

DOI: 10.26693/jmbs02.05.007

УДК 616-092.4:616.136

Гаврелюк С. В.

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СТЕНКЕ БРЮШНОЙ АОРТЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЛИТЕЛЬНОЙ СИМПАТИКОТОНИИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Национальный университет физического воспитания и спорта Украины, Киев

doctsvit@gmail.com

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 повышением активности симпатического отдела ВНС и нормальным тонусом 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. При этом происходит истончение интимы, а процентное отношение составляющих стенки исследуемого сосуда увеличивается за счет составляющей других тканей.

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

Связь работы с научными программами, планами, темами. 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», № государственной регистрации 019800026641.

Введение. 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, 14]. Упруго-эластические свойства сосуда определяет структура его стенки [4].

Выявлено, что длительные изменения нейрогенного тонуса, и в частности активизация симпатической нервной системы (СНС), могут приводить к патологическим изменениям в сосудистой стенке [6, 7]. Повышение активности СНС увеличивает вазоконстрикцию, стимулирует накопление в стенке сосуда модифицированных липопротеинов, индуцирует эндотелиальную дисфункцию и ремоделирование [10]. С увеличением симпатической гиперактивности связано формирование метаболического синдрома [9]. 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].

Однако характер структурных изменений сосудистой стенки при длительной симпатикотонии изучен не достаточно.

Целью настоящего исследования было 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 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 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 адреналина тартрат из расчета 0,05 мг·кг⁻¹. Длительность эксперимента составила 10 дней. Животных на 10-е сутки выводили из эксперимента путем декапитации в состоянии наркоза (калписол 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 MC-2, размещали на стекле и окрашивали гематоксилин-эозином [5].

Гистологические препараты изучались при увеличении x40, x100, x400 с помощью микроскопа Primo Star 5 (Carl Zeiss, ФРГ) с последующим

фотографированием микроскопических изображений. Компьютерная морфометрия, проводилась с помощью персонального компьютера, видеорегистратора и программы анализа изображений Axio-Vision (Rel.4.8.2), при увеличении x100 и x400 в мкм. Исследовали толщину субэндотелиального слоя с внутренней эластической мембраной и медии. 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. У крыс I группы просвет сосуда имел овальную форму, а II – был неправильной округлой формы. В препаратах крыс обеих групп в просвете сосуда содержалась плазма и эритроциты, располагающиеся по центру (рис. 1, 2).

Интима у животных группы контроля 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

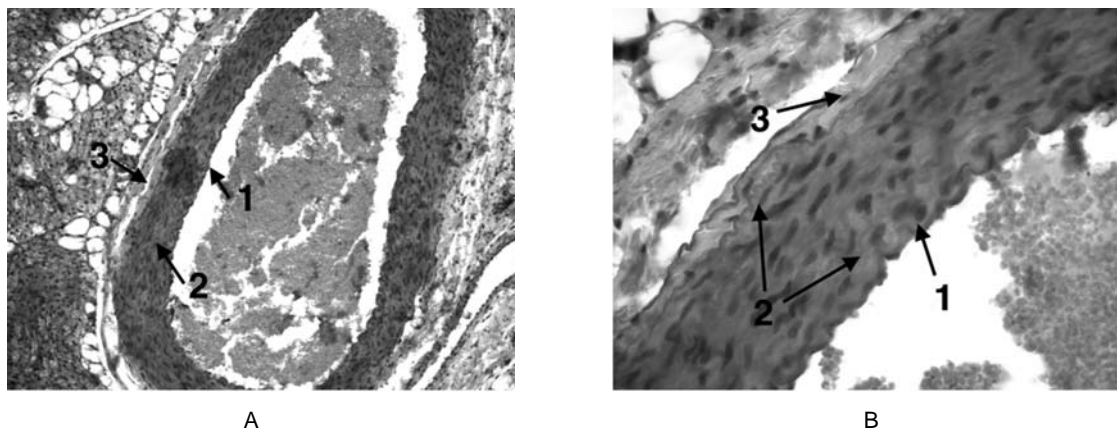


Рис. 1. Брюшная аорта крыс. Группа контроля. Окраска гематоксилином-эозином. А – увеличение x100, В – увеличение x400. 1 – внутренняя оболочка, 2 – средняя оболочка, 3 – наружная оболочка

