

ТЕРАПИЯ



УДК 616.136

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЕДИИ АОРТЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

И.А.Атаев

STRUCTURAL CHANGES OF THE AORTA MEDIA AT MODELING THE CHRONIC STRESS VARIANTS

I.A.Ataev

Институт медицинского образования НовГУ, atis83@yandex.ru

Были исследованы возможные отличия в ремоделировании стенки брюшной аорты, при различных вариантах хронического стресса. Эксперимент проводился на крысах линии Вистар, хронический стресс моделировался интраперитонеальным введением адреналина, прозерина и их сочетания. Исследовались образцы стенки брюшной аорты. При всех трех вариантах хронического стресса выявлены значительные изменения всех слоев стенки аорты: накопление большого количества тканевой жидкости в адвентициальной оболочке, отрывы адвентиции, развитие фиброзных изменений в средней оболочке аорты, отрывы эндотелиального слоя с разрывом внутренней эластической мембраны. Регресс этих изменений практически не наблюдался и через месяц после окончания хронического эксперимента.

Ключевые слова: *аорта, стресс, ремоделирование, внеклеточные пространства, фиброз*

Some variants of abdominal aortic wall remodeling in chronic stress were studied. The experiment was performed on Wistar rats. Chronic stress modeling was done by intraperitoneal injection of medicinal agents: adrenalin, neostigmine and their combination. The abdominal aortic wall specimens were researched. In three types of chronic stress some significant changes of all aortic wall layers were found: accumulation of a considerable quantity of intercellular fluid in adventitia, adventitia detachment, development of fibrous changes in the aorta media, and detachment of endothelial layer with bursting of the intrinsic elastic membrane. Regression of these changes was practically not observed even one month after termination of the long-term experiment.

Keywords: *aorta, stress, remodeling, extracellular spaces, fibrosis*

Введение

Если вопросам ремоделирования сердца при стрессе посвящено немало работ, то исследований, изучающих изменения аорты при стрессе, значительно меньше. Можно предположить, что при различных вариантах вегетативного сопровождения стресса возможны различные структурные изменения в аорте. Само же по себе поражение аорты, при стрессе неоднократно повторяющемся, как это бывает при стрессо- обусловленных заболеваниях, таких как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, является прологом для развития не только ремоделирования стенки аорты, но и в последующем развития атеросклероза аорты [1].

Ваготоническая направленность реакции на стресс в современной физиологии считается патологической формой психовегетативного синдрома, реакцией дезинтеграции [2].

Не исключено, что при различных вариантах стресса протективный эффект препаратов будет различным в зависимости от того, какой тип стресса преобладал — адренергический, холинергический или смешанный вариант. Возможно, необходима и различная вегетативная фармакологическая коррекция при разных вариантах стресса.

Материал и методы исследования

Эксперимент проводился на крысах-самцах линии Вистар, сопоставимых по возрасту и массе (200 ± 20 г). Животные содержались в помещении с температурой воздуха 22°C с 12-часовым циклом свет/темнота. Животные имели свободный доступ к воде и пище.

Экспериментальное исследование проводилось в соответствии с Европейской конвенцией о защите животных, используемых в эксперименте (Директива 86/609/ЕЕС). Протокол эксперимента, содержание животных и выведение их из опыта были составлены в соответствии с принципами биоэтики, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и приказе МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

В эксперименте создавались модели трех вариантов стресса — хронического адренергического стресса (АС), хронического холинергического стресса (ХС) и хронического смешанного стресса (СС). Моделирование всех вариантов стресса производилось путем интраперитонеального введения лекарственных препаратов, дозы которых были максимальными терапевтическими для человека в пересчете на килограмм массы тела. Главным условием было отсутствие при данной дозе препарата некроза кардиомиоцитов.

В I серии эксперимента при моделировании хронического адренергического стресса 20 крысам на протяжении 2 недель три раза в сутки интраперитонеально вводился адреналин из расчета 50 мкг/кг.

