

УДК 616-092.4:616.136

Гаврелюк С.В.

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ СИМПАТИКОТОНИИ НА СТРУКТУРУ СТЕНКИ БРЮШНОЙ АОРТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко, Луганская обл., г. Старобельск

В работе рассматриваются актуальные вопросы изучения структурных изменений стенки брюшной аорты в эксперименте с длительной симпатикотонией. Исследования выполнены на двух сопоставимых группах стодневных крыс линии Вистар, которые на протяжении десятидневного срока испытывали воздействие симпатикотонии с нормальным тонусом симпатического отдела ВНС и снижением активности парасимпатического отдела ВНС. В результате проведенного эксперимента было установлено, что длительная симпатикотония является повреждающим фактором, который приводит к дегенеративным изменениям во всех оболочках стенки брюшной аорты. Процессы изменений имеют преимущественно дегенеративный характер, и проявляются нарушением структуры клеток и дезориентацией их к кровотоку. Процентное отношение составляющих просвета и стенки брюшной аорты уменьшается за счет составляющей других тканей, хотя в абсолютных значениях утолщения интимы и меди не происходит.

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

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.

Большинство известных факторов риска развития сосудистой патологии реализуются через изменение свойств сосудистой стенки. При этом крупные проводящие артерии, и в первую очередь аорта, подвержены патологическим влияниям в большей степени, чем периферические [2]. Упруго-эластические свойства артерий (податливость, растяжимость и жесткость) определяет структура их стенки [4]. Экспериментальные исследования показали, что увеличение артериальной жесткости связано со структурными изменениями [16]. Значительную роль в формировании нарушений механических свойств стенки сосуда играют функциональные факторы, такие как увеличение напряжения сдвига на эндотелии, временное возрастание концентрации циркулирующих вазоактивных гормонов, медиаторов воспаления, продуктов оксидативного стресса и др. Особое значение в ряду этих факторов отводится функциональной активности сосудистого эндотелия и гладкомышечных клеток [16]. В ответ на различные внешние раздражители дисфункция вегетативной нервной системы (ВНС) может приводить к парадоксальным сосудодвигательным реакциям [15]. Имеются исследования, демонстрирующие связь между повышенной симпатической активностью и жесткостью сосудистой стенки, которая не зависит от возраста, массы тела, частоты сердечных сокращений, частоты пульса и артериального давления [3]. Повышение активности симпатической нервной системы (СНС) увеличивает вазоконстрикцию, стимулирует накопление модифицированных липопротеинов в сосудистой стенке, индуцирует эндотелиальную дисфункцию, стимулирует окислительный стресс и ремоделирование сосудов, что в совокупности оказывает проатерогенное действие на сосудистую функцию [10].

Однако характер структурных изменений сосудистой стенки при длительной симпатикотонии изучен недостаточно.

Цель исследования

Выявить влияние длительной симпатикотонии на структуру стенки брюшной аорты крыс в эксперименте.

Объект и методы исследования

Данное исследование было проведено у 20 стодневных самцов лабораторных крыс линии Вистар массой 180-200 г. В качестве модели симпатикотонии была выбрана симпатикотония с нормальным тонусом СНС и снижением активности парасимпатического отдела ВНС, что достигалось введением М-холинолитика атропина сульфата, блокирующего парасимпатические синапсы.

Животные содержались в обычных условиях вивария на стандартном рационе по 10 особей в клетке при естественном освещении и со свободным доступом 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 2 группы по 10 в каждой: I – контрольная – крысы, которым ежедневно подкожно вводили 0,3 мл 0,9 % раствора NaCl и II – основная – животные, которым ежедневно подкожно вводили атропина сульфат из расчета 0,04 мг·кг⁻¹. Длительность эксперимента составила 10 дней. Животных на 10-е сутки выводили из эксперимента путем декапитации в состоянии наркоза

(калিপсол 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 обезвоживали в серии спиртов растущей концентрации, проводили через хлороформ и заливали в парафин. Срезы толщиной 1-3 мкм готовили на санном микротоме МС-2, размещали на стекле и окрашивали гематоксилин-эозином [5].

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 видеорежиссера 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 [1]. 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.

Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенного исследования выяснилось, что в стенке брюшной аорты крыс обеих групп четко дифференцировались три оболочки: интима, медиа и адвентиция. Просвет сосуда у крыс группы контроля имел овальную форму, в центре его располагалась плазма и эритроциты. У животных основной группы просвет брюшной аорты был неправильной формы, неравномерный, находящиеся в аорте эритроциты частично располагались у внутренней стенки. Сосудистая стенка имела неравномерную толщину (рис. 1 и 2).

