

6. Левченко В. А. Влияние финоптина и α -токоферола на вязкость крови у больных стенокардией // Здоровоохранение Белоруссии.— 1990.— № 7.— С. 21—23.
7. Лейтес А. Л., Шидаков Ю. Х. Особенности окольного коронарного кровотока сердца на фоне моделирования дозированного стеноза дуги аорты // Метаболизм и структура сердца в норме и патологии.— Новосибирск, 1972.— С. 229—233.
8. Махмудов Б. Х., Кадырова Ф. Р. Заболеваемость, смертность и летальность больных острым инфарктом миокарда в Ташкенте // Терап. архив.— 1990.— 62, № 1.— С. 26—28.
9. Насыров Ш. Н., Шварц Г. Я., Кукес В. Г. Влияние нифедипина (фенигидина) и верапамила на активность ренина, уровень ионизированного кальция и альдостерона в плазме крови и показатели гемодинамики у крыс со спонтанной гипертензией // Фармакология и токсикология.— 1990.— № 1.— С. 32—35.
10. Чечулин Ю. С. Поврежденное сердце.— М.: Медицина, 1975.— 000 с.
11. Шалимов С. А. Экспериментальная хирургия.— М.: Медицина.— 1989.— С. 272.
12. Damaše-Michel C., Monastruc J. L. Central cardiovascular actions of calcium-channel antagonists in dogs // Fundam. and Clin. Pharmacol.— 1989.— 3, Suppl.— P. 57—64.
13. Ogilvie R. L. Effects of nifedipine and captopril on vascular capacitance on ganglion-blocked anesthetized dog // Can. J. Physiol. and Pharmacol.— 1990.— 68, N 3.— P. 431—438.
14. Simon R. Kalziumantagonisten: wirkung auf periphere und koronare hamodynamik // Z. kardiol.— 1984.— 73, Suppl.— N 2.— P. 79—88.
15. Huntenburg J. G., Mathy M. J. Negative inotropic and vasculator effects of nifedipine and ryanodine in cardia preparations of rats and guinea pigs // Naunyn-Schemeidebergs Arch. Pharmacol.— 1989.— 339, Supl.— P. 47.
16. Yokoyama M., Sakamoto S. Effects of nifedipine on coronary vasculature in canine models of dynamic and fixed coronary stenoses // J. Pharmacol. and Exp. Therap.— 1985.— 223, N 3.— P. 845—852.

Київ. наук.-дослід. ін-т
фармакології і токсикології
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 27.10.92

УДК 616.112:616.74.004.86

А. Н. Махова, М. П. Лесных

Гистоавтордиографическое и морфометрическое изучение состояния миокарда при оптимизации режимов гипербарической оксигенации

В досліді на 90 кролях та 30 щурах зіставлений вплив різних режимів гіпербаричної оксигенації (кисень 3 ата, 2 ата, суміш кисню та повітря — 3 ата та 1 ата) на стан інтактного та ішемізованого міокарда за умов експериментального інфаркту. Гістоавтордіографічний метод із використанням попередників синтезу нуклеїнових кислот — ^3H -тімідину та ^3H -уридину був гарним критерієм життєздатності і активності відновних процесів у кардіоміоцитах періінфарктної та віддалених від некрозу зон серця. Найкращий ефект — одержаний за умов режиму із тиском кисню 2 ата, найбільша пошкоджуюча дія — при суміші кисню (3 ата) з повітрям (1 ата). Застосування гіпербаричної оксигенації запобігає розвитку вогнища некрозу і дистрофічних змін у передсердях.

Введение

Проблема гипоксии остается наиболее актуальной при патологии сердечно-сосудистой системы и системы кровообращения [2, 6—8, 12, 13]. Несмотря на имевшиеся попытки рбобшить накопленные в литературе данные по действию гипербарической оксигенации (ГБО) на метаболические и репаративные процессы в миокарде [1—5, 9], глубокий анализ механизмов воздействия различными режимами ГБО (с использованием кислородной и воздушной барокамер) на интактный и ишеми-

зированной миокард — остается актуальной задачей экспериментальной и клинической медицины.

