

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СТЕНКЕ БРЮШНОЙ АОРТЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ СИМПАТИКОТОНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Национальный университет физического воспитания и спорта Украины (г. Киев)

doctsvit@gmail.com

Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами. Данная работа является фрагментом общей темы кафедры анатомии, физиологии человека и животных Луганского национального университета имени Тараса Шевченко «Механизмы адаптации организма при влиянии эндогенных и экзогенных факторов среды» под номером государственной регистрации темы 019800026641.

Вступление. Наличие гипесимпатикотонической реактивности в большинстве случаев свидетельствует о напряженной адаптации, снижении резервных возможностей вегетативной регуляции. При патологии сердечно-сосудистой системы вегетативный баланс смещается в сторону симпатического преобладания [1,2]. Сдвигать вегетативный баланс в состояние симпатического превалирования может хронический физиологический и поведенческий стресс [3]. Длительно сохраняющееся изменение нейрогенного тонуса может приводить к патологическим изменениям в сосудистой стенке (прежде всего в интима и меди) с дальнейшим нарушением локальных реакций [1,4]. Хронический иммобилизационный стресс вызывает в участках ткани ишемию и ацидоз с накоплением продуктов межтучного обмена. Эти первичные локальные нарушения тканевого кровообращения могут провоцировать патоморфологические изменения в ткани [5].

Проведенные нами исследования влияния сопровождения хронического иммобилизационного стресса симпатикотонией с повышением активности симпатического отдела ВНС и нормальным тонусом парасимпатического отдела ВНС на функцию эндотелия и скоростные характеристики гемодинамики при моделировании иммобилизационного стресса выявило сохранение нормального диаметра брюшной аорты, толщины комплекса интима-меди на фоне развития нарушений гемодинамики [6].

Однако характер изменений структуры сосудистой стенки при сопровождении иммобилизационного стресса длительной симпатикотонией изучен недостаточно.

Цель исследования – выявить влияние длительной симпатикотонии с повышением активности симпатического отдела ВНС и нормальным тонусом парасимпатического отдела ВНС на структуру стенки брюшной аорты крыс при иммобилизационном стрессе в эксперименте.

Объект и методы исследования. Данное исследование было проведено у 30 стодневных самцов лабораторных крыс линии Вистар массой 180-200 г.

Как метод стрессорного воздействия был выбран иммобилизационный стресс, который моделировали помещая крыс в специальную пластиковую камеру-пенал, ограничивающую их движения в течение четырех часов при комнатной температуре окружа-

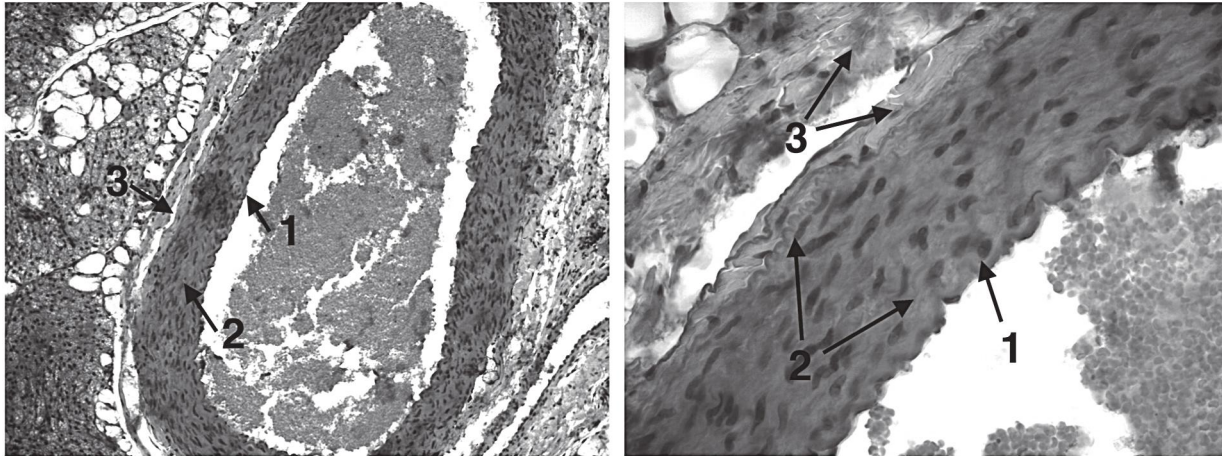
ющего воздуха. В качестве модели симпатикотонии была выбрана симпатикотония с повышением активности симпатического отдела ВНС и нормальным тонусом парасимпатического отдела ВНС, что достигалось введением α - и β -адреномиметика адреналина тартрата, действие которого совпадает с эффектом возбуждения симпатических нервных волокон. Животные содержались в обычных условиях вивария на стандартном рационе по 10 особей в клетке при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище.