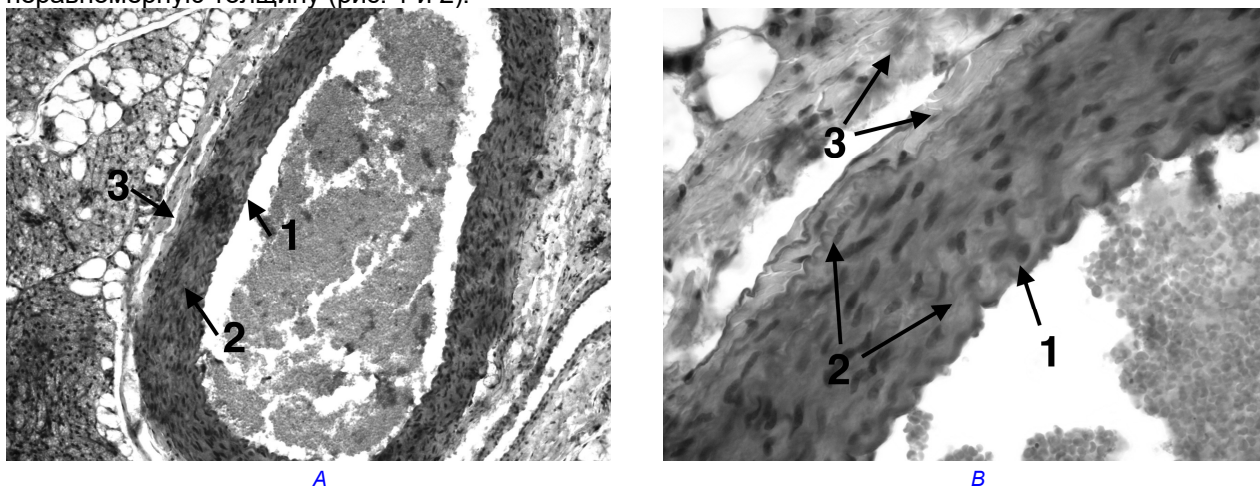


Рис. 1. Брюшная аорта крыс. Группа контроля. Окраска гематоксилином-эозином. А – увеличение $\times 100$, В – увеличение $\times 400$. 1 – внутренняя оболочка, 2 – средняя оболочка, 3 – наружная оболочка

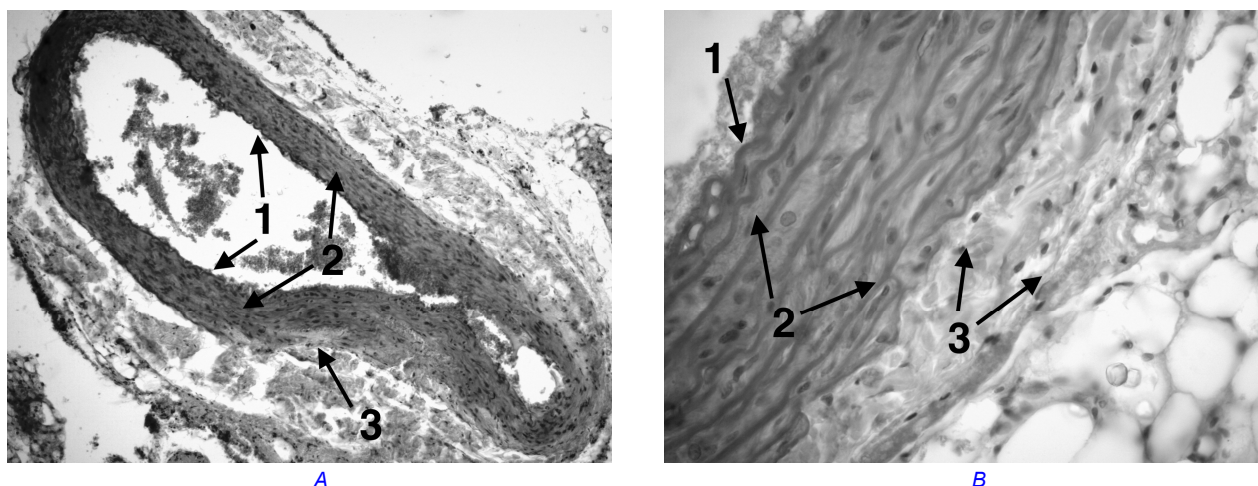


Рис. 2. Брюшная аорта крыс. Основная группа. Окраска гематоксилином-эозином. А – увеличение $\times 40$, В – увеличение $\times 400$. 1 – внутренняя оболочка, 2 – средняя оболочка, 3 – наружная оболочка.

