

УДК 616.831-005.4-089-092.9

**ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА
МИОКАРДА У КРЫС С МОДЕЛЬЮ
ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ, ВЫЗВАННОЙ
КОАГУЛЯЦИЕЙ ПРАВОЙ СРЕДНЕЙ
МОЗГОВОЙ АРТЕРИИ**

Трофименко Артем Иванович
*Кубанский государственный медицинский
университет, Краснодар, Россия*

Каде Азамат Халидович – д.м.н., профессор
*Кубанский государственный медицинский
университет, Краснодар, Россия*

Дынько Юрий Вячеславович – к.м.н.
МБУЗ ГБ № 2 «КМЛДО», Краснодар, Россия

Занин Сергей Александрович – к.м.н.
МБУЗ ГБ № 2 «КМЛДО», Краснодар, Россия

Колпаков Михаил Васильевич
*Кубанский государственный медицинский
университет, Краснодар, Россия*

Целью работы была гистологическая оценка состояния миокарда у крыс с моделью церебральной ишемии, вызванной посредством коагуляции правой средней мозговой артерии (ПСМА). Эксперименты проведены на 20 белых нелинейных крысах, которые были разделены на две группы. Опытную группу составляли животные, которым выполнялась коагуляция ПСМА с последующим забоем на 3-и сутки; контрольную группу – животные, которым операцию не проводили. В обеих группах животных регистрировали ЭКГ, а также проводили гистологическое исследование головного мозга и миокарда. Обнаружено, что при моделировании церебральной ишемии развивается гистологическая картина ишемии миокарда, диагностическим признаком которой является наличие подъема сегмента ST. Таким образом, церебральная ишемия, полученная путем коагуляции ПСМА, является причиной возникновения ишемии миокарда у крыс.

Ключевые слова: ЦЕРЕБРАЛЬНАЯ ИШЕМИЯ У КРЫС, ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАФИЯ, ИШЕМИЯ МИОКАРДА У КРЫС.

UDC 616.831-005.4-089-092.9

**HYSTOLOGY OF MYOKARDIAL CONDITION
IN RATS WITH CEREBRAL ISHEMIA MODEL
INDUCED BY RIGHT MEDIAL CEREBRAL
ARTERY COAGULATION**

Trophimenko Artem Ivanovich
Kuban state medical university, Krasnodar, Russia

Kade Azamat Chalidovich – MD, prof.
Kuban state medical university, Krasnodar, Russia

Dyin'ko Yurii Vyacheslavovich – MD
City Hospital Nr. 2, Krasnodar, Russia

Zanin Sergei Alexandrovich – MD
City Hospital Nr. 2, Krasnodar, Russia

Kolpakov Michail Vasil'evich
Kuban state medical university, Krasnodar, Russia

The article presented the histological estimation of myocardial condition in rats with cerebral ischemia model induced by coagulation of right medial cerebral artery (RMCA). The experiments were performed in 20 white rats that were divided in two groups. The experimental group consisted of animals with RMCA coagulation and killing on the 3-d day; the controls had no operation. ECG was registered in both groups. The histological investigation of the brain and myocardium was carried out. It was found that histological view of myocardial ischemia had been developed in model of cerebral ischemia. The diagnostic feature of it was ST segment rising. So, the cerebral ischemia induced by coagulation of RMCA was the cause of myocardial ischemia in rats.

Key words: CEREBRAL ISHEMIA, ELECTROCARDIOGRAPHY, MYOCARDIAL ISHEMIA IN RATS.

Введение

Инсульт среди современных медико-социальных проблем занимает одно из ведущих мест. Рост числа инсультов головного мозга (ГМ) среди трудоспособного населения нашей страны является на данный момент одним из самых острых вопросов отечественного здравоохранения. В Российской Федерации заболеваемость инсультом среди лиц старше 25 лет составила $3,48 \pm 0,21$, смертность от инсульта – $1,17 \pm 0,06$ на 1000 населения в год [2]. Доля острых нарушений мозгового кровообращения в структуре общей смертности в России соответствует 21,4 % [2]. Смертность от инсульта среди лиц трудоспособного возраста увеличилась за последние 10 лет более чем на 30 % (41 на 100000 населения) [2].