Все манипуляции в ходе содержания и постановки эксперимента проводили в соответствии с биоэтическими принципами, изложенными в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 2005), «Общими этическими принципами экспериментов на животных», принятых Пятым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013).

Животные были разделены на 3 группы по 10 в каждой: I группа – контрольная – крысы, которым ежедневно подкожно вводили 0,3 мл 0,9 % раствора NaCl, II группа – животные, которых подвергали иммобилизационному стрессу и III группа – крысы, которым ежедневно подкожно вводили адреналина тартрат из расчета 0,05 мг·кг⁻¹ и подвергали иммобилизационному стрессу. На 10-е сутки животных выводили из эксперимента путем декапитации в состоянии наркоза (калпсол из расчета 16 мг·кг⁻¹ массы животного внутрибрюшинно).

Для гистологического исследования на 10-е сутки выделяли брюшную аорту каждого животного, промывали физиологическим раствором и фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина. После фиксации материал промывали и обезжировали в серии спиртов растущей концентрации, проводили через хлороформ и заливали в парафин. Срезы толщиной 1-3 мкм готовили на санном микротоме MC-2, размещали на стекле и окрашивали гематоксилин-эозином.

Гистологические препараты изучались при увеличении $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ с помощью микроскопа Primo Star 5 (Carl Zeiss, ФРГ) с последующим фотографированием микроскопических изображений. Компьютерная морфометрия проводилась при увеличении $\times 100$ и $\times 400$ и выведении изображения на монитор компьютера с помощью видеорегистратора и программы анализа изображений AxioVision (Rel.4.8.2) в мкм. Исследовали толщину субэндотелиального слоя с внутренней эластической мембраной и меди. Отношение объема просвета брюшной аорты к стенке сосуда рассчитывали в программе Adobe Photoshop по методу А.А. Глагольева наложением точечных сеток на срезы, результаты переводили в проценты



А

В

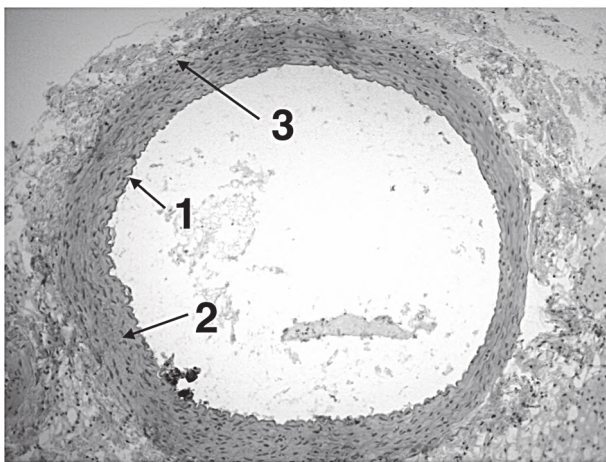
Рис. 1. Брюшная аорта крыс. Группа контроля. Окраска гематоксилином-эозином. А – увеличение x100, В – увеличение x400. 1 – внутренняя оболочка, 2 – средняя оболочка, 3 – наружная оболочка.

[7]. Исследования проводились в пяти полях пяти различных срезов у каждой крысы.