Во II серии эксперимента при моделировании хронического холинергического стресса 20 крысам на протяжении 2 недель три раза в сутки интраперитонеально вводился антихолинэстеразный препарат прозерин из расчета 20 мкг/кг.

В III серии эксперимента при моделировании хронического смешанного стресса 20 крысам на протяжении 2 недель три раза в сутки одновременно интраперитонеально вводились адреналин в дозе 50 мкг/кг и прозерин в дозе 20 мкг/кг.

Через 2 недели введения препаратов под эфирным наркозом проводилась декапитация 10 животных из каждой серии эксперимента, и осуществлялся забор материала на исследование. Оставшиеся 10 крыс I, II и III серий эксперимента после прекращения двухнедельного введения препаратов в течение месяца содержались в обычных условиях без каких-либо медикаментозных и стрессовых воздействий, после чего под эфирным наркозом также проводилась декапитация животных и забор материала на исследование.

Контрольную серию составили 20 крыс, сопоставимых по возрасту и массе (200 ± 20 г). Крысы контрольной серии содержались в отдельном помещении и не подвергались никаким медикаментозным и стрессовым воздействиям. 10 крыс контрольной серии через 2 недели и 10 крыс контрольной серии через 1 месяц от начала эксперимента под эфирным наркозом декапитировались и производился забор материала на исследование.

Кусочки стенки брюшной аорты фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, дегидратировали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике с последующим изготовлением срезов ткани толщиной 4 мкм. Парафиновые срезы, окрашенные по Ван Гизону, исследовались с использованием светооптического бинокулярного микроскопа Axioscope A1 (Carl Zeiss, Германия). Изучались 9 полей зрения ($0,42 \times 0,32$ мм, площадь кадра $0,13$ мм²) при увеличении $\times 400$ у каждой крысы в меди и брюшного отдела аорты во всех сериях эксперимента.

Во всех полях зрения препаратов брюшного отдела аорты подсчитывались изменения интимы (локальное скопление жидкости в субэндотелии, дистрофические изменения эндотелиоцитов (ЭЦ), десквамированные ЭЦ, отрыв эндотелиального пласта с разрывом внутренней эластической мембраны (ВЭМ) и без разрыва ВЭМ, набухание ЭЦ, наличие «вздыбленных» ЭЦ [4], изменения адвентициального слоя (накопление большого количества тканевой жидкости в адвентициальной оболочке, отрывы адвентиции и скопление эритроцитов в адвентиции). Анализировались изменения средней оболочки, увеличение внеклеточного пространства (ВКП) за счет отека, развитие фиброзных изменений. Все фиброзные изменения меди аорты были сгруппированы в 4 основных варианта: очаговых фиброзных изменений; выраженных фибротических изменений в виде полосы фиб-

роза в наружной трети меди; очагового фиброза и фиброза в виде полосы во внутренней трети меди и наиболее тяжелое поражение средней оболочки — фиброз всех слоев меди аорты.

При статистической обработке полученных данных из методов непараметрической статистики нами использовался метод сравнения данных по медиане ($M \pm Sd$) — критерий Фридмана с коэффициентом конкордации Кэндалла. Для визуализации полученных результатов исследования нами широко использовался графико-аналитический метод. Весь статистический анализ проводился с использованием программы STATISTICA 99 (c) 1997 by StatSoft, Inc.

Результаты

Выраженные изменения жидкостных пространств при всех трех видах стресса, как было показано в работах В.Р.Вебера и соавт. [5], безусловно, могут способствовать развитию выраженных нарушений микроциркуляции с изменением всех функций аорты.

Развитие выраженного отека стенки аорты при различных вариантах стресса и сохраняющееся увеличение жидкостных пространств даже через 1 месяц после моделирования всех вариантов хронического стресса способствует еще большему изменению стенки аорты как субэндотелиального слоя, так и адвентициального слоя.

