

Методики

УДК 612.12-008.4/.46-005.4-092.4:612.17.08

В.И.Азаров, Л.А.Грабовский, А.А.Мойбенко, Л.В.Тумановская, В.М.Бровкович

Моделирование острой ишемии—реперфузии миокарда у животных с закрытой грудной клеткой и естественным дыханием

Приведено метод відтворення гострого інфаркту міокарда, який може бути використаний в експериментах на великих тваринах (собаках, вівцях тощо) і який дозволяє в умовах, максимально наближених до фізіологічних (закрита грудна порожнина, природне дихання): 1) відтворювати гостру локальну ішемію міокарда та його реперфузію; 2) вивчати зміни ретроградного кровотоку з ішемізованої ділянки міокарда; 3) вивчати динаміку змін реперфузійного кровотоку; 4) вивчати міжкоронарні взаємовідношення; 5) вивчати біохімічні, реологічні та інші параметри крові з ішемізованої ділянки міокарда.

Введение

подавляющее большинство современных экспериментальных исследований по воспроизведению острой ишемии и реперфузии миокарда проведено на животных со вскрытой грудной клеткой и искусственным дыханием [12, 13]. Вместе с тем известно, что вскрытие грудной клетки существенным образом изменяет не только функции дыхания и кровообращения, но и деятельность сердца. Отсутствие присасывающей функции грудной клетки на вдохе резко уменьшает венозный возврат, конечно-диастолический объем желудочков и сердечный выброс на 50 % [10]. Вскрытие грудной клетки может изменять характер нервно-рефлекторных реакций при острой ишемии миокарда [3], а также характер гуморальных сдвигов и вазомоторных реакций коронарных сосудов при повреждении сердца.

Некоторые методы воспроизведения острой ишемии миокарда использовались в экспериментах на животных с закрытой грудной клеткой. Это эксперименты с введением микроэмболов в устье аорты после кратковременной ее окклюзии [7], с селективной эмболией одной из ветвей левой коронарной артерии с помощью спор ликоподия, ртути [14, 15] или различных оклюдеров [11]. Следует отметить, что все перечисленные методы не лишены существенных недостатков. Эмболия мелкими эмболами приводит к неконтролируемой окклюзии мелких коронарных сосудов, эмболии других сосудистых областей (легочной артерии) и, естественно, невозможности исследования реперфузии миокарда; последнее относится и к использованию различных оклюдеров, и к искусственному внутрисосудистому тромбообразованию [8]. Описаны также катетеризация и аутоперфузия собственной

© В.И.АЗАРОВ, Л.А.ГРАБОВСКИЙ, А.А.МОЙБЕНКО, Л.В.ТУМАНОВСКАЯ, В.М.БРОВКОВИЧ, 1995

кровью животного магистральной ветви левой коронарной артерии [6], и катетеризация последней с помощью катетера с двойным просветом типа Swan Ganz [9]. Ишемия—реперфузия миокарда достигается прекращением аутоперфузии и ее восстановлением либо раздуванием и спусканием баллона на конце катетера, введенного в коронарный сосуд. Однако высокая летальность от фибрилляции желудочков при окклюзии магистральной артерии сердца препятствует проведению исследований с длительной ишемией—реперфузией в такой постановке экспериментов.

Целью нашей работы была разработка метода, позволяющего в строго контролируемых условиях надежно воспроизводить острую ишемию и реперфузию миокарда и исследовать ретроградный коронарный кровоток в условиях экспериментов с закрытой грудной клеткой и естественным дыханием.

Методика

Опыты проведены на 32 собаках массой от 16 до 25 кг, наркотизированных хлоралозо-уретаном (0,07 и 0,7 г/кг, внутривенно). Обнажали бедренные артерии и вены, сонные артерии и яремные вены. После введения гепарина (500 Мед) животных катетеризировали через бедренную и сонную артерию аорту и левый желудочек сердца, где регистрировали давление. Минутный объем крови определяли методом термодилуции. О сократительной функции левого желудочка судили по изменениям первой производной внутрижелудочкового давления и индексу сократимости миокарда ($\frac{dp/dt_{\max}}{p}$), ре-

гистрируемому с помощью специализированного вычислительного устройства [5]. Электрокардиограмму регистрировали в I и III стандартных отведениях.