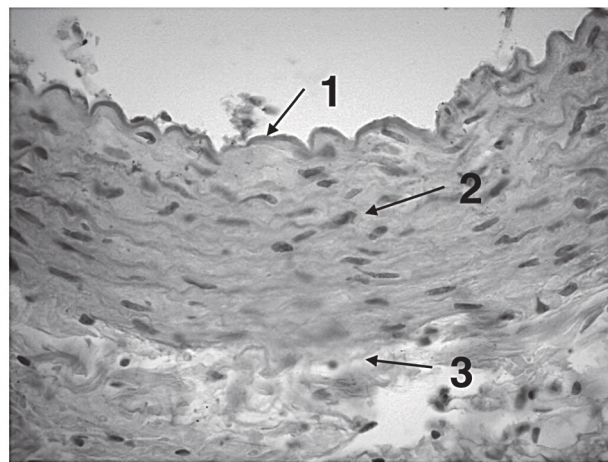
Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью лицензионного компьютерного пакета программ Microsoft Excel 2007. Определяли среднюю арифметическую выборки (M), стандартную ошибку средней арифметической ($\pm m$); достоверность различий (p) между выборками оценивали с использованием критерия Стьюдента, поскольку по критерию Шапиро-Уилка полученные данные отвечали нормальному закону распределения.

являлись плазма и эритроциты, во II группе просвет аорты был пуст (рис. 1, 2, 3).

Интима у животных I группы была представлена эндотелием, лежащим на внутренней эластической мембране. Эндотелиальные клетки были крупные, полигональной или округлой формы имели округлые, выступающие в просвет сосуда ядра, располагались на мембране и были связаны плотными и щелевидными контактами. Внутренняя эластическая мембрана была отчетливо выражена, интенсивно окрашена и имела мелкозубчатую поверхность (рис. 1). У крыс II группы внутренняя эластическая мем-



А



В

Рис. 2. Брюшная аорта крыс. II группа (животные переносившие иммобилизационный стресс). Окраска гематоксилином-эозином. А – увеличение x100, В – увеличение x400. 1 – внутренняя оболочка, 2 – средняя оболочка, 3 – наружная оболочка.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проведенного исследования выяснилось, что в стенке брюшной аорты всех трех групп четко дифференцировались три оболочки: интима, медиа и адвентиция. Просвет сосуда у крыс I группы имел овальную, у II группы – круглую, а у III группы – щелевидную или серповидную форму. При этом у животных I и III групп стенка сосуда была равномерной толщины, а у II группы отмечалось очевидное ее истончение. В просвете сосуда крыс I и III групп вы-

брана просматривалась на всем протяжении, была неравномерной толщины, мелкозубчатая. Эндотелиальные клетки были уплощены, местами слущены, ядра располагались вдоль мембраны (рис. 2). У животных III группы внутренняя эластическая мембрана прослеживалась практически на всем протяжении, в основном имела волнистую форму, местами зубчатую. Эндотелиальные клетки и их ядра имели веретенообразную форму, равномерно располагались вдоль мембраны (рис. 3).