В последние годы стало ясно, что благодаря эффективной и своевременной нейрореанимационной и нейрохирургической помощи больные с массивными сосудистыми поражениями ГМ все чаще переживают острейший период, и неврологические осложнения инсульта во многих случаях уже не определяют тяжесть состояния больных и летальный исход. При этом на первый план выступает экстрацеребральная патология. Известно, что в первый месяц после инсульта причиной 12 % летальных исходов становятся осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы, которые, однако, в течение года увеличиваются до 28 % [17]. В итоге у пациентов с ишемическим поражением ГМ смертность от кардиальных причин превалирует над таковой непосредственно от инсульта [10, 16]. Во многом, это обусловлено обширным распространением заболеваний сердца в этой популяции больных. Однако нарушения работы сердца могут быть обусловлены непосредственно повреждением ГМ. Так, показано появление различных электрокардиографических (ЭКГ) феноменов в острейшей фазе инсульта: изменения сегмента ST или инверсия зубца T, периодическое появление волн Q, напоминающих изменения при инфаркте миокарда [8, 11]. Так, у половины пациентов, перенесших инсульт и не имеющих пер-

вичной сердечной патологии, обнаруживают различной степени выраженности конкордантные изменения зубца Т и сегмента ST (рис. 1) [12].

На рисунке 1 представлена электрокардиограмма больной П., 65 лет с ишемическим инсультом в бассейне правой средней мозговой артерии (ПСМА). Из анамнеза известно, что выраженной кардиальной патологии у пациентки не было. На ЭКГ на фоне синусового ритма отчетливо прослеживается элевация сегмента ST (А).



Рисунок 1. ЭКГ больной П., 65 лет с ишемическим инсультом в бассейне правой средней мозговой артерии; А – элевация сегмента ST

Нейрогенные депрессии сегмента ST в острой стадии инсульта ухудшают в дальнейшем течение постинсультного периода, а появление существенных изменений на ЭКГ значительно ухудшает как ближайший (30 дней), так и долгосрочный (6 месяцев и далее) прогноз ишемического инсульта (ИИ), достоверно увеличивая показатели смертности [3, 4].

Одними из первых работ, доказавших взаимосвязь поражений ГМ и патологии сердца, а также смертности от сердечно-сосудистых заболеваний, включая внезапную сердечную смерть, стали исследования S. Lavy, J.R. Mikolich и L. Reinstein [11, 13, 15].

Таким образом, ИИ вызывает нарушения сердечной деятельности, которые, в свою очередь, могут оказывать определенное влияние на его

течение и в некоторых случаях являются непосредственной причиной гибели пациента.

Цель работы – гистологическая оценка состояния миокарда у крыс при моделировании церебральной ишемии посредством коагуляции правой средней мозговой артерии.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на 20 белых нелинейных крысах средней массой – 250 ± 25 г. Животных содержали и постановку экспериментов проводили в соответствии с требованиями приказов № 1179 МЗ СССР от 11.10.1983 года и № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 года, а также международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». В эксперименте использовали общий наркоз (0,3 мг золетила в/м; 0,8 мг ксиланита в/м; 0,01 мл 0,1 %-го раствора атропина п/к на 100 г веса животного).

Регистрацию ЭКГ крысам осуществляли на электрокардиографе ЭК 1Т-1/3-07 «АКСИОН» в стандартных отведениях I, II, III (двухполюсные отведения от конечностей: I – левая и правая передние конечности, II – левая задняя и правая передняя конечности, III – левая задняя и левая передняя конечности) в положении на спине с использованием игольчатых электродов, помещаемых подкожно на конечности [5, 6].

Крысы были разделены на две группы: 1-я группа – 15 животных, которым выполнялась коагуляция ПСМА [7] с последующим забоем на 3-и сутки; 2-я группа – 5 крыс, контрольная – операция этим крысам не выполнялась. В 1-й опытной группе животных ЭКГ регистрировали в состоянии глубокого наркоза, во время операции до и после коагуляции ПСМА, а также на 1-е и 3-и сутки после операции. Во второй контрольной группе животных ЭКГ регистрировали во время глубокого наркоза перед забоем.

Постоперационный период сопровождался антибиотикотерапией (бициллин-5) – 30 тыс. ЕД на 100 г веса животного в/м однократно.