Отрыв слоев адвентициальной оболочки (рис. 1—2) или же полный отрыв адвентиции значительно чаще наблюдались после двухнедельного моделирования смешанного варианта хронического стресса: через 2 недели сочетанного введения адреналина и прозерина отрывы адвентиции наблюдались в 63,6% случаев, тогда как при моделировании хронического ХС — в 35,4% случаев ($\chi^2 = 12,195$, $p < 0,0001$), а при моделировании АС — в 29,2% препаратов ($\chi^2 = 8,961$, $p < 0,0003$).

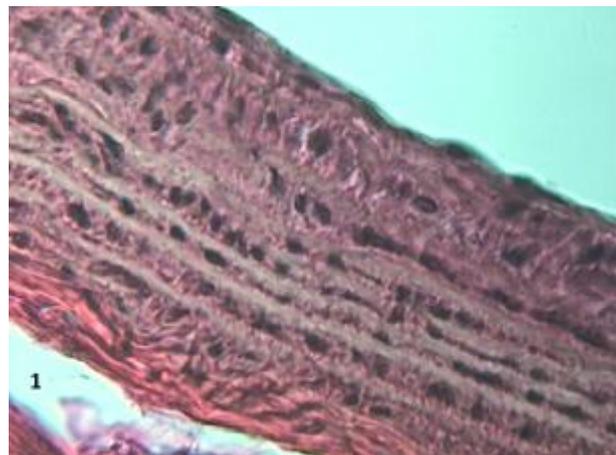


Рис. 1. Стенка аорты после двухнедельного введения адреналина, ув. $\times 400$, окраска по Ван Гизону. Отмечается отрыв наружного слоя адвентиции (1).

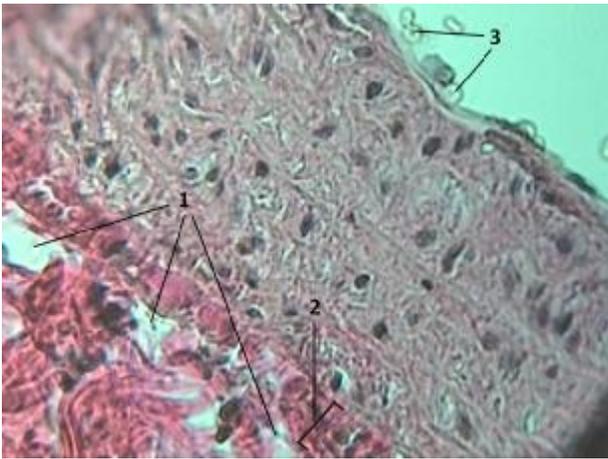


Рис. 2. Стенка аорты через 1 месяц после двухнедельного введения прозерина, ув. $\times 400$, окраска по Ван Гизону. Отмечается выраженный отек меди и адвентиции (1) Отрыв адвентиции (2) Фиброзные изменения в наружных слоях меди (3) Эритроциты вблизи поверхности интимы

2 недели при моделировании АС и ХС фиброз адвентиции отмечался значительно реже — в 38,2% препаратов при АС ($\chi^2 = 6,444$, $p < 0,011$) и в 13,3% случаев при ХС ($\chi^2 = 36,814$, $p < 0,00001$), тогда как через 1 месяц после прекращения введения препаратов частота развития фиброза адвентициальной оболочки аорты была сопоставима с таковой при СС. Так, фиброз адвентиции был выявлен в 48% препаратов через месяц после введения адреналина ($p > 0,05$) и в 56,3% препаратов через месяц после моделирования ХС ($p > 0,05$).

