

# ВЛИЯНИЕ ОДНОКРАТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ НА МИОКАРД КРЫСЫ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

*Н.А. Никулина, О.Г. Шуст*

*Белорусский государственный медицинский университет*

**Актуальность:** современная терапия в остром периоде инфаркта миокарда (ИМ) предопределяет активную тактику по открытию тромбированной коронарной артерии с помощью методов терапевтической и хирургической реваскуляризации миокарда. Указанные методы имеют определенные ограничения, связанные с определенными противопоказаниями и лимитом по времени от начала заболевания. Гипербарическая оксигенация (ГБО) как метод лечения в комплексной терапии ИМ помогает устранить несоответствие между потребностью и доставкой кислорода к миокарду за счет дополнительного растворения кислорода в плазме и увеличения кислородной перфузии миокарда даже в условиях сниженного кровотока [5]. Однако клинические данные об эффективности ГБО у пациентов с острой сердечной патологией во многом противоречивы.

**Цель исследования:** изучение влияния однократного сеанса ГБО на распространенность зон ишемии и некроза миокарда:

- 1) в условиях полной необратимой окклюзии коронарной артерии;
- 2) «низко-» и «высокодозового» режимов ГБО (0,02 МПа и 0,2 МПа, соответственно);
- 3) в зависимости от временного интервала между началом окклюзии и применением ГБО.

**Материал и методы:** экспериментальный инфаркт миокарда (ЭИМ) воспроизводился по методике Selye Н. с соавт., модифицированной Jian Ye с соавт. [7]. У 60 крыс линии Vistar массой 200-250г в возрасте от 9 мес. до 1 года, находящихся в стандартных условиях вивария, под наркозом (тиопентал натрия и трамадол) проводилась перевязка левой коронарной артерии (ЛКА). Снятие ЭКГ во II отведении [3] (электрокардиограф ЭК1Т04 «Малыш», Россия) проводилось перед операцией, через 10–15 мин и через 1 сут. ЭИМ. Сеансы ГБО проводились через 3 или 24 ч после лигирования ЛКА в режиме 0,02 МПа или 0,1 МПа длительностью 60 мин в специальной клетке, разрешенной к использованию в гипербарической одноместной барокамере БЛКС-303 МК (ФГУП «ГКНПЦ имени М.В.Хруничева», Россия).

Планметрическое исследование сердца проведено у 41 крыс с ЭИМ через 27 ч после лигирования ЛКА. Наркотизированной крысе в яремную вену вводили 2% раствор Evans Blue. Левый желудочек выделялся, замораживался, резался поперечно на 7 колец. Кольца взвешивались, сканировались, выдерживались в растворе ТТС, растворе формалина, повторно сканировались. С помощью программы Photoshop CS2 определялся размер зон (в пикселах), далее высчитывался процент зоны риска и процент зоны некроза [9]. Все животные были поделены на 5 групп в зависимости от режима и времени проведения сеанса ГБО.

Снятие с эксперимента, планиметрическое и последующее гистологическое исследования проведены через 27 ч от начала заболевания.

Статистический анализ производили с помощью программы STATISTICA 6.0 методами непараметрической статистики: по критерию Манна–Уитни для независимых групп и критерий Вилкоксона для зависимых групп, а данные представляли в виде медианы (Me) и 25–75 перцентилей [1]. ( $p < 0,05$ ). [1].

**Результаты и их обсуждение.** Критерием отбора животных в эксперимент были типичные изменения на ЭКГ, выявляемые через 15–20 мин после начала эксперимента: значительный подъем зубца Т и последующее слияние зубцов R, S и Т в единый комплекс по типу пилообразной кривой по аналогии с монофазной кривой у пациентов. Эти изменения характерны для острого ишемического повреждения сердца и соответствуют крупноочаговому инфаркту миокарда у человека. Таким образом, из 60 прооперированных особей в исследование были включены 46. Через 1 сут. после лигирования ЛКА зубец Q появился у всех крыс группы 1 (без ГБО), групп 4 и 5 (ГБО 0,1 МПа) и у 71% крыс групп 2 и 3 (ГБО 0,02 МПа), т.е. где наступила нормализация ЭКГ.

Планметрическое исследование. Через 27 ч после перевязки коронарной артерии у животных контрольной Группы 1 медиана (Me) зоны риска составила 31,72% от массы ЛЖ (табл. 1).