Методика двойной катетеризации коронарного сосуда представлена на рис. 1. Тонкостенный металлический никелевый катетер (К₂) с наружным диаметром трубки 3 мм и внутренним диаметром 2,8 мм, длиной 25 см, со специальным изгибом в концевой части катетера и obturiruyushim кольцом на конце (диаметр obturатора 4 мм) вводили в правую сонную артерию и ретроградно продвигали к устью левой коронарной артерии. Этот катетер служил направляющим для внутреннего тefлонового катетера (К₃, наружный диаметр — 1,7 мм; внутренний — 1,5 мм) с obturатором диаметром 3,0 мм (диаметр которого был на 0,2 мм шире внутреннего диаметра направляющего катетера (К₂) и при введении в сонную и в последующем в коронарную артерию obturатор внутреннего катетера (К₃) перекрывал просвет наружного направляющего (К₂). Проксимальный конец внутреннего тefлонового катетера соединялся через краны Кр₁ и Кр₂ с датчиком давления (Э₁). В этот момент кровоток из бедренной (БА) и плечевой (ПА) артерий, насос (Н) и каплеписец (Кп) были отключены. После ретроградного введения через правую сонную артерию двойного катетера в восходящую аорту до клапанов, дистальный конец направляющего катетера поворачивался влево, вниз и вводился в устье левой коронарной артерии. Метод не требует флуороскопического контроля и основные его этапы детально описаны ранее [4, 6]. При попадании двойного катетера в одну из ветвей левой коронарной артерии давление в просвете внутреннего и наружного катетеров резко уменьшалось до уровня ретроградного в коронарном сосуде (до 15—20 мм рт.ст.). Затем внутренний катетер (К₃) выдвигался на 0,5—0,7 см в просвет коронарного сосуда и начиналась аутоперфузия магист-

ральной ветви коронарной артерии через наружный катетер (K_2 , см. рис. 1) насосом с постоянным расходом собственной крови животного из плечевой артерии. Контроль адекватности кровоснабжения осуществлялся по электрокардиограмме. Как правило, этот адекватный кровоток достигался при уровне давления на 30—40 мм рт.ст., превышавшем системное артериальное давление. В данный момент изменения на ЭКГ отсутствовали или были минимальны (рис. 2, 1).

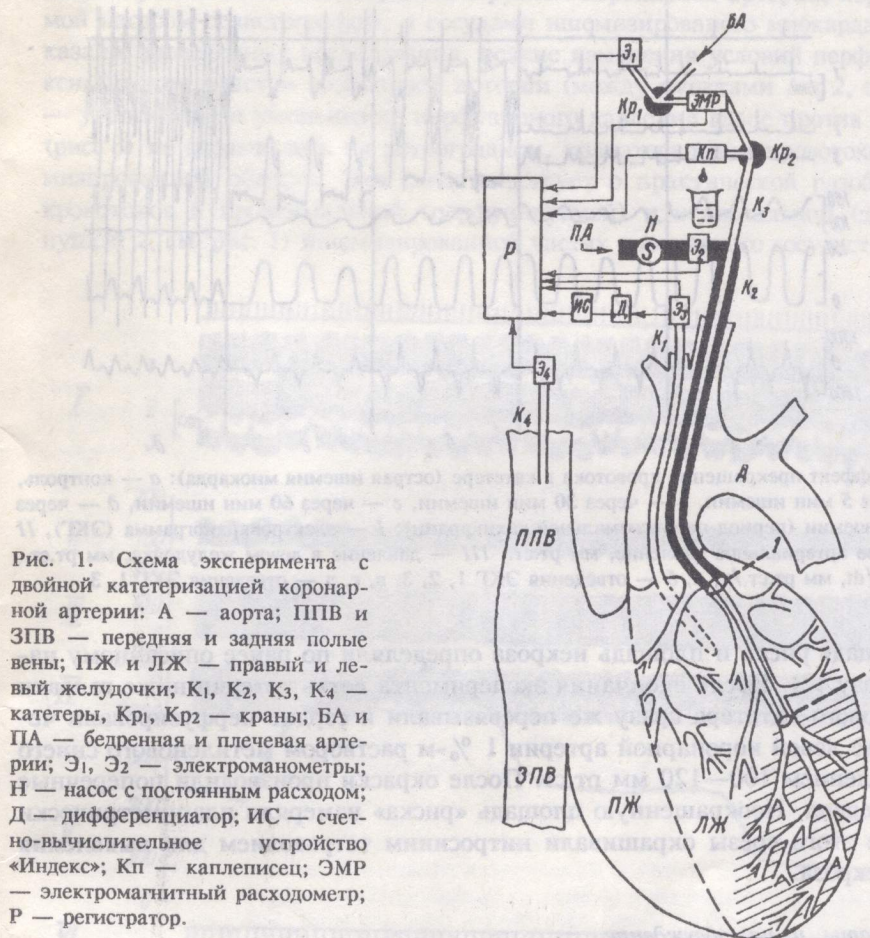


Рис. 1. Схема эксперимента с двойной катетеризацией коронарной артерии: А — аорта; ППВ и ЗПВ — передняя и задняя полые вены; ПЖ и ЛЖ — правый и левый желудочки; K_1 , K_2 , K_3 , K_4 — катетеры, $K_{р1}$, $K_{р2}$ — краны; БА и ПА — бедренная и плечевая артерии; Э₁, Э₂ — электроманометры; Н — насос с постоянным расходом; ИС — счетно-вычислительное устройство «Индекс»; Кп — каплеписец; ЭМР — электромагнитный расходомер; Р — регистратор.

Вдвижение внутреннего тefлонового катетера в перфузируемый магистральный коронарный сосуд приводило к перекрытию одной из вторичных ветвей огибающей (см. рис. 1, 2) или нисходящей коронарной артерии и ишемии участка миокарда, снабжаемого этой ветвью. Заклинивание сосуда и возникновение ишемического очага контролировали, во-первых, по резкому падению давления в его просвете, вновь до уровня ретроградного (с 120—150 до 15—20 мм рт.ст.) и, во-вторых, по быстро наступающим ишемическим изменениям на ЭКГ — резкому смещению интервала ST и увеличению зубца Т (см. рис. 2).

Поддержание адекватного кровотока в сосудах, расположенных проксимальнее заклиненного сосуда, между точками 1 и 2 осуществлялось, как и ранее, насосом с постоянным расходом Н через направляющий металлический катетер, заклинивающий магистральный сосуд в точке 1.

Постишемическую реперфузию миокарда достигали подсоединением тefлонового катетера (Кз) к системе бедренной артерии (см. рис. 1). Реперфузионный кровоток измерялся электромагнитным расходомером (см. рис. 1), фирмы «Nichon Kodan» (Япония).

Ретроградный (коллатеральный) кровоток регистрировали с помощью расходомера — фотоэлектронного каплеписца (см. рис. 1) во время ишемии и периодически во время реперфузии.