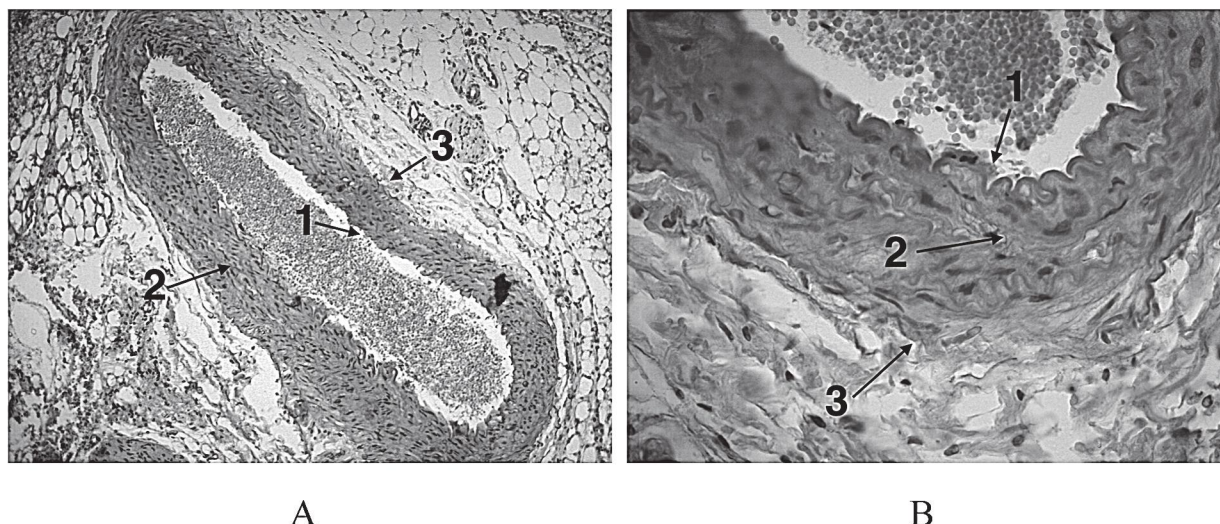


Рис. 3. Брюшная аорта крыс. III группа (животные переносившие иммобилизационный стресс на фоне введения адреналина тартрата). Окраска гематоксилином-эозином. А – увеличение x100, В – увеличение x400. 1 – внутренняя оболочка, 2 – средняя оболочка, 3 – наружная оболочка.

Средняя оболочка брюшной аорты крыс I группы была представлена соединительнотканым матриксом, небольшим количеством фибробластов и гладкомышечных клеток, которые были ориентированы по спирали. Основную массу меди составляли эластические волокна, лежащие параллельно в виде линейных прерывистых структур (рис. 1). В меди животных II группы волокна эластической мембраны были тонкие, волнистые, располагались параллельно друг другу. Количество гладкомышечных клеток и фибробластов было небольшим, в основном они располагались правильно, однако имелись участки хаотичного расположения (рис. 2). В средней оболочке крыс III группы визуализировались редкие, прерывистые волокна эластической мембраны, которые в основном располагались линейно, но местами обрывки волокон имели перпендикулярное к стенке направление. Гладкомышечные клетки имели палочковидные ядра и располагались неравномерно, хаотично, местами перпендикулярно стенке (рис. 3).

Наружная оболочка брюшной аорты крыс I группы была образована волокнистой соединительной тканью, имела рыхлое строение и содержала коллагеновые и эластические волокна, ориентированные преимущественно продольно. В жировой клетчатке просматривалась сеть кровеносных сосудов, нервные волокна и симпатические ганглии (рис. 1). Адвентиция крыс II группы была тонкой, с фрагментированными эластическими и коллагеновыми волокнами, местами с кровоизлияниями. Сосуды сосудов были спазмированы. Нервные стволы отсутствовали, визуализировались мелкие ганглии (рис. 2). В наружной оболочке животных III группы адвентиция была разволокнена, просвет между волокнами расширен, отечен, сосуды расширены, нервные ганглии и нервные стволы гипертрофированы (рис. 3).

Исследование толщины субэндотелиального слоя и внутренней эластической мембраны выявило достоверное истончение у крыс II и III групп при значении $3,45 \pm 0,15$ мкм и $2,76 \pm 0,13$ мкм соответственно в сравнении с группой контроля, где она была равна $6,23 \pm 0,25$ мкм.

Толщина средней оболочки брюшной аорты у животных II группы была достоверно тоньше в сравнении с группой контроля и составляла $34,31 \pm 1,63$ мкм и $83,54 \pm 2,75$ мкм соответственно, в то время как у крыс III группы статистически значимо не отличалась и составляла $85,5 \pm 3,35$ мкм.

Исследование соотношения просвета брюшного отдела аорты к стенке выявило у животных II группы достоверное, в сравнении с группой контроля, истончение стенки сосуда, в то время как у крыс III группы наблюдалось ее утолщение (табл.). Кроме того, у животных III группы отмечалось уменьшение в сравнении с группой контроля просвета сосуда, а составляющая других тканей у крыс II и III групп была увеличена (табл.).

Таблица.

