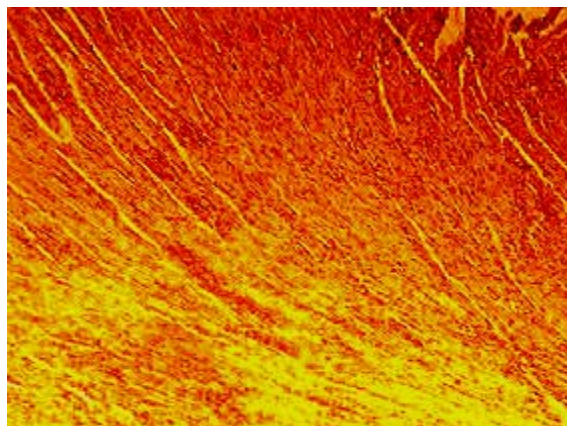


Рис. 4. Миокард желудочка сердца после моделирования некоронарогенного некроза миокарда в стадии ИПС – I. Окраска гематоксилином – основным фуксином – пикриновой кислотой. $\times 120$.

Заключение

Позитивная динамика функциональных показателей проявлялась в том, что экспозиционная динамика сорбции в миокарде желудочков сердца повышалось во всех сериях эксперимента по

сравнению с контролем. Однако в большей степени это отмечалось после моделирования некроза миокарда в первой стадии ишемического предсостояния, а во второй стадии данный показатель был ниже. Изменения функционального показателя коррелировало с морфологическими изменениями. После моделирования некоронарного НМ в первой стадии ишемического предсостояния гибло 60 % животных. На гистологических препаратах обнаруживались неодиной интенсивности очаги гипоксических повреждений миокарда. После моделирования

НМ во второй стадии ишемического предсостояния выживало 100 % животных. На гистологических препаратах отмечалась позитивная динамика. Последнее свидетельствует о включении компенсаторно-приспособительных механизмов обеспечивающих структурную и функциональную целостность клеток.

Перспективы дальнейших исследований связаны с проведением комплексного изучения влияния ишемического предсостояния на механизмы адаптации миокарда левого и правого желудочков сердца.

Литературные источники References

1. Amosova EN. Klinicheskaya kardiologiya [Clinical cardiology]. Kiev: Zdorovya; 1998. 711p. Russian.
2. Lutay MI. [The clinical significance of hibernating myocardium: diagnostic and therapeutic approaches]. Ukrainskiy medichniy jurnal. 2000;4(18):12-8. Russian.
3. Xuan YT. An essential role of the JAK-STAT pathway in ischemic preconditioning. Proc Nat Acad Sci USA. 2001;98(16):9050-5.
4. Elsasser A. Hibernating myocardium: an incomplete adaptation to ischemia. Circulation. 1997;96(9):2920-31.
5. Tomai F. Ischemic preconditioning in humans: models, mediators, and clinical relevance.

Circulation. 1999;100(5):559-63.

6. Vinogradov AA. [Dynamics of changes in the permeability of the blood-brain barrier in the development of acute vasogenic cerebral edema-swelling]. Ukrainskiy medichniy almanah. 1998;1:22-4. Russian.

7. Vinogradov AA. Inventor; A method of determining the sorption activity of tissue. Russian patent RU1465767 Mar 15.Int.Cl.G4201379. Russian.

8. Gramenitsky EM Prisziznennoye okrashivaniye zdorovyh i bol'nyh kletok i tkaney [Intravital staining of cells and tissues in health and disease]. Leningrad: Medgiz; 1963. 152 p. Russian.

Станішевська Н. В. Морфофункціональні зміни міокарда шлуночків серця щурів при некоронарогенному некрозі в різні стадії ішемічного передстану.

Реферат. Вивчалася експозиційна динаміка сорбції і гістологічна будова міокарда шлуночків серця щурів у різні стадії ішемічного передстану та при некоронарогенному некрозі. Визначено, що ішемічний передстан підвищує резистентність серця, що проявляється зниженням летальності при моделюванні некрозу міокарда та позитивними ознаками функціональних та морфологічних змін. Позитивна динаміка функціональних показників проявлялася в тому, що експозиційна динаміка сорбції в міокарді шлуночків серця підвищувалася в усіх серіях експерименту в порівнянні з контролем. Проте більшою мірою це виявлялося після моделювання некрозу міокарда в першій стадії ішемічного передстану, в другій стадії цей показник був нижче. Зміни функціонального показника корелювали з морфологічними змінами, що свідчить про вмикання компенсаторно-приспосувальних механізмів для забезпечення структурної та функціональної цілісності міокарда.

Ключові слова: ішемічний передстан, некроз міокарда, резистентність міокарда, експозиційна динаміка сорбції.