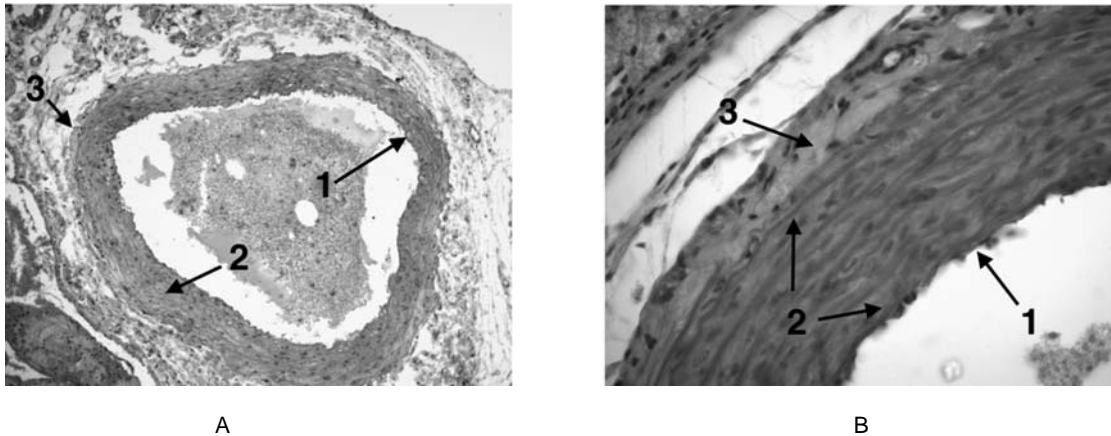


Рис. 2. Брюшная аорта крыс. Основная группа. Окраска гематоксилином-эозином.
 А – увеличение x100, В – увеличение x400.
 1 – внутренняя оболочка, 2 – средняя оболочка, 3 – наружная оболочка

были связаны плотными и щелевидными контактами. Внутренняя эластическая мембрана была отчетливо выражена, интенсивно окрашена и имела мелкозубчатую поверхность (рис. 1).

У животных основной группы эндотелиальные клетки местами располагались перпендикулярно внутренней мембране, имели мелкие округлые ядра, часть из которых выступала в просвет сосуда. Внутренняя эластическая мембрана имела прерывистый, бахромчатый вид, у внутренней поверхности сосуда располагались единичные сегментоядерные лейкоциты (рис. 2).

Медия брюшной аорты крыс контрольной группы была представлена соединительнотканым матриксом и небольшим количеством фибробластов и гладкомышечных клеток, которые были ориентированы по спирали. Основную массу ее составляли эластические волокна, лежащие параллельно в виде линейных прерывистых структур (рис. 1). В средней оболочке животных основной группы выявлялись группы волокон эластической мембраны, которые были фрагментированы, мелкие, местами не просматривались. Гладкомышечные клетки и фибробласты имели неравномерное, хаотичное расположение. Клетки их были неправильной формы с ядрами разных размеров (рис. 2).

Наружная оболочка брюшной аорты животных группы контроля 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 исследуемого сосуда животных

основной группы была тонкая, неравномерно выраженная. Мелкие сосуды сосудов имели узкий просвет, склерозированную стенку, в вене визуализировался красный тромб. Ганглии и нервные стволы просматривались мелкие, единичные (рис. 2).

Исследование толщины субэндотелиального слоя и внутренней эластической мембраны выявило достоверное истончение у крыс основной группы при значении $3,72 \pm 0,14$ 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 имела лишь тенденцию к уменьшению и составляла $84,02 \pm 1,6$ 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, увеличение процента составляющей стенки сосуда и уменьшение процента составляющей других тканей, в то время как процент составляющей просвета сосуда у животных основной группы имел лишь тенденцию к увеличению (табл.).

Таким образом, в результате проведенного эксперимента было установлено, что симпатикотония с повышением активности симпатического отдела ВНС и нормальным тонусом парасимпатического

Таблица – 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	$50,8 \pm 1,2$ %*	$35,2 \pm 1,1$ %	$14,0 \pm 1,4$ %*

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

отдела ВНС у стодневных самцов крыс линии Вистар приводит к дегенеративным изменениям во всех оболочках брюшной аорты, однако выраженность этих изменений неоднозначна. В то время как в интиме отмечается локальное поражение эндотелия и внутренней эластической мембраны, а в медию уменьшается количество эластических волокон и нарушается структура и расположение гладкомышечных клеток, максимальных изменений претерпевает адвентициальная оболочка. Кроме того выявлено достоверное, в сравнении с данными в контрольной группе, истончение субэндотелиального слоя и внутренней эластической мембраны, и увеличение процентного соотношения составляющей стенки сосуда за счет составляющих других тканей.