Соотношение просвета брюшного отдела аорты к стенке

Группа животных	Стенка	Просвет	Другое (жировая и лимфоидная ткань, параганглий, сосуды)
I	$42,1 \pm 0,8$ %	$32,8 \pm 0,8$ %	$25,1 \pm 1,2$ %
II	$18,75 \pm 0,9$ %*	$30,44 \pm 1,1$ %	$41,85 \pm 1,2$ %*
III	$49,07 \pm 1,1$ %*	$17,41 \pm 0,8$ %*	$33,52 \pm 1,1$ %*

Примечания: * – достоверно ($p < 0,05$) в сравнении с данными в контрольной группе.

Таким образом, в результате проведенного эксперимента было установлено, что длительная иммобилизация у стодневных самцов крыс линии Вистар приводит к истончению и морфологическим изменениям всех слоев стенки брюшной аорты и уменьшению процента составляющей стенки сосуда за счет других тканей. При сопровождении длительной иммобилизации симпатикотонией с повышением активности симпатического отдела ВНС и нормальным тонусом парасимпатического отдела ВНС наблюдалось утолщение стенки брюшной аорты за счет отека адвентиции и повреждение эластических волокон во всех слоях стенки брюшной аорты.

Адвентиція – сама сложна оболочка стінки суду, котра состоїть з множини складових, і грає важливу роль для гомеостазу судів і болізей [8]. Она действує як центр біологічної обробки для извлечения, інтеграції, хранения і випуску ключевих регуляторів для функції суду, это датчик біомеханічної деформації судистої стінки [9,10]. В патологічних умовах зовнішня оболочка суду піддається ремоделированию в ответ на множини артеріальних пошкоджень, при этом резидентні адвентиціальні клітини часто первими активуються і перепрограмуються, а затем впливають на тонус і структуру стінки суду [11]. Предложена гіпотеза розвитку атеросклероза як локального судистого проявлення глобальної вегетативної дисфункції, в частині, як адвентиціальної дисфункції стресса нейрогенного походження [12]. Предполагается, что поскольку вегетативная нервная система иннервирует адвентицию, то ее дисфункция вызывает адвентициальный ангиогенез, тромбоз и дисфункцию эндотелия [12,13].

Гіперактивність симпатическої нервної системи вызиває воспалительні реакції в тканих [14].

Выводы. Результати наших досліджень указують на те, що супроводження тривалого іммобілізаційного стресса симпатикотонією з підвищенням активності симпатического відділу ВНС і нормальним тонусом парасимпатического відділу ВНС оказує певний ангиопротекторний ефект, однак не захищає від розвитку воспалительної реакції в адвентиції і дегенеративних змін еластических волокон всіх шарів стінки брюшної аорти.

Перспективи дальнейших исследований. Для понимания механизмов структурных изменений стінки брюшної аорти при супроводженні іммобілізаційного стресса симпатикотонією з підвищенням активності симпатического відділу ВНС і нормальним тонусом парасимпатического відділу ВНС необхідно проведення додаткових досліджень.