Эвтаназию крысам проводили под глубоким наркозом: выполнялась декапитация, далее выделяли ГМ и сердце, ополаскивали их в холодном 0,9 %-м растворе хлорида натрия, далее проводили фиксацию органов в 10 %-м нейтральном формалине, с последующей проводкой в ряду спиртов, заливкой образцов в парафин и приготовлением срезов и стекол. Окрашивание полученных стекол выполняли гематоксилином-эозином [18].

Результаты исследования

Случаев незапланированной гибели и гнойно-септических осложнений в группах исследуемых животных не было. Проведенное морфологическое исследование мозговой ткани у животных 1-й группы показало преимущественное поражение каудопутамена и гибель значительных участков неокортекса, локализованных в бассейне кровоснабжения ПСМА, что согласуется с данными литературных источников [9].

В 1-й группе животных на препаратах (рис. 2) отчетливо выявляются ядерная зона инфаркта мозга (А), многочисленные клетки-«тени» (Б) (погибшие нейроны), В – активированная микроглия, Г – инфильтрации нейтрофилами.

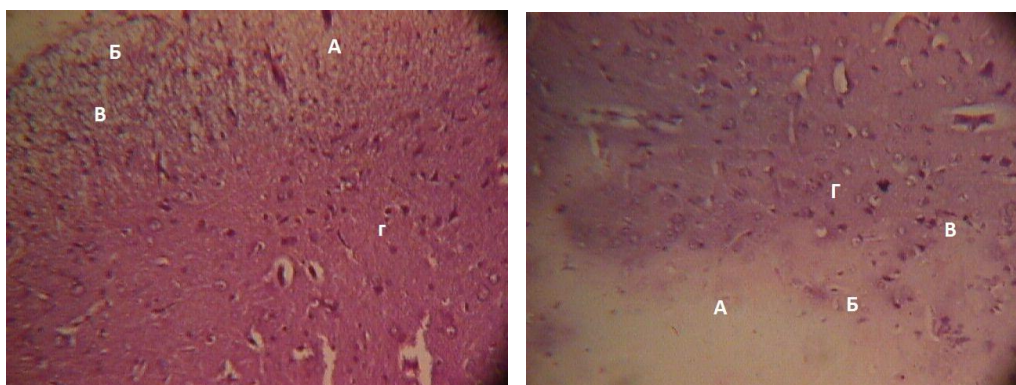


Рисунок 2. Гистологические препараты головного мозга животных 1-й группы: А – ядерная зона инфаркта мозга, Б – клетки-«тени» (погибшие нейроны), В – активированная микроглия, Г – инфильтрации нейтрофилами

Предположительно в наибольшей степени представлены активированная микроглия (В) во всей области ишемии, особенно в зоне пенумбры

[9, 14], а также признаки нейрональной дегенерации [1, 19]. Выявляются признаки инфильтрации нейтрофилами (Г) ишемизированной ткани мозга [14, 19, 20].

На рисунке 3 представлены срезы мозга 2-й (контрольной) группы животных с нормальной картиной мозговой ткани. Мозговая ткань организована, четко видно послойное строение коры (А).

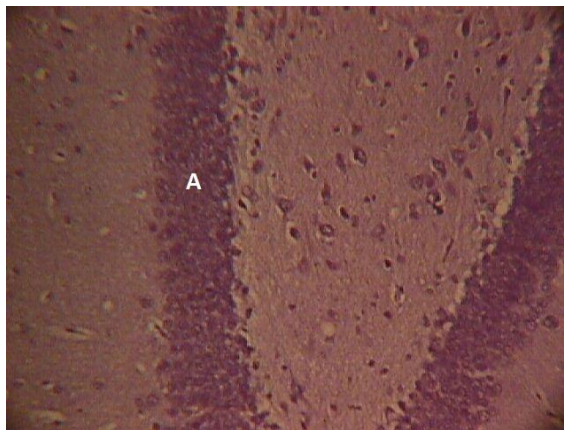


Рисунок 3. Гистологические препараты головного мозга животных 2-й группы (контроль); А – послойное строение коры

При регистрации ЭКГ у крыс 1-й группы первые изменения отмечены через два часа после коагуляции ПСМА (рис. 4, а). Вначале появлялась выраженная брадикардия с ЧСС 50–100 уд./мин (при исходной ЧСС – 180–220 уд./мин), затем через сутки у всех животных этой группы зафиксирован подъем сегмента ST выше изолинии (отмечено стрелками), при сохранении выраженной брадикардии (рис. 4, б). Указанные изменения полностью регрессировали к 3-му дню постоперационного периода. ЭКГ животных с моделированной церебральной ишемией к 3-м суткам не отличалась от ЭКГ крыс из группы контроля.