Цель нашей работы — сравнительное изучение влияния различных режимов гипербарической оксигенации на состояние тканей сердца при экспериментальных некрозах.

Методика

Опыты поставлены на 90 кроликах и 30 беспородных крысах. Сеансы ГБО проводили в барокамере, представляющей собой переоборудованный автоклав вместимостью 102 л с предохранительным клапаном, стандартным манометром, двумя клапанами, отверстиями для входа кислорода и выхода газов из камеры [1]. Подачу кислорода осуществляли из кислородного баллона через редуктор (кислород — ГОСТ 5583-58). Компрессию осуществляли 5 мин, декомпрессию — 10 мин, кислород подавали со скоростью 6—7 л/мин. Барокамеру вентилировали по открытому контуру через 20 мин. Анализ газовой смеси производили на аппарате Холдена и с помощью газового анализатора ММГ-7. Содержание кислорода в камере колебалось в пределах 93—98 %, углекислоты — до 0,1 %. Сеансы ГБО кроликам проводили в следующем режиме: давление O_2 — 3 ата, продолжительность воздействия — 45 мин, ежедневное число сеансов — 1, общее число сеансов 10. Воздействию подвергали здоровых кроликов (15 животных) и кроликов с экспериментальным инфарктом миокарда (30 животных), полученным наложением лигатуры на переднюю нисходящую ветвь левой коронарной артерии на границе ее верхней и средней трети. В других сериях экспериментов сеансы ГБО проводили при давлении кислорода 2 ата (ежедневно 1 сеанс, общее их число — до 10) также здоровым кроликам (15 животных) и кроликам с экспериментальным инфарктом миокарда (20 животных). Наличие инфаркта определяли с помощью ЭКГ и морфологических методов. Контрольными были 15 интактных кроликов. Для выявления роли воздуха, добавляемого к гипербарическому кислороду 20 беспородным крысам проведен однократный двухчасовой сеанс ГБО с вентилицией по открытому контуру при давлении чистого кислорода 3 ата (10 животных) и смесью кислорода с воздухом при 4 ата, причем на кислород приходилось 3 ата (10 крыс). Контрольными были 10 интактных крыс. Кроликов забивали внутривенным введением тиопентала натрия, крыс — декапитацией.

Материал для морфологического исследования (миокард, легочная ткань) у кроликов был взят на 1, 3, 7, 14, 30, 45-е сутки эксперимента (у крыс — на 1, 3, 7-е сутки). Применяли общеморфологические и гистохимические методы для выявления сукцинатдегидрогеназы (СДГ, по Nachlas), лактатдегидрогеназы (ЛДГ, по Lilli); белков — бромфеноловым синим, ДНК — по Фельгену, РНК — галлоцианинхромовыми квасцами, гликоген — по Шабадашу. Цитофотометрию проводили на одноволновом зондовом цитофотометре. Для выявления клеток, синтезирующих ДНК, вводили 3H -тимидин (20 МБк/кг), РНК — 3H -уридин (200 МБк/кг), белка — 3H -метионин (400 МБк/кг). Гистологические срезы покрывали фотоэмульсией типа «М», и после 2-недельной экспозиции проявляли автографы и подкрашивали гематоксилином и эозином. На всех препаратах подсчитывали индекс меченых клеток и определяли среднюю интенсивность мечения (число зерен из расчета на 1 ядро). Для электронной микроскопии материал фиксировали в 1 %-ном глютаральдегиде с последующей дофиксацией в 2 %-ном растворе OsO_4 и заливали в аралдит. Готовые препараты просматривали в электронном микроскопе ЭВМ-100 Б, с помощью шаблона Weibel и соавт. [14], измеряли объемную долю органоидов на негативах при увеличении 12 000. Линейные размеры клеток определяли с помощью окулярного микрометра МОВ-I-ХОХ. Все морфометрические показатели подвергали статистической обработке по Стьюденту. Кроме того, использовали интегральную оценку по совокупности морфометрических показателей [11].