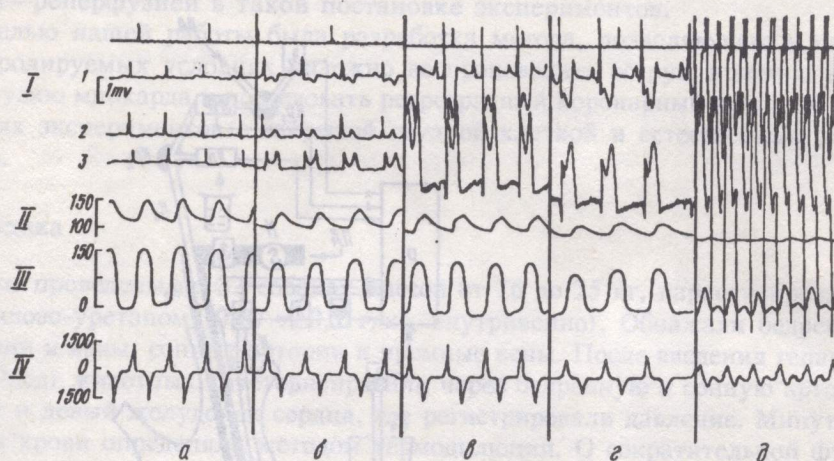


Рис. 2. Эффект прекращения кровотока в катетере (острая ишемия миокарда): а — контроль, б — через 5 мин ишемии, в — через 30 мин ишемии, г — через 60 мин ишемии, д — через 60 мин ишемии (период пароксизмальной тахикардии); I — электрокардиограмма (ЭКГ), II — среднее артериальное давление, мм рт.ст., III — давление в левом желудочке, мм рт.ст., IV — dp/dt , мм рт.ст./с; а, б — отведения ЭКГ 1, 2, 3; в, г, д — отведения ЭКГ 1, 3.

Площадь риска и площадь некроза определяли по ранее описанному нами методу [2]. После окончания эксперимента ветвь артерии ниже головки тefлонового катетера сразу же перевязывали и сердце перфузировали через устье левой коронарной артерии 1 %-м раствором метиленового синего под давлением 100—120 мм рт.ст. После окраски производили поперечные срезы сердца. Неокрашенную площадь «риска» измеряли планиметрически и после этого срезы окрашивали нитросиним тетразолием для выявления зоны некроза.

Результаты и их обсуждение

Из 32 экспериментов, проведенных до настоящего времени из-за технических неполадок опыта, не связанных с методом воспроизведения острой ишемии — реперфузии, погибло 2 собаки, 1 — сразу же после реперфузии. Ишемия миокарда ни в одном из случаев не приводила к ранней внезапной смерти от фибрилляции желудочков (в течение 1,5—6 ч), хотя нарушения ритма деятельности сердца имели место во многих случаях развития острого инфаркта миокарда (см. рис. 2, 5). Ишемия, по данным ЭКГ, носила резко выраженный характер. Как видно из результатов, представленных на рис. 2, уже на 5 мин ишемии высота зубца Т в III отведении равна высоте зубца R, а через 30 мин и через 1 час — резчайшая ишемия с дискордантным смещением ST, увеличенным зубцом Q, зубец Т намного выше зубца R. Достаточно часто наблюдались также тяжелые нарушения ритма и функции левого желудочка (см. рис. 2, д). Размеры ишемического повреждения также были большими. Так после 90 мин ишемии и 270 мин реперфузии

площадь «риска» составляла в среднем $27,9 \% \pm 2,8 \%$, а зона некроза $11,6 \% \pm 1,2 \%$ от площади левого желудочка, отношение площади некроза к площади риска было $45,8 \% \pm 4,7 \%$ ($P < 0,05$). Эти результаты близки к ранее описанным [13]. Ретроградный кровоток составлял в среднем 2,0 мл/мин, что близко к данным Гацуры [1].

Важным условием корректности определения ретроградного кровотока в наших экспериментах было отсутствие гемодинамической связи между проксимально расположенным сосудистым руслом коронарной артерии, перфузируемой насосом-резистогарфом, и сосудами ишемизированного миокарда. Как показали проведенные исследования, резкие изменения условий перфузии проксимального участка коронарной артерии (между пунктами 1 и 2, см. рис. 1) — увеличение и уменьшение перфузионного давления вдвое против исходного (рис. 3) не сказывалось на ретроградном, коллатеральном кровотоке из ишемизированной области. Это свидетельствует о практической разобщенности кровотоков в проксимальной (перфузируемой) и в дистальной (дистальнее пункта 2, см. рис. 1) ишемизированных частях коронарного сосудистого русла.

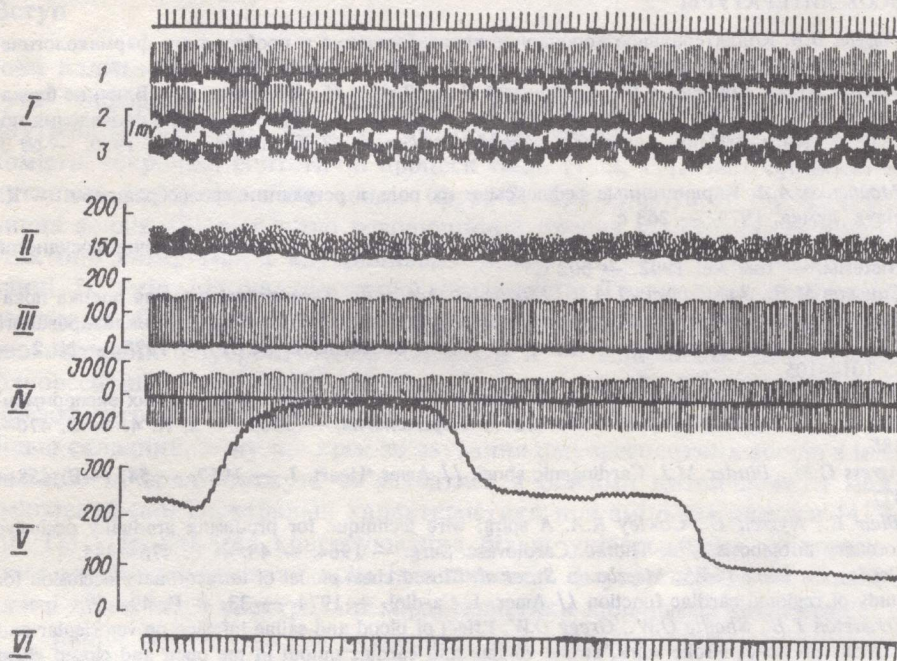


Рис. 3. Влияние изменений коронарного перфузионного давления (в катетере K₂, рис. 1) и, соответственно, в неишемизированном участке коронарного сосуда на ретроградный отток крови из ишемизированной зоны: I — электрокардиограмма, II — среднее артериальное давление (мм рт.ст.), III — давление в левом желудочке (мм рт.ст.), IV — dp/dt (мм рт.ст./с), V — коронарное перфузионное давление (мм рт.ст.), VI — ретроградный поток крови (капли), отметка времени — 1 с.

Таким образом, в работе представлена новая модель ишемии—реперфузии миокарда, пригодная для применения на крупных животных (собаках, овцах и др.), которая позволяет в максимально приближенных к физиологическим строго контролируемых условиях, (закрытая грудная клетка, естественное дыхание): 1) воспроизводить острую локальную длительную ишемию миокарда и последующую его реперфузию; 2) исследовать изменения ретроградного кровотока в ишемизированной области миокарда, а также ретроградного давления в ней; 3) изучать динамику коронарного крово-

тока в предишемическом и постишемическом, реперфузионном периоде, в том числе изменений реактивности коронарного сосудистого русла; 4) исследовать межкоронарные взаимоотношения в русле магистральной ветви левой коронарной артерии; 5) определять биохимические, реологические и другие параметры крови из ишемизированного очага миокарда.