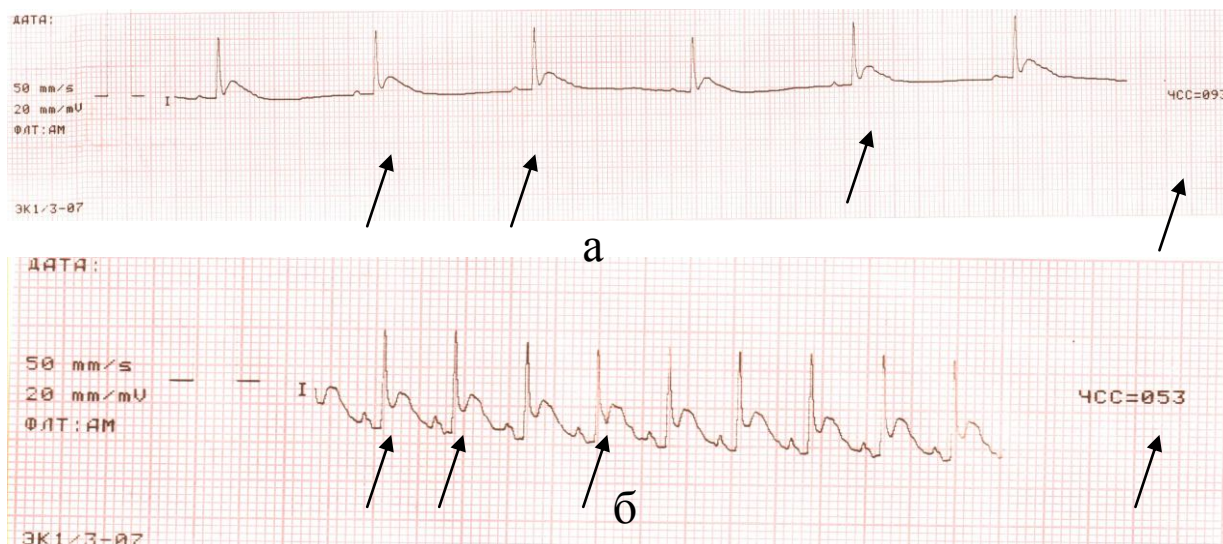


Рисунок 4. Электрокардиограмма крысы после коагуляции ПСМА: а – через два часа; б – через сутки

У животных 2-й группы на ЭКГ отчетливых патологических изменений не выявлено, ЧСС составляла 180–220 уд./мин (рис. 5).



Рисунок 5. Электрокардиограмма крысы из 2-й группы

При гистологическом исследовании миокарда животных 1-й группы была выявлена морфологическая картина ишемии миокарда: набухание цитоплазмы (А), нечеткие границы клеток и ядра (Б); ядра кардиомиоцитов (КМЦ) были слабо окрашены, с нечеткими границами (В), сарколемма сохранена, окраска мышечных волокон неоднородна (Г) (рис. 6).

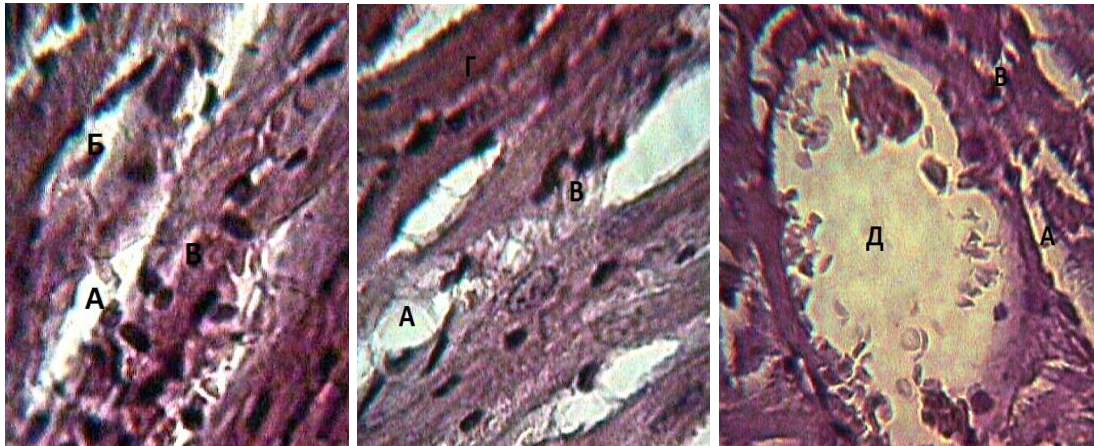


Рисунок 6. Гистологические препараты миокарда животных 1-й группы: А – набухание цитоплазмы, Б – нечеткие границы клеток и ядра, В – нечеткие границы ядер КМЦ слабой окраски, Г – неоднородная окраска мышечных волокон, Д – запустевание сосудов микроциркуляторного кровеносного русла (МЦКР)

Во 2-й группе животных в образцах сердечной мышцы выраженных изменений не обнаружено (рис. 7): ядра КМЦ были хорошо видны, имели удлиненно-овальную форму, располагались ближе к центру цитоплазмы и своей длинной осью были ориентированы параллельно сарколемме (А); в саркоплазме видны поперечные полосы (Б); цитоплазма некоторых КМЦ неравномерно или очень насыщенно окрашена (В); сарколемма четко определялась (Г).

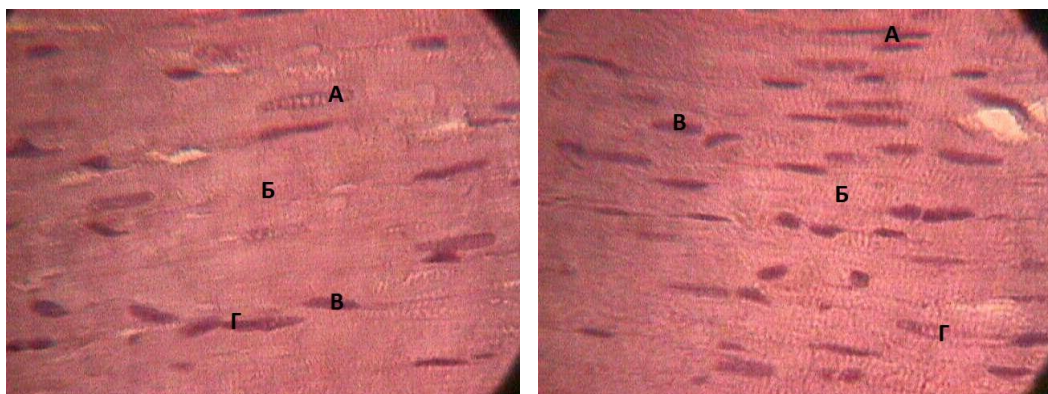


Рисунок 7. Гистологические препараты миокарда животных 2-й группы: А – ядра КМЦ удлиненно-овальной формы ориентированы параллельно сарколемме, Б – поперечные полосы саркоплазмы, В – насыщенная окраска КМЦ, Г – сарколемма

Обсуждение

Таким образом, регистрация ЭКГ при моделировании церебральной ишемии у крыс позволила нам обнаружить, что непосредственно после коагуляции ПСМА развивается выраженная брадикардия, а также фиксируется подъем сегмента ST выше изолинии. Указанные нарушения полностью регрессировали к 3-му дню после операции. Регистрация на ЭКГ подъема сегмента ST выше изолинии и слияние его с положительным зубцом T трактуются нами как зона трансмурального повреждения мышечных волокон [6]. Выявленные изменения на ЭКГ у крыс из 1-й группы обусловлены ишемией миокарда (см. рис. 6). Указанные изменения сохранялись и на 3-и сутки после оперативного вмешательства. ЭКГ прооперированных животных (без моделирования ишемии мозга) существенно не отличалась от ЭКГ крыс из группы контроля. При исследовании гистологических препаратов миокарда животных 2-й группы патологических изменений не выявлено.