Литература

1. Abboud FM. The Walter B. Cannon Memorial Award Lecture. Physiology in perspective: the wisdom of the body. In search of autonomic balance: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2010;298(6):1449-67. DOI: 10.1152/ajpregu.00130.2010
2. Abboud FM, Harwani SC, Chapleau MW. Autonomic neural regulation of the immune system: implications for hypertension and cardiovascular disease. *Hypertension.* 2012;59(4):755-62. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.186833
3. Marwah RS, Doux JD, Lee PY, Yun AJ. Is atherosclerosis a neurogenic phenomenon? *Med Hypotheses.* 2007;69(4):884-7. DOI: 10.1016/j.mehy.2007.01.066
4. Shavrin AP, Khovayeva YAB, Golovskiy BV, Berg MD. Osnovnyye faktory remodelirovaniya sosudistoy stenki. *Kardiologiya.* 2014;54(5):48-53. [in Russian].
5. Poryadin GV, redaktor. *Stress i patologiya.* M.: RGMU; 2009. 23 s. [in Russian].
6. Gavrelyuk SV, Levenets SV. Vliyaniye simpatikotonii na parametry gemodinamiki i funktsiyu endotelii pri khronicheskom stresse v eksperimente. Aktual'ni problemi suchasnoi meditsini: visnik Ukraïns'koi medichnoi stomatologichnoi akademii. 2017;1(57):225-9. [in Russian].
7. Avtandilov GG. *Meditsinskaya morfometriya.* Rukovodstvo. M.: Meditsina; 1990. 384 s. [in Russian].
8. Majesky MW. Adventitia and Perivascular Cells *Arterioscler Thromb. Vasc Biol.* 2015;35(8):31-5. DOI: 10.1161/ATVBAHA.115.306088
9. Stenmark KR, Yeager ME, El Kasbi KC, Nozik-Grayck E, Gerasimovskaya EV, Li M, et al. The adventitia: essential regulator of vascular wall structure and function. *Annu Rev Physiol.* 2013;75:23-47. DOI: 10.1146/annurev-physiol-030212-183802
10. Gingras M, Farand P, Safar ME, Plante GE. Adventitia: the vital wall of conduit arteries. *JASH.* 2009;3(3):166-83. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jash.2009.03.002>
11. Hu Y, Xu Q. *Adventitial Biology. Differentiation and Function. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2011;31(7):1523-9. DOI: doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.221176
12. Marwah RS, Doux JD, Lee PY, Yun AJ. Is atherosclerosis a neurogenic phenomenon? *Med Hypotheses.* 2007;69(4):884-7. DOI: 10.1016/j.mehy.2007.01.066
13. Yun AJ, Doux JD, Bazar KA, Lee PY. Adventitial dysfunction: an evolutionary model for understanding atherosclerosis. *Medical Hypotheses.* 2005;65(5):962-5. DOI: 10.1016/j.mehy.2005.02.009
14. Zubcevic J, Jun JY, Kim S, Perez PD, Afzal A, Shan Z, et al. Altered inflammatory response is associated with an impaired autonomic input to the bone marrow in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension.* 2014;63(3):542-50. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02722

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В СТІНЦІ ЧЕРЕВНОЇ АОРТИ ПРИ ВПЛИВІ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ НА ТЛІ ТРИВАЛОЇ СИМПАТИКОТОНІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Гаврелюк С. В.

Резюме. У роботі розглядаються актуальні питання вивчення структурних змін стінки черевної аорти в експерименті з тривалим іммобілізаційним стресом на тлі симпатикотонії з підвищенням активності симпатического відділу ВНС і нормальним тонусом парасимпатического відділу ВНС. Дослідження виконані на трьох порівнянних групах щоденових щурів лінії Вістар, які протягом десяти діб випробовували дію іммобілізаційного стресу і симпатикотонії. Обрана модель симпатикотонії досягалася введенням α - і β -адреномиметика адреналіну тартрату, дія якого збігається з ефектом збудження симпатических нервових волокон. В результаті проведеного експерименту було встановлено, що супровід тривалого іммобілізаційного стресу симпатикотонією з підвищенням активності симпатического відділу ВНС і нормальним тонусом парасимпатического відділу ВНС надає певний ангиопротекторний ефект, проте не захищає від розвитку запальної реакції в адвентиції і дегенеративних змін еластических волокон всіх шарів стінки черевної аорти.

Ключові слова: структура судинної стінки, черевна аорта, симпатикотонія.

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СТЕНКЕ БРЮШНОЙ АОРТЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ СИМПАТИКОТОНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Гаврелюк С. В.

Резюме. В работе рассматриваются актуальные вопросы изучения структурных изменений стенки брюшной аорты в эксперименте с длительным иммобилизационным стрессом на фоне симпатикотонии с повышением активности симпатического отдела ВНС и нормальным тонусом парасимпатического отдела ВНС. Исследования выполнены на трех сопоставимых группах стодневных крыс линии Вистар, которые на протяжении десятидневного срока испытывали воздействие иммобилизационного стресса и симпатикотонии. Выбранная модель симпатикотонии достигалась введением α - и β -адреномиметика адреналину тартрата, дія якого збігається з ефектом збудження симпатичних нервових волокон. В результаті проведеного експерименту було встановлено, що супровід тривалого іммобілізаційного стресу симпатикотонією з підвищенням активності симпатичного відділу ВНС і нормальним тонусом парасимпатичного відділу ВНС надає певний ангиопротекторний ефект, проте не захищає від розвитку запальної реакції в адвентиції і дегенеративних змін еластичних волокон всіх шарів стінки черевної аорти.