Согласно современным представлениям СНС и эндотелиальные клетки находятся в функциональном антагонизме, поддерживая тонус кровеносных сосудов в рабочем состоянии [8]. При этом СНС играет центральную роль в регуляции сердечно-сосудистой системы, а эндотелий играет ключевую роль в местной регуляции периферического сосудистого тонуса и структуры стенки сосудов [13]. Симпатические нервы высвобождают

нейропептиды Y, которые стимулируют вазоконстрикцию и пролиферацию клеток гладких мышц сосудов [11].

Наружная оболочка сосуда рассматривается как ключевой регулятор функции и структуры сосудистой стенки, поскольку в ответ на сосудистый стресс или травму адвентициальные клетки первыми активируются и могут оказывать пролонгированное влияние на тонус и структуру стенки сосуда [12].

Выводы и перспективы дальнейших исследований. Длительная симпатикотония с повышением активности симпатического отдела ВНС и нормальным тонусом парасимпатического отдела ВНС является повреждающим фактором, который приводит к дегенеративным изменениям во всех оболочках стенки брюшной аорты. При этом происходит истончение интимы, а процентное отношение составляющих стенки исследуемого сосуда увеличивается за счет составляющей других тканей.

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

References

1. Avtandilov GG. *Meditsinskaya Morfometriya. Rukovodstvo*. M: Meditsina, 1990. 384 s. [Russian].
2. Brodskaya TA, Geltser BI, Nevzorova VA. *Arterialnaya rigidnost i bolezni organov dykhaniya*. Vladivostok: Dalnauka, 2008. 248 s. [Russian].
3. Drokina OV. *Klinicheskaya znachimost otsenki zhestkosti arteriy i vazomotornoy funktsii endoteliya pri displazii soedinitel'noy tkani*: avtoref. dis kand. med. nauk, Abstr. PhDr. (Med.). Omsk 2014. 23 s. [Russian].
4. Oleynikov VE, Matrosova IB, Gusakovskaya LI, Sergatskaya NV. Rol opredeleniya aortalnogo davleniya i rigidnosti aorty u patsientov s serdechno-sosudistymi zabolevaniyami. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2014; 86 (4): 91-5. [Russian].
5. Malkov PG, Frank GA, redaktory. *Osnovy obespecheniya kachestva v gistologicheskoy laboratornoy tekhnike: Rukovodstvo*. M, 2011. 108 s. [Russian].
6. Shavrin AP, Khovaeva YaB, Golovskiy BV, Berg MD. Osnovnye faktory remodelirovaniya sosudistoy stenki. *Kardiologiya*. 2014; 5: 48-53. [Russian].
7. 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: 1449-67. PMID: PMC2886699. doi: 10.1152 / ajpregu.00130.2010.
8. Bruno RM, Ghiadoni L, Seravalle G, Dell'oro R, Taddei S, Grassi G. Sympathetic regulation of vascular function in health and disease. *Physiol. Front Physiol*. 2012 Jul 24; 3: 284. PMID: PMC3429057. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00284>.
9. Canale MP, Manca di Villahermosa S, Martino G, Rovella V, Noce A, De Lorenzo A, Di Daniele N. Obesity-related metabolic syndrome: mechanisms of sympathetic overactivity. *Int J Endocrinol*. 2013; 2013: 865965. PMID: PMC3833340. doi: 10.1155/2013/865965.
10. Christiakov DA, Ashwell KW, Orekhov AN, Bobryshev YN. Innervation of the arterial wall and its modification in atherosclerosis. *Auton Neurosci*. 2015; 193: 7-11. PMID: 26164815. doi: 10.1016 / j.autneu.2015.06.005.
11. Sobey CG. Neurogenic atherosclerosis mediated by neuropeptide Y. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23: 1137-39. doi: 10.1161/01.ATV.0000078582.90403.E6.
12. Stenmark KR, Yeager ME, El Kasmi KC, Nozik-Grayck E, Gerasimovskaya EV, Li M, Li M, Riddle SR, Frid MG. The Adventitia: Essential Regulator of Vascular Wall Structure and Function. *Annu Rev Physiol*. 2013; 75: 23-47. PMID: PMC3762248. doi: 10.1146/annurev-physiol-030212-183802.
13. Sverrisdottir YB, Jansson LM, Hägg U, Gan L-M. Muscle Sympathetic Nerve Activity Is Related to a Surrogate Marker of Endothelial Function in Healthy Individuals. *PLOS ONE*. 2010; 5 (2): e9257. doi: 10.1371/journal.pone.0009257.
14. Ziemann SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25 (5): 932-43. PMID: 15731494. doi: 10.1161/01.ATV.0000160548.78317.29.