Интима у животных I группы была представлена эндотелием, лежащим на внутренней эластической мембране. Эндотелиальные клетки были крупные, полигональной или округлой формы с округлыми, выступающими в просвет сосуда ядрами, располагались на мембране и были связаны плотными и щелевидными контактами. Внутренняя эластическая мембрана была отчетливо выражена, интенсивно окрашена и имела мелкозубчатую поверхность. У крыс II группы внутренняя эластическая мембрана была неравномерной толщины, прерывистая, зубчатая. Эндотелиальные клетки располагались неравномерно: частично – вдоль мембраны, частично – частоколом (рис. 1 и 2).

Медия брюшной аорты крыс контрольной группы была представлена соединительнотканым матриксом и небольшим количеством фибробластов и гладкомышечных клеток, которые были ориентированы по спирали. Основную ее массу составляли эластические волокна, лежащие параллельно в виде линейных прерывистых структур. В средней оболочке животных основной группы волокна эластической мембраны и клетки располагались хаотично, местами волокна не прослеживались. Ядра гладкомышечных клеток в местах истончения стенки были круглыми, а в местах утолщения – вытянутыми, располагались хаотично (рис. 1 и 2).

Наружная оболочка брюшной аорты животных 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. У крыс II группы адвентиция выглядела тонкой, компактной. Сосуды имели щелевидный просвет, содержали единичные эритроциты. Визуализируемые нервные стволы и ганглии были мелкими. В жировой клетчатке вокруг аорты просматривались очаговые мелкие лимфоцитарные инфильтраты (рис. 1 и 2).

Исследование толщины субэндотелиального слоя и внутренней эластической мембраны выявило у крыс основной группы лишь тенденцию к утолщению при значении $7,5 \pm 0,61$ мкм, в сравнении с группой контроля, где она была равна $6,23 \pm 0,25$ мкм. Толщина средней оболочки брюшной аорты у крыс II группы также имела тенденцию к увеличению и составляла $95,41 \pm 2,36$ мкм, в сравнении с животными I группы, у которых она имела значение $88,65 \pm 3,71$ мкм.

Исследование соотношения просвета брюшного отдела аорты к стенке выявило у животных II группы достоверное, в сравнении с группой контроля, уменьшение процента составляющих стенки и просвета сосуда, в то время как процент составляющей других тканей у животных основной группы был увеличен (табл. 1).

Таблица 1
Соотношение просвета брюшного отдела аорты к стенке

| Группа животных | Стенка | Просвет | Другое (жировая и лимфоидная ткань, параганглий, сосуды) |
|-----------------|-------------------|-------------------|--|
| Контрольная | $42,1 \pm 0,8$ % | $32,8 \pm 0,8$ % | $25,1 \pm 1,2$ % |
| Основная | $32,7 \pm 0,8$ %* | $27,5 \pm 1,1$ %* | $39,8 \pm 0,9$ %* |

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

Таким образом, в результате проведенного эксперимента было установлено, что симпатикотония с нормальным тонусом симпатического отдела ВНС и снижением активности парасимпатического отдела ВНС приводит у стодневных самцов крыс линии Вистар к морфологическим изменениям во всех слоях стенки брюшной аорты и уменьшению процентного соотношения составляющих просвета и стенки сосуда за счет составляющих других тканей. Процессы изменений имеют преимущественно

дегенеративний характер, и проявляються порушенням структури кліток и дезорієнтацією їх к кровотоку.

Согласно современным представлениям, СНС и эндотелиальные клетки, поддерживая тонус кровеносных сосудов в рабочем состоянии, находятся в функциональном антагонизме [9]. При этом СНС играет центральную роль в регуляции сердечнососудистой системы, а эндотелий играет ключевую роль в местной регуляции периферического сосудистого тонуса и структуры стенки сосудов [14]. Активность СНС обратно пропорциональна функции эндотелия. Увеличение активности симпатического отдела ВНС по сравнению с парасимпатическим уменьшает вазодилатацию в состоянии покоя и при стимуляции сосудорасширяющими медиаторами [13,14].

Известно, что нервная регуляция просвета периферических сосудов осуществляется преимущественно симпатической частью вегетативной нервной системы (СНС), при этом сосуды получают не только кратковременные импульсы, направленные на регуляцию их тонуса, но также и длительное трофическое влияние [6]. Результатом трофического влияния является изменение ростовых процессов в гладкомышечной ткани, пролиферация и дифференцировка гладкомышечных клеток [11,12], изменение их электрофизиологических и сократительных характеристик [7,8].

Выводы

Длительная симпатикотония с нормальным тонусом симпатического отдела ВНС и снижением активности парасимпатического отдела ВНС является повреждающим фактором, который приводит к дегенеративным изменениям во всех оболочках стенки брюшной аорты. При этом в абсолютных значениях утолщения интимы и меди не происходит, а процентное отношение составляющих просвета и стенки исследуемого сосуда уменьшается за счет составляющей других тканей.

Для понимания механизмов структурных изменений стенки брюшной аорты при вегетативном дисбалансе необходимо проведение дополнительных исследований.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Медицинская Морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Бродская Т.А. Артериальная ригидность и болезни органов дыхания. / Т.А. Бродская, Б.И. Гельцер, В.А. Невзорова // Владивосток: Дальнаука. – 2008. – Р. 14-21.
3. Дрокина О.В. Клиническая значимость оценки жесткости артерий и вазомоторной функции эндотелия при дисплазии соединительной ткани: Автореф. дис. на получение наук. степени канд. мед. наук: спец. 14.01.04 «Внутренние болезни» / О.В. Дрокина. – Барнаул, 2014. – 23 с.
4. Олейников В.Э. Роль определения аортального давления и ригидности аорты у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. / В.Э. Олейников, И.Б. Матросова, Л.И. Гусаковская, Н.В. Сергацкая // Терапевтический архив. – 2014. – 86(4). – С. 91-95.
5. Основы обеспечения качества в гистологической лабораторной технике. Руководство. / Под ред. Малькова П.Г., Франка Г.А. - М., 2011. – 108 с.
6. Орбели Л.А. Избранные труды в пяти томах. Том второй: Адапционно-трофическая функция нервной системы. / Л.А. Орбели – М.-Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1962. – 606 с.
7. Abel P.W. Sympathetic cross-innervation of SHR and genetic controls suggests a trophic influence on vascular muscle membranes / P.W. Abel, K. Hermsmeyer // Circ. Res. – 1981. – V. 49, № 6. – P. 1311-1318.
8. Bevan R.D. Trophic effects of peripheral adrenergic nerves on vascular structure. / R.D. Bevan // Hypertension. – 1984. – V.6., № 6, Pt 2. – P. 19-26.
9. Bruno R.M. Sympathetic regulation of vascular function in health and disease [Electronic resource] / R.M. Bruno, L. Ghiadoni, G. Seravalle, R. Dell’Oro, S. Taddei et al. // Physiol. – 2012. – Access mode: <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00284>
10. Christiakov D.A. Innervation of the arterial wall and its modification in atherosclerosis. / D.A. Christiakov, K.W. Ashwell, A.N. Orekhov, Y.N. Bobryshev // Auton Neurosci. – 2015. – № 193. – P. 7-11.
11. Damon D.H. VSM growth is stimulated in sympathetic neuron/VSM cocultures: role of TGF-beta2 and endothelin. / D.H. Damon // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2000. – V. 278., № 2. – P. 404-411.
12. Damon D.H. Sympathetic innervation promotes vascular smooth muscle differentiation. / D.H. Damon // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2005. – V. 288, № 6. – P. 2785-2791.
13. Lambert E. Sympathetic nervous system activity is associated with obesity-induced subclinical organ damage in young adults. / E. Lambert, C.I. Sari, T. Dawood, J. Nguyen, M. McGrane [et al.] // Hypertension. – 2010. – № 56(3). – P. 351-358.
14. Sverrisdottir Y.B. Muscle Sympathetic Nerve Activity Is Related to a Surrogate Marker of Endothelial Function in Healthy Individuals. / Y.B. Sverrisdottir, L.M. Jansson, U. Hägg, L.M. Gan // PLOS ONE. – 2010. – №5 (2). – P. 9257.
15. Yokoyama T. Sympathetic regulation of vascular tone via noradrenaline and serotonin in the rat carotid body as revealed by intracellular calcium imaging. / T. Yokoyama, N. Nakamura, T. Kusakabe, Y. Yamamoto // Brain Research. – 2015. – Vol. 1596. – P. 126-135.
16. Ziemann S.J. Mechanisms, pathophysiology and therapy of arterial stiffness. / S.J. Ziemann // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2005. – № 25. – P. 932-943.

Реферат

ВПЛИВ ТРИВАЛОЇ СІМПАТИКОТОНІЇ НА СТРУКТУРУ СТІНКИ ЧЕРЕВНОЇ АОРТИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Гаврелюк С.В.

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

У роботі розглядаються актуальні питання вивчення структурних змін стінки черевної аорти в експерименті з тривалої симпатикотонії. Дослідження виконані на двох порівнянних групах стодобових щурів Вістар, які протягом десятидобового терміну випробовували дію симпатикотонії з нормальним тонусом симпатичного відділу ВНС і зниженням активності парасимпатичного відділу ВНС.

В результаті проведеного експерименту було встановлено, що тривала симпатикотонія є фактором, що ушкоджує, який призводить до дегенеративних змін у всіх оболонках стінки черевної аорти. Процеси змін мають переважно дегенеративний характер, і проявляються порушенням структури клітин і дезорієтацією їх до кровотоку. Відсоткове співвідношення складових просвіту і стінки черевної аорти зменшується за рахунок складової інших тканин, хоча в абсолютних значеннях потовщення інтими і медії не відбувається.