Ключові слова: структура судинної стінки, черевна аорта, симпатикотонія.

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СТЕНКЕ БРЮШНОЙ АОРТЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ СИМПАТИКОТОНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Гаврелюк С. В.

Резюме. В работе рассматриваются актуальные вопросы изучения структурных изменений стенки брюшной аорты в эксперименте с длительным иммобилизационным стрессом на фоне симпатикотонии с повышением активности симпатического отдела ВНС и нормальным тонусом парасимпатического отдела ВНС. Исследования выполнены на трех сопоставимых группах стодневных крыс линии Вистар, которые на протяжении десятидневного срока испытывали воздействие иммобилизационного стресса и симпатикотонии. Выбранная модель симпатикотонии достигалась введением α - и β -адреномиметика адреналина тартрата, действие которого совпадает с эффектом возбуждения симпатических нервных волокон. В результате проведенного эксперимента было установлено, что сопровождение длительного иммобилизационного стресса симпатикотонией с повышением активности симпатического отдела ВНС и нормальным тонусом парасимпатического отдела ВНС оказывает определенный ангиопротекторный эффект, однако не защищает от развития воспалительной реакции в адвентиции и дегенеративных изменений эластических волокон всех слоев стенки брюшной аорты.

Ключевые слова: структура сосудистой стенки, брюшная аорта, симпатикотония.

STRUCTURAL CHANGES IN THE WALL OF THE ABDOMINAL AORTA UNDER THE INFLUENCE OF IMMOBILIZATION STRESS ON THE BACKGROUND OF PROLONGED SYMPATHICOTONIA IN THE EXPERIMENT

Gavreliuk S. V.

Abstract. In the work current questions of studying structural changes in the wall of the abdominal aorta in the experiment with long immobilization stress on the background of sympathicotonia with an increase in the activity of the sympathetic department of the VNS and the normal tone of the parasympathetic department of the VNS are considered.

The purpose of this study was to reveal the effect of prolonged sympathicotonia on the structure of the wall of the abdominal aorta in rats in an experiment.

The studies were performed on three comparable groups of hundred-day Wistar rats, which for a period of 10 days were exposed to immobilization stress and sympathicotonia. As a method of stress, immobilization stress was chosen, which was modeled by placing the rats in a special plastic pencil box, limiting their movements for four hours at room temperature of the ambient air. As a model of sympathicotonia, sympathicotonia was chosen with an increase in the activity of the sympathetic division of the VNS and the normal tone of the parasympathetic section of the VNS, which was achieved by the administration of α - and β -adrenomimetics of adrenaline tartrate, whose action coincides with the effect of stimulation of sympathetic nerve fibers.

The animals were divided into 3 groups of 10 each: I group – control – rats, which were injected subcutaneously with 0.3 ml of a 0.9% solution of NaCl every day, Group II – animals subjected to immobilization stress and Group III – rats, daily subcutaneously injected adrenaline tartrate at a rate of 0.05 mg·kg⁻¹ and subjected to immobilization stress. On the 10th day, the animals were removed from the experiment by decapitation in an anesthetic state (calypsole at the rate of 16 mg·kg⁻¹ of animal weight intraperitoneally).

It was found that the support of prolonged immobilization of sympathicotonia with an increase in the activity of the sympathetic division of the VNS and the normal tone of the parasympathetic division of the VNS has a certain angioprotective effect, but does not protect against the development of an inflammatory reaction in adventitia and degenerative changes in the elastic fibers of all layers of the wall of the abdominal aorta.

Key words: structure of the vascular wall, abdominal aorta, sympathicotonia.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 24.08.2018 року*