Таким образом, при смешанном стрессе деструктивные изменения адвентициальной оболочки наблюдались значительно чаще, но при АС и ХС через месяц после прекращения эксперимента изменения аорты достигали максимума и становились сопоставимы с изменениями в аорте при смешанном стрессе. Мы предполагаем, что такие выраженные изменения в адвентиции связаны со значительными изменениями жидкостных пространств. Считается, что биоло-

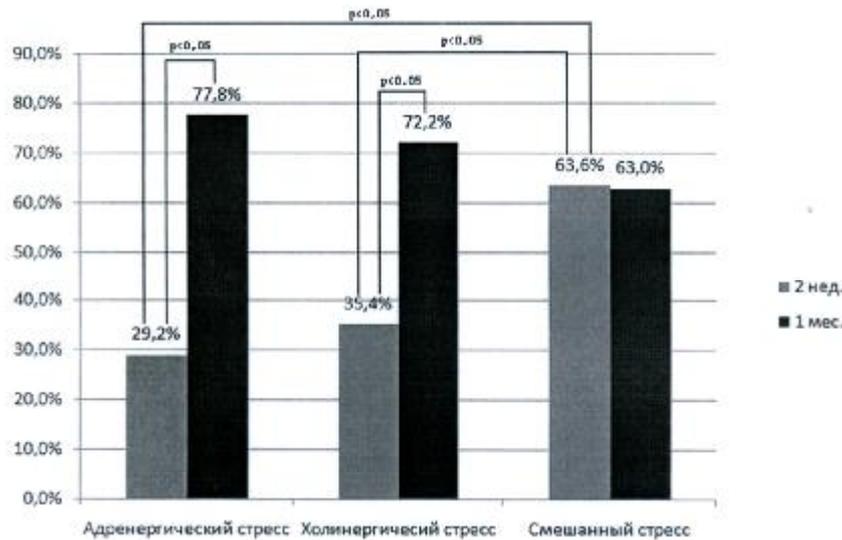


Рис. 3. Частота встречаемости отрыва адвентиции в стенке брюшной аорты через 2 недели введения препаратов и через 1 месяц «отдыха» в сериях эксперимента

Через 1 месяц после прекращения введения препаратов отрыв адвентициального слоя аорты в серии крыс со смешанным вариантом хронического стресса наблюдался в 62,96% препаратов, через 2 недели — в 63,6% ($p > 0,05$).

Интересно отметить, что как при ХС, так и при АС через месяц после прекращения введения препаратов продолжали нарастать деструктивные процессы в аорте (рис. 3). Так, при АС через 2 недели отрывы адвентициального слоя фиксировались в 29,2% препаратов, тогда как через 1 месяц «отдыха» — в 77,8% ($\chi^2 = 17,727$, $p < 0,0001$). При ХС через 2 недели введения прозерина отрывы адвентиции наблюдались в 35,4% случаев, а через 1 месяц — в 72,2% препаратов ($\chi^2 = 13,617$, $p < 0,0001$).

Фиброз адвентициального слоя (рис. 4—5) после двухнедельного введения препаратов наблюдался при смешанном стрессе в 84,8% случаев, через 1 месяц после прекращения введения препаратов — в 85,2% наблюдений. Необходимо отметить, что через

гические жидкости не имеют устойчивых связей в своей организации.

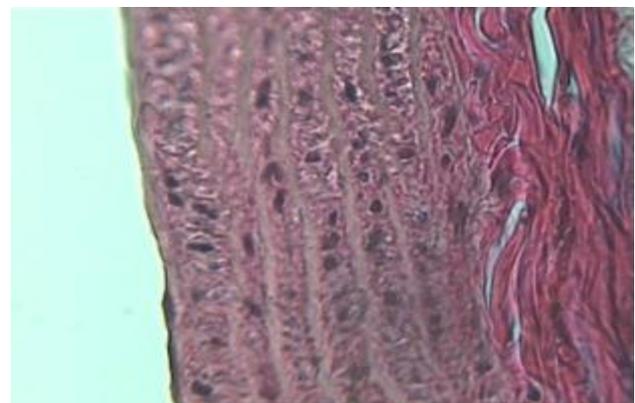


Рис. 4. Стенка аорты после двухнедельного введения адреналина, ув. $\times 400$, окраска по Ван Гизону. Отмечается умеренный отек средней оболочки, фиброз адвентиции

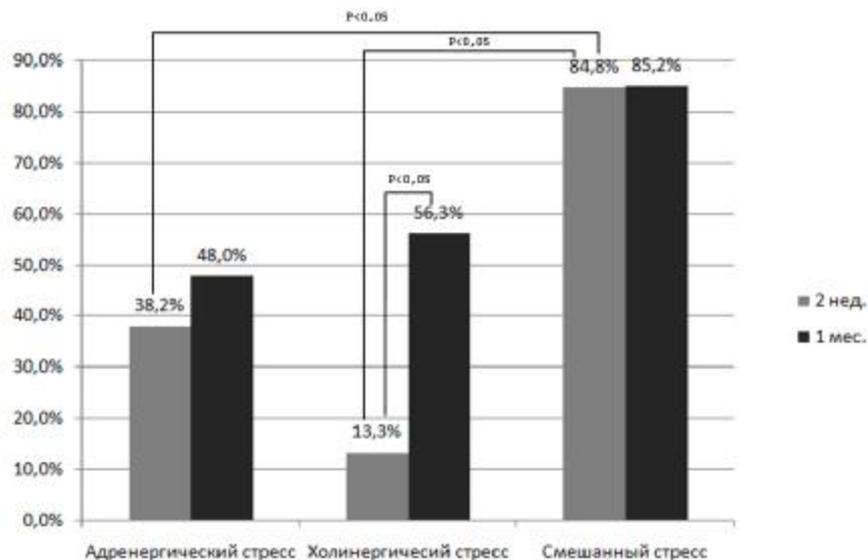


Рис. 5. Частота встречаемости фиброза адвентиции в стенке брюшной аорты через 2 недели введения препаратов и через 1 месяц «отдыха» в сериях эксперимента

Поэтому на появление во внутренней среде организма нового химического вещества отклик биологической жидкости является более оперативным и более выраженным, чем в клетках [6—8].

Столь выраженное увеличение жидкости в адвентиции связано, прежде всего, с особенностями строения этой оболочки: содержит рыхлую волокнистую соединительную ткань. Выраженное нарушение жидкостного гомеостаза ведет к нарушениям микроциркуляции и способствует развитию фиброза адвентициальной оболочки, что и наблюдается, например, при смешанном стрессе в 84,8% препаратов.

Отрывы адвентициальной оболочки сопровождались и проникновением эритроцитов в ткани, что наблюдалось при всех трех вариантах стресса: в 36,3% препаратов при СС, в 40,7% препаратов при ХС и в 26,7% случаев при АС.

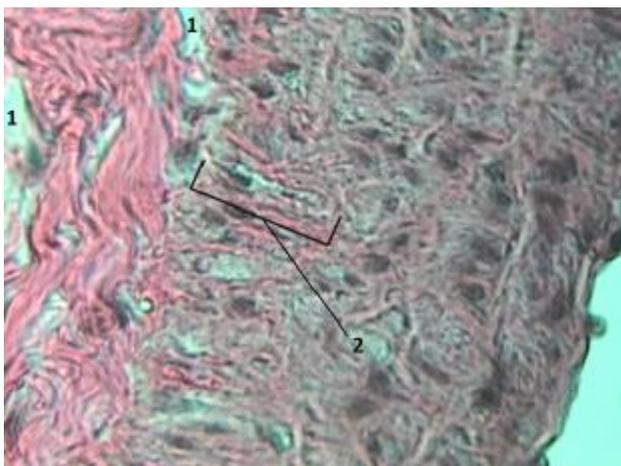


Рис. 6. Стенка аорты после двухнедельного введения адреналина, ув. $\times 400$, окраска по Ван Гизону. Отмечается выраженный отек адвентиции, умеренный отек средней оболочки. (1) Отек адвентиции (2) Фиброзные изменения в средней оболочке

Известно, что адвентициальная оболочка посредством *vasa vasorum* снабжает кровью наружную треть средней оболочки аорты. В связи с выраженными изменениями в адвентиции в 62,5% случаев при СС наблюдался фиброз меди аорты, который в большинстве препаратов проходил полосой, занимающей всю наружную треть средней оболочки аорты. Такой фиброз полосой, занимающей треть меди аорты, выявлялся при АС в 35,9% препаратов через 2 недели (рис. 6) и в 30,8% случаев через 1 месяц по окончании хронического эксперимента. При ХС — в 17,3% препаратов через 2 недели (рис. 6) и в 58,8% случаев через 1 месяц после прекращения введения препарата ($\chi^2 = 28,979$, $p < 0,0001$). То есть, через месяц фиброз наружной трети меди аорты при ХС нарастал.

Во внутренней оболочке аорты также развивались значительные изменения: так, десквамация ЭЦ наблюдалась значительно чаще при СС и фиксировалась в 36,4% препаратов, тогда как при ХС — всего в 5,7% случаев ($\chi^2 = 24,111$, $p < 0,0001$), а при АС — в 6,7% наблюдений ($\chi^2 = 15,629$, $p < 0,0001$). Но через месяц после окончания хронического эксперимента число препаратов со слущенным эндотелием нарастало при АС и ХС, достигая, практически, показателей при СС. Так, через месяц при СС слущенные эндотелиоциты фиксировались в 40,7% наблюдений, при ХС — в 36,0%, а при АС — в 30,8% препаратов. То есть, при ХС и АС и через месяц после прекращения введения препаратов продолжалось ремоделирование интимы аорты.

Такой деструктивный процесс в стенке аорты, как отрыв эндотелия с внутренней эластической мембраной (ВЭМ), имел место через 2 недели эксперимента в 57,6% наблюдений при СС, что значительно больше по сравнению с ХС в 16,7% ($\chi^2 = 23,825$, $p < 0,0001$) и АС — в 20,0% препаратов, ($\chi^2 = 12,791$, $p < 0,0001$).

Через месяц после прекращения введения препаратов число наблюдений с отрывом эндотелия вме-

сте с ВЭМ значительно возрастало как при ХС (с 16,7% через 2 недели введения прозерина до 64,0% через 1 месяц; $\chi^2 = 34,459$, $p < 0,0001$), так и при АС (с 20,0% через 2 недели введения адреналина до 42,3% через 1 месяц; $\chi^2 = 9,687$, $p < 0,002$). В серии крыс со смешанным вариантом стресса доля препаратов с отрывом эндотелия уменьшилась, но недостоверно (с 57,6% препаратов через 2 недели сочетанного введения адреналина и прозерина до 37% через 1 месяц, $p > 0,05$). Деструктивные процессы, которые продолжались в стенках аорты и в течение месяца после прекращения эксперимента, предположительно можно связать с выраженным отеком.

Приведенные результаты исследования показали, насколько выраженные деструктивные изменения происходят в эндотелии и в субэндотелиальном слое аорты. Изменения внутренней оболочки предполагают и изменения меди, прилегающей к этому краю. Отмечалось развитие фиброза внутренней трети средней оболочки аорты, но значительное в виде полосы в одной трети меди, прилегающей к внутреннему краю, обнаружено только через 1 месяц отдыха после моделирования ХС в 16% препаратов. При СС и АС явления фиброза наблюдались, но фиброза полосой по всей внутренней трети меди не было выявлено.

Выводы

Результаты исследования показали, что при всех трех вариантах хронического стресса происходит выраженное ремоделирование стенки аорты крыс линии Вистар.

Регресс этих изменений практически не наблюдается и через месяц после окончания хронического эксперимента. Внеклеточные пространства в меди аорты остаются увеличенными при всех вариантах стресса, фиброзные изменения в средней оболочке аорты остаются на прежнем уровне при холинергическом и смешанном вариантах хронического стресса. При хроническом адренергическом стрессе фиброз в меди аорты прогрессирует.

1. Титов В.Н., Хохлова Н.В., Ширяева Ю.К. Глюкоза, глико-токсины и продукты гликирования протеинов: роль в патогенезе // Клиническая медицина. 2013. Т. 91 №3. С.15-24.
2. Судаков К.В., Юматов Е.А., Ульяновский Л.С. Системные механизмы эмоционального стресса // Механизмы развития стресса. Кишинев: Щтинца, 1987. С.52-79.
3. Инструкция к препарату энап Р [Электр. ресурс]:

http://www.vidal.ru/poisk_preparatov/enap-r.htm (дата обращения 06.02.2014 г.)

4. Савчук А.Н., Свистов Д.В., Мацко Д.Е. Морфологические изменения в артериях и веществе головного мозга при травматическом субарахноидальном кровоизлиянии // Нейрохирургия. 2002. №1. С.6-12.
5. Вебер В.Р., Рубанова М.П., Жмайлова С.В., Губская П.М., Копина М.Н. Влияние однократного и длительного введения катехоламинов на жидкостные пространства миокарда крыс // Российский медицинский журнал. 2011. №2. С.23-27.
6. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. М., 2001. С.304.
7. Shabalin V.N., Shatokhina S.N. Diagnostic markers in the structures of human biological liquids // Singapore med J. 2007. Vol. 48. Pp. 440-447.
8. Селиваненко В.Т., Шатохина С.Н., Дудаков В.А., Мартаков М.А. Диагностическое значение морфологической картины сыворотки крови у больных инфекционным эндокардитом // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2008. № 2. С. 80-84.

References

1. Titov V.N., Khokhlova N.V., Shiriaeva Ju.K. Gliukoza, gliko-токсины и produkty glikirovaniia proteinov: rol' v patogeneze [Glucose, glycotoxines and protein glycation products: their role in pathogenesis]. Klinicheskaia meditsina — Clinical Medicine, 2013, vol. 91, no 3, pp. 15-24.
2. Sudakov K.V., Iumatov E.A., Ul'ianskii L.S. Sistemnye mekhanizmy emotsional'nogo stressa [Emotional stress: system mechanisms]. Mekhanizmy razvitiia stressa [Stress development mechanisms], Kishinev, Shchtiintsa Publ., 1987. pp.52-79.
3. Instruktssiia k preparatu enap R [Enap R Global Patient Leaflet]. Available at: http://www.vidal.ru/poisk_preparatov/enap-r.htm (accessed 06.02.2014)
4. Savchuk A.N. Morfologicheskie izmeneniia v arteriakh i veshchestve golovno mozga pri travmaticheskom subarakhnoidal'nom krovoizliianii [Morphological changes of arteries and brain tissue during traumatic subarachnoid hemorrhage]. Neurokhirurgiiia — Neurosurgery, 2002, no. 1, pp. 6-12.
5. Veber V.R., Rubanova M.P., Zhmailova S.V., Gubskaiia P.M., Kopina M.N. Vliianie odnokratnogo i dlitel'nogo vvedeniia katekholaminov na zhidkostnye prostranstva miokarda krysa [Single and prolonged catecholamine administration - influence on rat myocardial fluid spaces]. Rossiiskii meditsinskii zhurnal — Russian Medical Journal, 2011, no. 2, pp. 23-27.
6. Shabalin V.N., Shatokhina S.N. Morfologiia biologicheskikh zhidkosteii cheloveka [Morphology of human biological fluids]. Moscow, 2001, p. 304.
7. Shabalin V.N., Shatokhina S.N. Diagnostic markers in the structures of human biological liquids. Singapore med J., 2007, vol. 48, pp. 440-447.
8. Selivanenko V.T., Shatokhina S.N., Dudakov V.A., Martakov M.A. Diagnosticheskoe znachenie morfologicheskoi kartiny syvorotki krovi u bol'nykh infektsionnym endokarditom [Diagnostic value of morphological pattern of blood serum from patients with infectious endocarditis]. Kardiologiia i serdечно-sosudistaia khirurgiia — Cardiology and Cardiovascular Surgery, 2008, no. 2, pp. 80-84.