УДК 616-092.4:616.136

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В СТІНЦІ ЧЕРЕВНОЇ АОРТИ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ТРИВАЛОЇ СІМПАТИКОТОНІЇ У ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН*Гаврелюк С. В.*

Резюме. У роботі розглядаються актуальні питання вивчення структурних змін стінки черевної аорти в експерименті з тривалої симпатикотонії. Дослідження виконані на двох порівнянних групах стодобових щурів лінії Вістар, які протягом десятидобового терміну випробовували дію симпатикотонії з підвищенням активності симпатичного відділу ВНС і нормальним тонусом 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. При цьому відбувається витончення інтими, а процентне відношення складових стінки досліджуваної судини збільшується за рахунок складової інших тканин.

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

UDC 616-092.4:616.136

Structural Changes in Abdominal Aorta Wall at the Modeling of Long-Term Sympathicotonia on Laboratory Animals*Gavreliuk S. V.*

Abstract. This article considers topical issues of structural changes in the abdominal aorta wall in an experiment with prolonged sympathicotonia.

The purpose of the study was to reveal the effect of prolonged sympathicotonia on the structure of rat's abdominal aorta wall in experiment.

The studies were performed on two comparable groups of hundred-day Wistar rats which during 10 days experienced sympathicotonia with an increase in the activity of the sympathetic department of the ANS and the normal tone of the parasympathetic department of the ANS. The latter was achieved by the administration of α - and β - adrenomimetics of adrenaline tartrate, which action coincides with the excitation effect sympathetic nerve fibers.

The first (control) group consisted of intact animals injected subcutaneously with 0.3 ml of a 0.9% solution of NaCl. The second (experimental) group involved rats, daily injected adrenaline tartrate subcutaneously at a rate of 0.05 mg·kg⁻¹.

The animals were removed from the experiment on the 10th day by decapitation in a state of anesthesia (calypsole at the rate of 16 mg·kg⁻¹ of the animal mass intraperitoneally) and the abdominal aorta was isolated for histological examination.

Histological preparations of the abdominal aorta were studied with an increase in x40, x100, x400 with the help of a Primo Star 5 microscope (Carl Zeiss, FRG) followed by photography of microscopic images. Computer morphometry was performed with x100 and x400 magnification and displaying the image on the computer monitor using the DVR and AxioVision image analysis software (Rel.4.8.2) in μm . The thickness of the subendothelial layer was studied with an internal elastic membrane and media. The ratio of the volume of the lumen of the abdominal aorta to the wall of the vessel was calculated in the Adobe Photoshop program by the method Glagoliev A.A. superposition of point grids into sections. The results were translated into percentages. Studies were carried out in five fields of five different sections in each rat.

Based on the results of the variational analysis of the morphological study data, some features of restructuring the structure of the vascular wall of the abdominal aorta under the influence of prolonged sympathicotonia with an increase in the activity of the sympathetic department of the ANS and the normal tone of the parasympathetic department of the ANS have been revealed.

In particular, prolonged sympathicotonia is a damaging factor that leads to degenerative changes in all the membranes of the abdominal aorta. However, the severity of these changes is ambiguous. While the local lesion of the endothelium and internal elastic membrane is noted in the intima, and the number of elastic fibers decreases and the structure and location of the smooth muscle cells are disrupted, the adventitial membrane undergoes maximum changes. In addition, the thinning of the subendothelial layer and the inner elastic membrane, and an increase in the percentage of the constituent of the vessel wall due to the constituents of other tissues, were found to be reliable, in comparison with the data in the control group.

To understand the mechanisms of structural changes in the wall of the abdominal aorta in vegetative imbalance, additional studies are needed.

Keywords: structure of the vascular wall, abdominal aorta, sympathicotonia.

Стаття надійшла 15.09.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування