

УДК 616.13

**ВЗАИМОСВЯЗЬ ТИПА ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА И ОСОБЕННОСТЕЙ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ  
СТЕНКИ БЕДРЕННОЙ АРТЕРИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Е.Е.Румянцев

**THE RELATION BETWEEN EXPERIMENTAL CHRONIC STRESS TYPE AND CHARACTERISTICS OF  
FEMORAL ARTERY REMODELING**

E.E.Rumiantsev

*Институт медицинского образования НовГУ, gogathejedi@gmail.com*

Изучены особенности и выраженность ремоделирования медики бедренной артерии при стрессе с различным вегетативным обеспечением в эксперименте. Эксперимент проводился на крысах-самцах линии Вистар. В эксперименте создавались модели трех вариантов хронического стресса: адренергического (АС) интраперитонеальным введением адреналина, холинергического (ХС) - введением прозерина, и смешанного стресса (СС) - одновременного введения адреналина и прозерина. При морфометрии медики бедренной артерии наблюдалось значительное увеличение объема внеклеточных пространств (ВКП) по сравнению со значениями контрольной серии ( $13,83 \pm 5,39$  об.%), как при АС ( $21,06 \pm 6,36$  об.%), так при ХС ( $21,18 \pm 5,02$  об.%) и СС ( $19,83 \pm 4,06$  об.%). Через месяц после прекращения введения препаратов значения объема ВКП оставались на прежнем уровне при всех трех вариантах хронического стресса. Введение занапа при моделировании хронического стресса не приводило к уменьшению объемной плотности ВКП бедренной артерии при АС ( $20,42 \pm 5,42$  об.%), а при ХС способствовало достоверному увеличению плотности ВКП ( $23,41 \pm 5,58$  об.%  $p < 0,05$ ). Таким образом, протективное действие занапа на ремоделирование медики бедренной артерии в данном эксперименте не выявлено.

**Ключевые слова:** *бедренная артерия, стресс, ремоделирование, внеклеточные пространства*

Remodeling peculiarities of femoral artery wall following different types of stress were studied. The experiment was performed on Wistar rats. The stress modeling was performed by intraperitoneal administration of adrenalin, neostigmine and combination of those which caused three types of chronic stress - adrenergic stress (AS), cholinergic stress (CS) and combined stress (CbS) correspondently. Femoral artery wall specimens were examined. Morphometry showed a significant increase in extracellular spaces (ECS) in aortic tunica media comparing with the control group ( $13.83 \pm 5.39$  vol.%), both in AS ( $21.06 \pm 6.36$  vol.%  $p < 0.05$ ) and in CS ( $21.18 \pm 5.02$  vol.%;  $p < 0.05$ ) and CbS ( $19.83 \pm 4.06$  vol.%). Regression of the ECS changes was practically not observed one month after termination of the chronic experiment. Enap administration during stress modeling did not prevent the ECS volume increase in femoral artery wall in AS ( $20.42 \pm 5.42$  vol.%) and led to marked increase in ECS density in CS ( $23.41 \pm 5.58$  vol.%  $p < 0.05$ ). Thus, enap did not show any protective effect on femoral artery wall remodeling in chronic stress.

**Keywords:** *femoral artery, stress, remodeling, extracellular spaces*

## Введение

В предшествующих исследованиях научной группы под руководством член-корр. РАН, д-ра мед. наук, проф. В.Р.Вебера при различных вариантах стресса в миокарде [1, 2] были отмечены ранние и выраженные изменения во внеклеточном матриксе (ВКМ) и, в первую очередь, во внеклеточных жидкостных пространствах. В данной работе исследовано ремоделирование ВКП стенки бедренной артерии при различных вариантах хронического стресса.

## Материал и методы

Эксперимент проводился на крысах-самцах линии Вистар (питомник лабораторных животных «Рапполово»), сопоставимых по возрасту и массе ( $200 \pm 20$  г). Животные содержались в помещении с температурой воздуха  $22^\circ\text{C}$  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  $\alpha$ ,  $\beta$ -адреномиметик адреналин (действующее вещество Эпинефрин) 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 (N-(мета-Диметилкарбамоил-оксифенил)-триметиламмоний метилсульфат) из расчета 20 мкг/кг. Для моделирования холинергического варианта стресса был выбран прозерин, так как он оказывает не прямое холиномиметическое действие за счет обратимого ингибирования холинэстеразы и потенцирования действия ацетилхолина, что сопровождается накоплением медиатора ацетилхолина в области синапса, т.е. в области холинореактивных рецепторов. Под влиянием прозерина замедляется скорость разрушения ацетилхолина, который и проявляет бо-

лее длительное действие на M- и H-холинорецепторы. Таким образом, он действует аналогично M, H-холиномиметикам, но эффект его опосредован через эндогенный (собственный) ацетилхолин.

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.

Кроме того, при экспериментальном исследовании оценивались возможности протективного действия ингибитора ангиотензин-превращающего фермента на структурное ремоделирование миокарда желудочков сердца и на сосуды при моделировании хронического АС и хронического ХС. В качестве ингибитора ангиотензинпревращающего фермента нами был выбран препарат энап для внутривенного введения. Фармакодинамика энапа не зависит от способа введения (интраперитонеального или внутривенного), так как энап Р, используемый нами в эксперименте, содержит действующее вещество эналаприлат — метаболит эналаприла, не требующий метаболизма в печени [3].

В IV серии эксперимента создавалась модель хронического АС с коррекцией энапом — 10 крысам на протяжении 2 недель три раза в сутки одновременно интраперитонеально вводились адреналин в дозе 50 мкг/кг и ингибитор ангиотензин-превращающего фермента для внутривенного введения энап (эналаприлат) в дозе 20 мкг/кг.

В V серии эксперимента создавалась модель хронического ХС с коррекцией энапом — 20 крысам на протяжении 2 недель три раза в сутки одновременно интраперитонеально вводились прозерин в дозе 20 мкг/кг и энап (эналаприлат) 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 ( $200 \pm 20$ 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.

Образцы стенки брюшной аорты и бедренной артерии 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 AxioscopeA1 (Carl Zeiss, Германия).

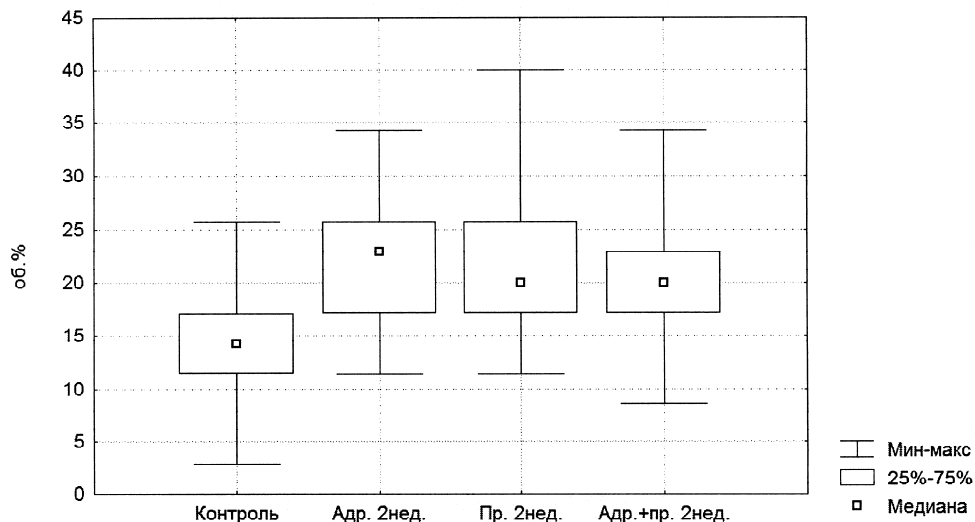


Рис. 1. Объемная плотность ВКП (в об.%) в средней оболочке бедренной артерии через 2 недели введения препарата в сериях эксперимента

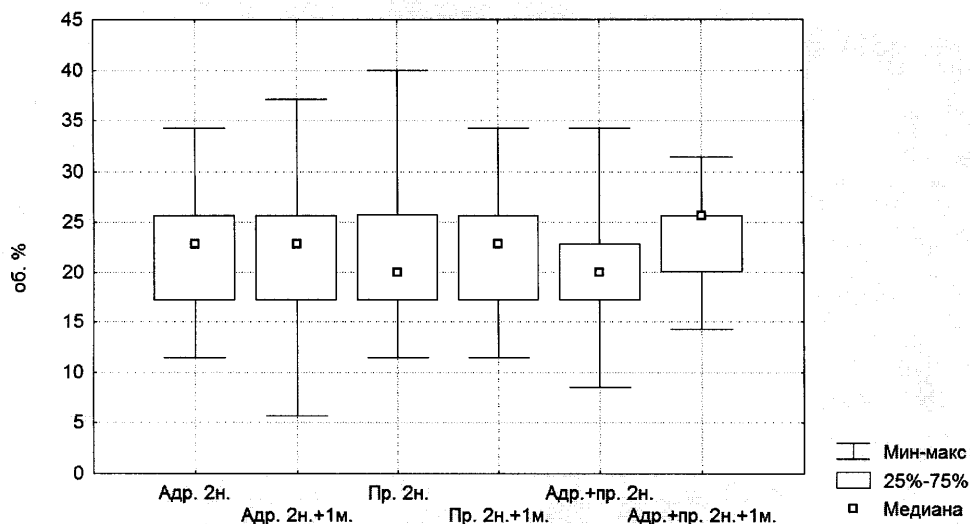


Рис. 2. Объемная плотность ВКП (в об.%) в средней оболочке бедренной артерии через 2 недели введения препарата в сериях эксперимента

Морфометрия парафиновых срезов, окрашенных по Ван Гизону, проводилась планиметрическим методом. Относительный объем структур оценивался по относительной площади, занимаемой ими на фотографиях микропрепаратов. Относительная площадь структур измерялась с подсчетом с помощью сетки Автандилова [4]. Измерения проводились в 9 полях зрения ( $0,42 \times 0,32$  мм, площадь кадра  $0,13$  мм<sup>2</sup>) при увеличении  $\times 400$  у каждой крысы меди бедренной артерии во всех сериях эксперимента. Производился подсчет в объемных процентах (об.%) объема внеклеточного пространства (ВКП).

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

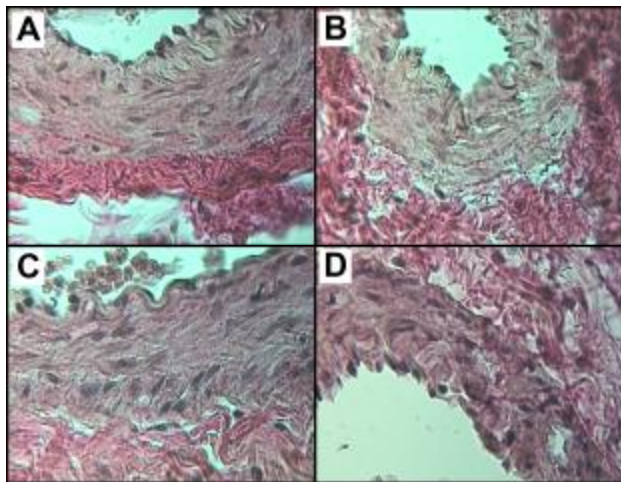
Объемная плотность ВКП меди бедренной артерии после двухнедельного введения препаратов в экспериментальных сериях АС ( $M = 21,06 \pm 6,36$  об.%,  $\chi^2 = 7,76$   $p < 0,05$ ), ХС ( $21,18 \pm 5,02$  об.%,  $\chi^2 = 6,26$   $p < 0,05$ ) и СС ( $19,83 \pm 4,06$  об.%,  $\chi^2 = 11,57$   $p < 0,005$ ) была достоверно больше, чем в контрольной серии ( $M = 13,83 \pm 5,39$  об.%) (рис. 1). Таким образом, ремоделирование меди бедренной артерии с изменением объемной плотности ВКП наблюдалось при всех вариантах хронического стресса. Достоверного различия плотности ВКП в меди бедренной артерии в сериях АС и ХС между собой и по сравнению с серией СС через 2 недели введения препаратов не отмечалось.

Результаты исследования через месяц после прекращения введения препаратов показали отсутствие регресса ремоделирования меди бедренной артерии (рис. 2). При АС объемная плотность ВКП после двух недель моделирования стресса составляла  $M$

= 21,06 ± 6,36 об.%, а через месяц «отдыха» — М = 21,38 ± 7,72 об.% (p > 0,05). При ХС — М = 21,18 ± 5,02 об.% и 22,61 ± 5,08 об.% соответственно (p > 0,05). При СС — М = 19,83 ± 4,06 об.% и 23,19 ± 4,51 об.% (p > 0,05).

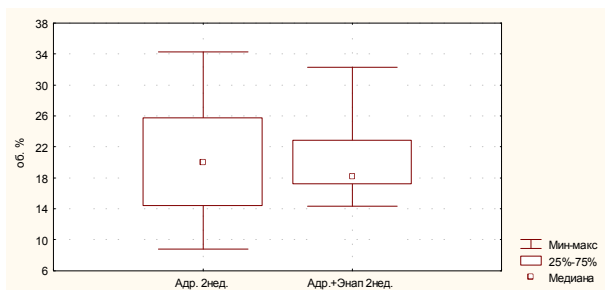
При терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы часто используются ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, в том числе данные препараты присутствуют в рекомендованных схемах лечения как предотвращающие неблагоприятное ремоделирование органов кровеносной системы [5—7].

По результатам исследования, при хроническом АС под влиянием энапа значительных изменений объема ВКП меди бидеренной артерии не выявлено — объем ВКП через 2 недели одновременного введения адреналина и энапа составил М = 20,42 ± 5,42 об.%, тогда как в контрольной серии 13,83 ± 5,39 об.% (p > 0,05), а через 2 недели введения только адреналина 20,12 ± 7,03 об.% (p > 0,05). Т.е. при хроническом адренергическом стрессе протективный эффект энапа на ремоделирование ВКП в стенке бидеренной артерии отсутствовал (рис. 3, 4).



**Рис. 3.** Стенка бидеренной артерии через две недели введения препаратов в сериях эксперимента, ув. х400, окраска по Ван Гизону

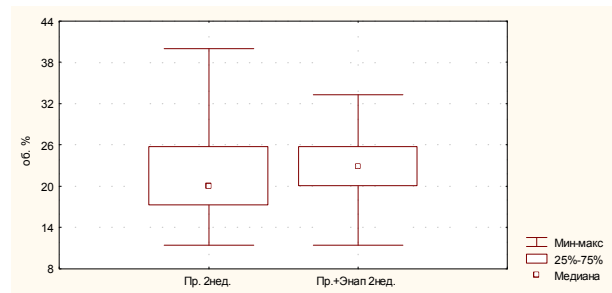
- A** — адреналин
- B** — адреналин и энап
- C** — прозерин
- D** — прозерин и энап



**Рис. 4.** Объемная плотность ВКП (в об.%) в средней оболочке бидеренной артерии через 2 недели введения препарата в сериях эксперимента

При моделировании хронического ХС введение энапа одновременно с прозеринном сопровождалось достоверным увеличением объема ВКП (М = 23,41 ± 5,58 об.%) по сравнению со значениями ВКП

через 2 недели введения одного прозерина (19,25 ± 6,83 об.%,  $\chi^2 = 10,714$ ; p < 0,001), и по сравнению с контрольной серией крыс (М = 15,59 об.%,  $\chi^2 = 8,047$ ; p < 0,0046) (рис. 3, 5).



**Рис. 5.** Объемная плотность ВКП (в об.%) в средней оболочке бидеренной артерии через 2 недели введения препарата в сериях эксперимента

Таким образом, введение энапа не уменьшало ремоделирование меди бидеренной артерии при хроническом адренергическом стрессе, а при хроническом холинергическом стрессе увеличивало выраженность ремоделирования.

### Выводы

Результаты исследования позволяют утверждать, что при всех вариантах вегетативного обеспечения хронического стресса в эксперименте происходило выраженное ремоделирование ВКП меди бидеренной артерии крыс. Кроме того, даже через месяц после прекращения введения препаратов морфологические изменения не подвергались обратному развитию — показатели плотности ВКП оставались на уровне двух недель моделирования стресса во всех экспериментальных сериях.

Развитие и нарастание отека меди бидеренной артерии при различных вариантах стресса и сохраняющееся увеличение жидкостных пространств даже через месяц после моделирования всех вариантов хронического стресса может способствовать изменению механических, функциональных свойств и трофики всех слоев стенки сосуда (интимы, меди и адвентиции), с возможностью нарушения целостности, начала или усиления атеросклеротического поражения, дисрегуляции тонуса стенки.

В бидеренной артерии при обоих вариантах стресса не наблюдалось какого-либо протективного эффекта энапа, более того, при хроническом ХС введение энапа усиливало ремоделирование внеклеточных пространств меди.

1. 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.
2. Rubanova M.P., Zhmaylova S.V., Antonov E.K. Change of extracellular spaces of myocardium change of myocardium in simulation of various options of acute stress in the experiment // Vestnik of Novgorod State University. 2011. №62. P. 43-48, 83-86.

3. Инструкция к препарату энап Р // [http://www.vidal.ru/poisk\\_preparatov/enap-r.htm](http://www.vidal.ru/poisk_preparatov/enap-r.htm) (дата обращения 06.02.2014 г.)
4. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. М.: Медицина, 1990. С. 204-205.
5. Диагностика и лечение больных острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST ЭКГ (Национальные рекомендации) // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2007. №6 (8). С.487-488.
6. The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators. Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure // *Lancet*. 1993. №342. P.821-828.
7. Ambrosioni E., Borghi C., Magnani B., Survival of Myocardial Infarction Long-Term Evaluation (SMILE) Study Investigators. The effect of the angiotensin-convertingenzyme inhibitor zofenopril on mortality and morbidity after anterior myocardial infarction // *N Engl J Med*. 1995. №332. P.80-85.
2. Rubanova M.P., Zhmaylova S.V., Antonov E.K. Change of extracellular spaces of myocardium change of myocardium in simulation of various options of acute stress in the experiment. *Vestnik of Novgorod State University*, 2011, no. 62, pp. 43-48, 83-86.
3. Enap R drug information. Available at: [http://www.vidal.ru/poisk\\_preparatov/enap-r.htm](http://www.vidal.ru/poisk_preparatov/enap-r.htm) (accessed 06.02.2014)
4. Avtandilov G.G. Meditsinskaia morfometriia. Rukovodstvo. [Medical morphometry. Manual]. Moscow, Medicina Publ., 1990, pp. 204-205.
5. Diagnostika i lechenie bol'nykh ostrym infarktom miokarda s pod'emom segmenta ST EKG (Natsional'nye rekomendatsii) [Acute myocardial infarction with ST segment elevation - diagnostics and treatment (National recommendations)]. *Kardiovaskuliarnaia terapiia i profilaktika — Cardiovascular Therapy and Prevention*, 2007, no. 6 (8), pp. 487-488.
6. The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators. Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. *Lancet*, 1993, no. 342, pp. 821-828.
7. Ambrosioni E., Borghi C., Magnani B., Survival of Myocardial Infarction Long-Term Evaluation (SMILE) Study Investigators. The effect of the angiotensin-convertingenzyme inhibitor zofenopril on mortality and morbidity after anterior myocardial infarction. *N Engl J Med*, 1995, no. 332, pp. 80-85.

#### References

1. Veber V.R., Rubanova M.P., Zhmailova S.V., Gubskaya 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 liquid spaces]. *Rossiiskii meditsinskii zhurnal — Russian Medical Journal*, 2011, no. 2, pp. 23-27.