У животных, подвергшихся воздействию ГБО, зона риска была несколько ниже, что особенно заметно у животных Группы №3 (ГБО через 24 часа 0,02 МПа). С учетом использованной методики (прижизненная окраска Evans blue) [8], зона риска - это участок миокарда с нарушенным кровоснабжением. Возможным объяснением уменьшения зоны риска в Группе №3 может быть развитие коллатерального кровообращения, что также подтверждает концепцию вазоконстрикторного эффекта гипероксии.

Таблица 1

Результаты планиметрического исследования сердца у крыс с ЭИМ (n, M±σ)

Группа	% зоны риска от левого желудочка	% зоны ишемии от зоны риска	% зоны некроза от зоны риска	Отношение% зоны ишемии к% зоны некроза
1 (без ГБО, n=7)	31,72 <sup>1,2</sup> (30,89–35,20)	62,22 <sup>2</sup> 35,26–62,91	37,78 <sup>2</sup> 37,09–64,74	1,7:1
2 (ГБО через 3 ч 0,02 МПа, n=7)	28,10 (22,87–30,85)	66,65 <sup>3</sup> 58,73 - 72,78	33,35 <sup>3</sup> 27,22 - 41,27	2:1

Группа	% зоны риска от левого желудочка	% зоны ишемии от зоны риска	% зоны некроза от зоны риска	Отношение% зоны ишемии к% зоны некроза
3 (ГБО через 24 ч 0,02 МПа, n=12)	24,58 (19,45–27,17)	71,15 <sup>3</sup> 63,55 - 76,54	28,85 <sup>3</sup> 23,46 - 36,45	2,5:1
4 (ГБО через 3 ч 0,1 МПа, n=6)	28,49 (21,74–32,34)	37,17 <sup>1,2</sup> 30,32 - 42,73	62,83 <sup>1,2</sup> 57,27 - 69,68	0,6:1
5 (ГБО через 24 ч 0,1 МПа, n=9)	30,35 <sup>2</sup> (28,82–37,49)	57,12 <sup>1,2,3</sup> 51,18 - 61,43	42,88 <sup>1,2,3</sup> 38,57 - 48,82	1,3:1

Примечание. <sup>1</sup>-  $p < 0,05$  по сравнению с группой № 2;

<sup>2</sup>-  $p < 0,05$  по сравнению с группой № 3;

<sup>3</sup>-  $p < 0,05$  по сравнению с группой № 4.

При окраске ТТС зона риска отчетливо делится на зону ишемии (участки сердечной ткани, в которой сохранены дегидрогеназы, субстратом для которых служит ТТС) и зону некроза (участки сердечной ткани, в которой дегидрогеназы отсутствуют или их содержание резко снижено). Следует обратить внимание, что клиническое понимание “зоны некроза”, по-нашему мнению, не совсем соответствует гистологическому пониманию некроза как погибшей ткани, что может быть связано с мозаичностью погибающих клеток и феноменом гибернации. Некоторые морфологи рассматривают период до 24 ч от момента начала заболевания у человека как донекротическую стадию ИМ, когда очаг некроза в миокарде гистологически не определяется [4]. Ключевое различие между некрозом и дистрофией заключается в обратимости процессов умирания клетки. На экспериментальных моделях ИМ показано, что в различных слоях миокарда гибель клеток происходит неодновременно (процесс начинается с эндокарда) и продолжается, по меньшей мере, в течение 4–6 ч, охватывая все слои миокарда.

Несомненный интерес представляет оценка зон некроза и ишемии. При применении гипероксии под давлением 0,1 МПа зона ишемии уменьшается в пользу зоны некроза: например, при применении ГБО в режиме 0,1 МПа тотчас же после перевязки коронарной артерии, значимо увеличивается объем некротизированной ткани; менее выраженная, но сходная ситуация, наблюдалась и при применении ГБО 0,1 МПа через 24 ч от начала эксперимента.

Применение так называемых «малых» доз ГБО (избыточное давление кислорода 0,02 МПа) более благоприятно. В зоне риска миокарда экспериментальных животных происходит увеличение объема ишемизированной ткани за счет снижения объема некротизированной. Это означает, что возрастает объем ткани миокарда, пострадавшей в результате ишемии, но способной к восстановлению, что подтверждает формирующиеся в последние годы представления о большей эффективности низкодозового ГБО.