Выводы

При моделировании церебральной ишемии у крыс развивается картина ишемии миокарда, диагностическим признаком которой является наличие подъема сегмента ST. Таким образом, церебральная ишемия, полученная путем коагуляции ПСМА, является одним из факторов провоцирования ишемии миокарда. Экстраполяция результатов данного исследования в клинику позволяет заключить, что нарушение кровообращения в бассейне ПСМА является причиной возникновения кардиальной патологии, утяжеляющей состояние больного, и по механизму порочного круга оно способствует ухудшению репаративных процессов в очаге церебральной ишемии.

Список литературы

1. *Боголепов Н.К.* Церебральные кризы и инсульт. – М., 1971. – 254 с.
2. *Гусев Е.И., Коновалов А.Н., Скворцова В.И., Гехт А.Б.* Неврология: национальное руководство. ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1064 с.
3. *Долгов А.М.* Церебро-кардиальный синдром при ишемическом инсульте // *Вестн. интенсивной терапии.* – 1994. – № 2. – Ч. 1. Механизмы формирования. – С. 10–13.
4. *Долгов А.М.* Церебро-кардиальный синдром при ишемическом инсульте // *Вестн. интенсивной терапии.* – 1995. – № 2. – Ч. 2. Критерии и методы диагностики. – С. 15–18.
5. *Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В.* Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – Киев.: Вища школа, 1983. – 383 с.
6. *Орлов В.Н.* Руководство по электрокардиографии. – М., 1983. 67 с.
7. *Трофименко А.И. и др.* Моделирование церебральной ишемии посредством коагуляции средней мозговой артерии у крыс / А.И. Трофименко, А.Х. Каде, В.П. Лебедев [и соавт.] // *Фундаментальные исследования.* – 2012. – № 2. – С. 215–218.
8. *Bozluolcay M. et al.* Electrocardiographic findings and prognosis in ischemic stroke // *Neurol. India.* – 2003. – Vol. 51, № 4. – P. 500–502.
9. *Giulian D. et al.* Reactive mononuclear phagocytes release neurotoxins after ischemic and traumatic injury to the central nervous system // *J. Neurosci. Res.* – 1993. – Vol. 36. – P. 681–693.
10. European Stroke Prevention Study. ESPS Group // *Stroke.* – 1990. – Vol. 21, № 8. – P. 1122–1130.
11. *Lavy S. et al.* The effect of acute stroke on cardiac functions as observed in an intensive stroke care unit // *Stroke.* – 1974. – Vol. 5. – P. 775–780.
12. *Lindgren A. et al.* Electrocardiographic changes in stroke patients without primary heart disease // *Clin. Physiol. and Functional Imaging.* – 1995. – Vol. 14, № 2. – P. 223–231.
13. *Mikolich J.R. et al.* Cardiac arrhythmias in patients with acute cerebrovascular accidents // *JAMA.* – 1981. – Vol. 246. – P. 1314–1317.
14. *Morioka T. et al.* Characterization of microglia reaction after middle cerebral artery occlusion in rat brain // *J. Comp. Neurol.* – 1993. – Vol. 327. – P. 123–132.
15. *Reinstein L. et al.* Cardiac monitoring of the acute stroke patient // *Arch. Phys. Med. Rehabil.* – 1972. – Vol. 53. – P. 311–314.
16. Swedish Aspirin Low-Dose Trial (SALT) of 75 mg aspirin as secondary prophylaxis after cerebrovascular ischaemic events. The SALT Collaborative Group // *Lancet.* – 1991. – Vol. 338, № 8779. – P. 1345–1349.
17. *Vernino S. et al.* Cause-specific mortality after first cerebral infarction (a population-based study) // *Stroke.* – 2003. – Vol. 34. – P. 1828.
18. *Wang-Fischer Y.* Manual of stroke models in rats. Boca Raton: CRC Press, 2009. – 352 pp.
19. *Zhang R.L. et al.* Temporal profile of ischemic tissue damage, neutrophil response and vascular plugging following permanent and transient (2H) middle cerebral artery occlusion // *J. Neurol. Sci.* – 1994. – Vol. 125. – P. 3–10.
20. *Zhang F. et al.* Nitric Oxide Donors Increase Blood Flow and Reduce Brain Damage in Focal Ischemia: Evidence that Nitric Oxide is Beneficial in the Early Stages of Cerebral Ischemia // *J. of Cerebral. Blood Flow and Metab.* – 1994. – Vol. 14. – P. 217–226.