Результаты и их обсуждение

При воздействии ГБО в кислородной барокамере (3 ата) у intactных крыс и кроликов глубоких признаков структурного повреждения кардиомиоцитов не обнаружено. У крыс после одного сеанса (3 ата, 2 ч) в тканях сердца снижалась активность СДГ, и повышалась — ЛДГ. У кроликов после 7—10 сеансов изменения в кардиомиоцитах выражались появлением небольших участков с вакуольной формой дистрофии, расширением перинуклеарных пространств и цистерн саркоплазматической сети. Эти признаки были выражены значительно слабее при 2 ата.

Более глубокие структурные изменения в тканях сердца и легких наблюдались у крыс при добавлении к кислороду воздуха (4 ата, 1 се-анс).

Эти изменения проявлялись в достоверном снижении активности ферментов СДГ, ЛДГ, уменьшении содержания гликогена, контрактурном повреждении миофибрилл, вакуольной дистрофии кардиомиоцитов. В легких при этом наблюдались чередование участков ателектаза с неизменной легочной тканью, спазм артерий, лейкоцитарные инфильтраты вокруг мелких бронхов и бронхиол, снижение активности СДГ в легочной ткани.

У животных с экспериментальным инфарктом миокарда по-



Рис. 1. Включения ^3H -уридина (синтез РНК) в ядра кардиомиоцитов перинфарктной зоны при воздействии гипербарической оксигенацией (3 ата, 8 сеансов) на 7-е сутки экспериментального инфаркта. Гематоксилин и эозин. Об. 40, ок. 10.

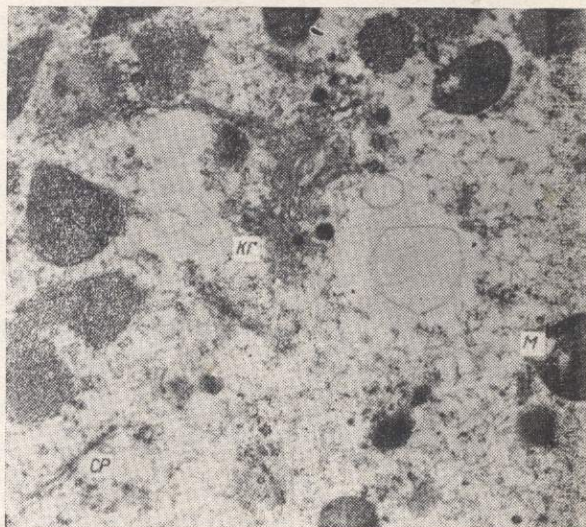
ложительное влияние ГБО на состояние кардиомиоцитов было наиболее выраженным в перинфарктной зоне, что проявлялось при использовании чистого кислорода и давления 3 и 2 ата. Наиболее четкими критериями жизнеспособности кардиомиоцитов являлись включения ^3H -уридина — предшественника синтеза РНК — в ядра клеток перинфарктной зоны. Так, средняя интенсивность мечения клеток на 7-е сутки воздействия ГБО (3 ата) составила $25,0 \pm 2,1$ (рис. 1), на 14-е сутки — $58 \pm 5,1$ при норме $12,8 \text{ зерно/ядро} \pm 1,7 \text{ зерно/ядро}$ ($P < 0,05$). При давлении кислорода 2 ата интенсивность мечения на 7-е сутки составляла более 50 зерен на ядро. При обоих режимах ГБО в перинфарктной зоне отмечалось активное развитие внутриклеточных регенеративных процессов, о чем свидетельствовали увеличение размеров ядер и ядрышек, повышение оптической плотности РНК и белка, более высокие, чем в контроле, активность СДГ и содержание гликогена. Включение ^3H -тимидина в ядра кардиомиоцитов этой зоны у животных, опытной и контрольной групп встречалось не часто, но при воздействии ГБО отмечалось увеличение числа двуядерных клеток, которые по суммарному количеству геномов были полиплоидными.

Интегральная оценка по совокупности признаков при всех этих проявлениях регенеративных процессов позволила обнаружить разницу в их развитии при различных режимах ГБО. При давлении кислорода 3 ата высокий уровень внутриклеточных регенеративных процессов в

кардиомиоцитах наблюдался раньше (уже к 3-м суткам), чем при давлении 2 ата, при котором рост активности происходил медленнее и стабилизировался к 30-м суткам.

При оценке воздействия ГБО на отдаленные от зоны некроза участки миокарда желудочков наиболее эффективным оказалось давление кислорода 2 ата, при котором отмечалась хорошая сохранность кардиомиоцитов с ультраструктурными признаками внутриклеточной регенерации и активным включением ^3H -уридина. Что касается токсического действия ГБО на отдаленные участки миокарда при давлении кислорода 3 ата, отмеченного некоторыми авторами [1, 20], то оно, по результатам наших исследований, больше связано с нарушением обычного течения адаптационных процессов к гипоксии после 7—8 сеансов, чем с прямым токсическим действием. Об этом свидетельствуют более слабое повреждение кардиомиоцитов у интактных животных, получавших ГБО, снижение интенсивности меченя клеток этих зон

Рис. 2. Гипертрофия элементов комплекса Гольджи (КГ), митохондрии (М) с плотно упакованными кристами, гранулярные формы саркоплазматического ретикулума (СР) и свободные рибосомы в кардиомиоците предсердия на 15-е сутки экспериментального инфаркта с воздействием гипербарической оксигенацией (2 ата, 10 сеансов). $\times 20\,000$.



^3H -уридином при инфаркте и отсутствие меченных ^3H -тимидином клеток, уменьшение объемной доли митохондрий на 14-е сутки от $40,6\% \pm 1,0\%$ при инфаркте до $32,5\% \pm 1,6\%$ при инфаркте с воздействием ГБО, на фоне более низких значений гистохимических показателей — содержания гликогена, активности СДГ. При режиме ГБО с давлением кислорода 2 ата отмечалась хорошая сохранность кардиомиоцитов этих зон сердца, которые активно включали ^3H -уридин и ^3H -метионин.

Значительный интерес представляют результаты воздействия ГБО на миокард предсердий, в которых использование последней предотвращало развитие некрозов и глубоких дистрофических изменений. Такие изменения в эксперименте нами обнаружены в 25—30 % случаев, аналогичные результаты получены в клинике [12]. Реактивные изменения кардиомиоцитов предсердий сопровождались высокой интенсивностью меченя клеток ^3H -уридином (до 50 зерен на ядро на 7-е и 14-е сутки), гиперплазией митохондрий, элементов комплекса Гольджи (рис. 2), гранулярных форм саркоплазматического ретикулума и свободных рибосом. Очень характерна реакция специфических секреторных цитогранул на воздействие ГБО, относительная объемная плотность которых снижалась при экспериментальном инфаркте от $1,4\% \pm 0,1\%$ до $0,1\% \pm 0,02\%$ и возрастала в условиях ГБО до $4,3\% \pm 0,5\%$ при ее воздействии на интактное и ишемизированное сердце.

Выводы

1. Использование гистоавторадиографического метода с применением предшественников синтеза нуклеиновых кислот (^3H -тимидина, ^3H -уридина) является хорошим критерием жизнеспособности кардиомиоцитов

ти интенсивности восстановительных процессов в миокарде при различных режимах ГБО.

2. Сравнительная оценка различных режимов ГБО (с давлением кислорода 3 ата, 2 ата, смеси кислорода с воздухом) показала наибольшую ее эффективность при использовании чистого кислорода с давлением 2 ата, при котором отмечалось положительное воздействие на перинфарктную и отдаленные от некроза зоны сердца и миокард предсердий.

A. N. Makhova, M. P. Lesnykh

HISTOAUTHORADIOGRAPHIC AND MORPHOMETRIC ANALYSIS OF THE MYOCARDIAL STATE UNDER OPTIMIZATION OF HYPERBARIC OXYGENATION REGIMES

The experiment on 90 rabbits and 30 rats has been conducted to compare the effect of different regimes of hyperbaric oxygenation (HBO) (pressure of oxygen: 3 ata, 2 ata, oxygen-air mixture: 3 ata and 1 ata, respectively) on the morphofunctional state of intact and ischemic myocardium with experimental infarction. The histoautoradiographic method using ^3H -thymidine and ^3H -uridine, the precursors of nucleic acids' synthesis, proved a good criterion of viability and activity of the regenerative processes in cardiomyocytes of perinfarction and necrosis-distant zones of the heart. The best effect has been obtained when using HBO regime with oxygen pressure 2 ata, the highest damaging effect—oxygen (3 ata)-air (1 ata) mixture. The use of HBO has prevented the development of necrosis foci and dystrophic changes in the auricles.

D. M. Ulyanov Medical Institute,
Ministry of Public Health of Russian Federation, Kuibyshev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабкин С. М. Влияние гипербарической оксигенации на морфофункциональное состояние миокарда, находящегося в условиях экспериментальной ишемии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— Куйбышев, 1976.— 25 с.
2. Бураковский В. И., Бокерия Л. А. Опыт операций на сердце в условиях гипербарической оксигенации и особенности защиты организма этим методом // Гипербарическая медицина: Матер. VII междунар. конгр.— М.: Наука, 1983.— С. 21—25.
3. Коган А. Х., Лосев Н. И., Демидов И. А. К вопросу о механизме лечебного действия ГБО // Гипербарическая оксигенация.— М., 1985.— С. 155—156.
4. Леонов А. Н. Адаптивно-метаболические механизмы гипербарической кислородной терапии // Морфологические аспекты гипербарической оксигенации.— Воронеж, 1984.— С. 3—15.
5. Леонов А. Н. Биоэнергетические дезинтоксикационные и биосинтетические механизмы гипербарической кислородной терапии // Гипербарическая оксигенация.— М., 1985.— С. 153—154.
6. Петров А. В., Быков Э. Г. Морфологические аспекты гипербарической оксигенации // Морфологические аспекты гипербарической оксигенации.— Воронеж, 1984.— С. 16—21.
7. Петровский Б. В., Ефун Е. Н. На пороге 3 десятилетия круг дальнейших вопросов // Гипербарическая оксигенация: Тез. Всесоюз. симп.— М., 1985.— С. 3—5.
8. Ратнер Г. Л. Теоретические аспекты гипербарической оксигенации // ГБО.— 80.— Куйбышев, 1979.— С. 3—9.
9. Резников К. М., Екимов В. В., Филатов А. В., Пелипенко Е. И. Экспериментальное обоснование режимов ГБО при сердечно-сосудистой патологии / Гипербарическая оксигенация: Тез. Всесоюз. симп.— М., 1985.— С. 62—63.
10. Россинская В. В. Состояние сердца и печени при гипербарической оксигенации и особенности течения инфаркта миокарда, леченного этим методом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Краснодар, 1978.— 22 с.
11. Углова М. В., Шляпников В. Н., Углов Б. А. Комплексный методологический подход с применением морфометрии и математического моделирования при изучении нервной ткани в норме и патологии: Метод. письмо.— Куйбышев, 1978.— 14 с.
12. Матова Е. Е., Ходжаева Д. Ю., Мазур Н. А. Изменения миокарда предсердий при внезапной смерти от ишемической болезни сердца // Арх. патологии.— 1975.— 27, Вып. 4.— С. 30—37.
13. Sventek J. C., Iambraski E. J. Effect of 100 percent oxygen on the cardiovascular responses to vasoactive compounds in the dog. // Aviat. Space and Environ. Med.— 1985.— 56, N 10.— P. 972—975.
14. Weibel E. R., Kistler J. S., Seherle W. Practical stereological methods for morphometric cytology // J. Cell. Biol.— 1966.— 30, N 1.— P. 23—36.

Куйбышев. мед. ин-т им. Д. И. Ульянова
М-ва здравоохранения Российской Федерации

Материал поступил
в редакцию 20.12.90