Рассматривая варианты начала процедуры ГБО от момента воспроизведения ИМ при приблизительно равном уровне зон риска у всех животных (с тенденцией к ее уменьшению у животных, подвергшихся воздействию ГБО), зона некроза достоверно меньше у крыс, которым проводили «отсроченную» процедуру ГБО (то есть, через 24 ч): соотношение зон ишемии и некроза в группе 3 составила 2,5:1 против 2:1 для группы 2, при ГБО 0,2 МПа — 1,3:1 (группа 5) и 0,6:1 (группа 4). Однозначно интерпретировать эти данные сложно; они вступают в определенное противоречие с патофизиологическими представлениями о необходимости максимально более раннего насыщения кислородом ишемизированной ткани. Возможным объяснением данного феномена могут служить представления о том, что с помощью красителя ТТС участки некротизированной ткани отчетливо определяются через 6 ч после острой окклюзии коронарной артерии у крыс, а затем в течение 48 ч происходит распространение «некротической волны» с окончательным (по гистологическим данным) формированием зоны некроза [10]. Следовательно, повышение парциального давления кислорода в крови может ограничить зону некроза даже при использовании через 24 ч. В клинике благоприятным временным окном, в течение которого есть шанс спасти кардиомиоциты от гибели, считается 12 ч. Тем не менее, в ряде исследований окно удавалось расширить до 24 ч с клинически значимым эффектом [2, 6].

**Выводы.** Полученные результаты нами свидетельствуют о: 1) эффективности ГБО при необратимой обструкции коронарной артерии; 2) большей эффективности применения ГБО в режиме

«малых доз»; 3) возможности применения ГБО, по крайней мере, через 1 сут. от момента возникновения острой ишемии миокарда.

## EFFICIENCY OF SINGLE USED HBOT IN RAT MYOCARDIUM IN ACUTE PHASE OF EXPERIMENTAL MYOCARDIAL INFARCTION

*N.A. Nikulina, O.G. Shust*

The influence of single hyperbaric oxygenation session (HBOT) has been studied at regimes 0,02 MPa and 0,2 MPa on the prevalence of ischemia zones and necrosis at experimental myocardial infarction at rats. The results show that 1) the efficiency of HBOT at irreversible obstruction of coronary artery; 2) the efficiency increases at low levels; 3) there is a possibility to use HBOT after 24 hours the acute ischemia appeared.

**Key words:** experimental myocardial infarction, hyperbaric oxygenation

### Литература.

1. Гланц, С. Медико- биологическая статистика / С. Гланц.— М.: Практика, 1999.— 460 с.
2. Доценко, Э.А. Отдаленные результаты применения гипербарической оксигенации у больных острым инфарктом миокарда / Э.А. Доценко, Д.П. Саливончик, В.И. Козыро // Кардиология.- 2007.- Т.47.- №12.- С. 53-56.
3. Западнюк, И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк [и др.].— 3-е изд., перераб. и доп.— Киев: Вища школа. Головное изд-во, 1983.— 383 с.
4. Резник, А.Г. Морфология острого инфаркта миокарда в донекротической стадии / А.Г. Резник // Кардиология.-2010.- Т.50.- №.1.- С. 4-8.
5. Саливончик, Д.П. Применение гипербарической оксигенации в кардиологической практике: монография / Д.П. Саливончик; М-во образования РБ, Гомельский гос. медицинский ун-т.— Гомель: ГГУ им. Ф. Скорины, 2010.— 196 с.
6. Саливончик, Д.П. Эффективность включения гипербарической оксигенации в терапию острого инфаркта миокарда / Д.П. Саливончик, Э.А. Доценко // Бюллетень гипербарической биологии и медицины.- 2008.- Т.13.- №1-4.- С. 4-13.
7. A new technique of coronary artery ligation: experimental myocardial infarction in rats in vivo with reduced mortality / J. Ye [et al.] // Molecular and Cellular Biochemistry.— 1997.— Vol.176.— P. 227-233.
8. Hyperbaric oxygen limits infarct size in ischemic rabbit myocardium in vivo / D.L. Sterling [et al.] // Circulation.— 1993.— Vol. 88.— P. 1931-1936.
9. Myocyte apoptosis during acute myocardial infarction in rats is related to early sarcolemmal translocation of annexin A5 in border zone / V. Monceau [et al.] // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.— 2006.— Vol.291.— P. 965-971.
10. Vivaldi, M.T. Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats / M.T. Vivaldi, R.A. Kloner, F.J. Schoen // A.J.P.— 1985.— Vol.121, № 3.— P. 522-530.