V.I.Azarov, L.A.Grabovsky, A.A.Moibenko, L.V.Tumanovskaya, V.M.Brovkovich

MODELLING OF THE ACUTE CARDIAC ISCHEMIA-REPERFUSION IN ANIMALS WITH CLOSED CHEST AND NATURAL RESPIRATION

A new method of reproduction of myocardial ischemia and reperfusion is represented in this article. It permits studying: cardiodynamic changes accompanying the local myocardial ischemia and reperfusion under physiological conditions; changes in the retrograde blood flow from the ischemic region; changes in the reperfusion blood flow; intercoronary relations; biochemical parameters of the blood from the ischemic region of the myocardium.

A.A.Bogomolets Institute of Physiology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гацура В.В. Коллатеральное коронарное кровообращение и проблема его фармакологической стимуляции // Успехи физиол. наук. — 1990. — 21, № 3. — С. 19—37.
2. Колчин Ю.Н., Попович Л.Ф., Грабовский Л.А., Луйк А.И., Мойбенко А.А. Влияние блокатора 5-липоксигеназы кверцетина на функциональные и морфологические проявления поражения миокарда при ишемии и реперфузии сердца // Кардиология. — 1990. — № 3. — С. 72—75.
3. Мойбенко А.А. Кардиогенные рефлексy и их роль в регуляции кровообращения. — К.: Наук. думка, 1979. — 263 с.
4. Мойбенко А.А., Сагач В.Ф. Иммуногенные нарушения деятельности сердечно-сосудистой системы. — Там же, 1992. — 302 с.
5. Синьков М.В., Закидальский А.И., Мойбенко А.А. и др. Автоматизированная оценка показателей сократимости миокарда в эксперименте и клинике с помощью специализированного вычислительного устройства «Индекс» // Бюлл. ВКНЦ АМН СССР. — 1978. — № 2. — С. 101—105.
6. Хомазюк А.И., Нещерет А.П., Кузьминский Н.П. О некоторых новых путях экспериментального изучения инфаркта миокарда // Кардиология. — 1965. — 5, № 4. — С. 476—485.
7. Agress C.M., Binder M.J. Cardiogenic shock // Amer. Heart. J. — 1957. — 54. — P. 458—477.
8. Blair E., Nygren E., Cowley R.A. A spiral wire technique for producing gradually occlusive coronary thrombosis // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. — 1964. — 48. — P. 476—485.
9. Corday E., Lang T.-W., Meerbaum S., et al. Closed chest model of intracoronary occlusion for study of regional cardiac function // Amer. J. Cardiol. — 1974. — 33. — P. 49—59.
10. Fergusson T.B., Shadle O.W., Gregg D.W. Effect of blood and saline infusion on ventricular end diastolic pressure, stroke work, stroke volume and cardiac output in the open and closed chest dog // Circ. Res. — 1953. — 1. — P. 62—68.
11. Naslund U., Haggmark J., Johansson G., Marklund S.L., Reiz S. A closed-chest myocardial occlusion-reperfusion model in the pig: techniques, morbidity and mortality // Eur. J. Heart. — 1992. — 13. — P. 1282—1289.
12. Reimer K.A., Jennings R.B., Cobb T.R., et al. Animal model for protecting ischemic myocardium: results of the NHLBI Cooperative study // Circ. Res. — 1985. — 56, № 5. — P. 651—665.
13. Tanaka M., Richard V.J., Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A. Superoxide dismutase plus catalase delays neither cell death nor the TTC reaction in experimental myocardial infarction in dogs // J. Mol. and Cell. Cardiol. — 1993. — 25, № 4. — P. 367—378.
14. Weber K.T., Mollnir T.J., Dennison B.H., et al. Experimental myocardial ischemia and inflation. Production of diffuse myocardial lesions in unanesthetized calves // Amer. J. Cardiol. — 1972. — 29. — P. 793—802.
15. Yold H., Boszormenyi E., Lang T.W. The augmentation of coronary flow in experimental cardiogenic shock with combined drug therapy // Acad. Med. N.J. Bull. — 1966. — 12. — P. 181—184.

Ин-т физиологии им. А.А.Богомольца
НАН Украины, Киев

Материал поступил
в редакцию 4.04.95