

DOI 10.26724 / 2079-8334-2018-2-64-190-193

УДК 611.127:616.132.2

Н. М. Гринчак, Р. П. Пісчун, Т. І. Шевчук, Т. Б. Васенко
 Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, м. Вінниця

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРИ СЕРЦЕВОГО М'ЯЗА ПРИ МОДЕЛЮВАННІ АТЕРОСКЛЕРОЗУ У КРОЛІВ ТА ЩУРІВ

E-mail: grinchak.nata@ukr.net

В даній роботі представлені результати біохімічних, мікроскопічних та мікроморфометричних досліджень серця щурів та кролів в нормі і при холестериновому атеросклерозі. Стан експериментального атеросклерозу моделювався на білих лабораторних щурах-самцях масою 150-200 г. та кролях-самцях породи «шиншила» масою 3,0 – 4,7 кг. Кролям холестерин вводили перорально, змішуючи його з тертою морквою і соняшниковою олією, в дозі 0,5 г/кг маси тіла протягом 3 місяців. Щурам, протягом 30 днів щоденно вводили холестерол внутрішньошлунково за допомогою зонду з оливою, попередньо розчиняючи його в соняшниковій олії, теж в дозі 0,5 г/кг і на тлі пригнічення функції щитоподібної залози 4(6) - Метил-2-тіоурацилом в дозі 12 мг/кг. Встановлено ознаки атеросклеротичних змін структур серця обох видів лабораторних тварин при такому моделюванні паталогічного стану. Гістологічне дослідження як кролів так і щурів показує, що в багатьох інтрамуральних артеріях відмічаються типові атеросклеротичні бляшки, які різко звужують просвіт судин, а іноді спостерігається дифузна ліпідна інфільтрація всіх оболонки стінки судини і повна облітерація її просвіту. Вказані зміни судин є причиною ішемії та гіпоксії міокарду.

Ключові слова: експериментальний атеросклероз, ліпіди крові, міокард, коронарні артерії.

Робота є фрагментом НДР „Пошук та розробка нових шляхів фармакологічної корекції порушень при ішемічному ушкодженні мозку та серця в експерименті ” (№ держреєстрації 0112U001939).

У XXI столітті спостерігається досить швидка зміна способу життя людей, яка пов'язана зі змінами в індустріалізації, урбанізації. І це в свою чергу сприяло тому, що захворювання людей на серцево-судинні хвороби стали масово проявлятися навіть серед населення досить економічно розвинених країн. Серед населення України, як і в багатьох країнах Європи, поширеність хронічних хвороб серцево-судинної системи є важливою проблемою здоров'я громадян. Згідно зі статистичними даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), у світі щороку помирають від серцево-судинних захворювань (ССЗ) близько 9,4 млн. людей. Серед яких 51% населення помирають від інсульту і 45% – від ішемічної хвороби серця. У зв'язку з цим, у Європі за кількістю померлих людей від ССЗ, Україна займає перше місце [12]. Аналізуючи дані ВООЗ, від ССЗ тільки у 2011-2012 рр. зареєстровано 440 тис. померлих українців, а в 2013 році близько половини смертей в Україні було зумовлено від ССЗ. Серед 43 європейських держав, США і Канади Україна займає 34-те місце за показником очікуваної тривалості життя. Відповідно, це викликано тим, що така складна ситуації залежить як від об'єктивного характеру (не достатній матеріальний рівень життя), так і від суб'єктивного характеру, а саме від відповідного способу життя [2, 4].

Атеросклероз і атеротромбоз судин кровоносного русла у переважній кількості випадків є основою патогенезу ССЗ, що в свою чергу призводить до розвитку ішемічної хвороби серця (ІХС) і до цереброваскулярних захворювань в 67,5 % та в 21,8 % випадків відповідно. Лише протягом 2009 р. серед українців тільки за зверненням до лікаря зареєстровано більше 8,6 млн хворих з ІХС, із яких пацієнтів зі стенокардією становили біля 36 %. Особливу занепокоєність викликає такий рівень «надсмертності», тому що він має досить тривалу несприятливу динаміку, при чому багато людей в Україні помирають від ССЗ саме працездатного віку. Дані статистики ВООЗ говорять про те, що від ССЗ українці помирають не тільки у 2-4 рази частіше, ніж населення країн Європи, але ще й раніше: так, українські чоловіки в віці 30-45 років помирають в 6 разів частіше, ніж в країнах Євросоюзу [11]. Частота ССЗ починає різко зростати починаючи із 15-17 років. Таким чином дані статистики свідчать, що 37% працездатного населення має різноманітні ССЗ. Дослідження останніх років свідчать, що факторами ризику виникнення ІХС і атеросклерозу крім гіперхолестеринемії є ще й багато інших порушень ліпідного спектра [5]. Це можна віднести до гіпертригліцеридемії і низького рівня холестеролу ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) у плазмі крові [4]. Головна особливість факторів ризику полягає в тому, що вони, як правило, підсилюють дію один одного, тобто при наявності двох факторів ризику

ймовірність розвитку атеросклерозу збільшується не в 2, а в 3 і більше разів. Відповідно, будь-яка стратегія профілактики припускає комплексний вплив на усі фактори ризику, які є у хворого, а інтенсивність втручання і цільові рівні показників (загального холестеролу, холестеролу ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), тригліцеридів залежать від сумарного абсолютного ризику розвитку ІХС і її ускладнень протягом визначеного періоду [2, 7]. Тому, вивчення атеросклеротичного процесу в експерименті є актуальною проблемою сучасності.

Метою нашої роботи стало порівняння змін в серці щурів та кролів при експериментальному холестеринному атеросклерозі.

Матеріали і методи дослідження. Досліди були проведені на кролях-самцях породи «шиншила» масою 3,0 – 4,7 кг та щурах-самцях масою 150-200 г. Стан експериментального атеросклерозу (ЕА) моделювався на білих лабораторних щурах-самцях та кролях-самцях за класичною методикою М.М.Анічкова . Кролям холестерол вводили перорально, змішуючи його з тертою морквою і соняшниковою олією, в дозі 0,5 г/кг маси тіла протягом 3 місяців. Щурам протягом 30 днів щоденно вводили холестерол внутрішньошлунково за допомогою зонду з оливою, попередньо розчиняючи його в соняшниковій олії, теж в дозі 0,5 г/кг і 4(6) - Метил-2-тіоурацил в дозі 12 мг/кг для пригнічення функції цитоподібної залози. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Всі піддослідні тварини були розділені на 2 групи: 1 - інтактна, 2 група – тварини, яким моделювався атеросклероз. По закінченні досліду евтаназію щурів проводили під легким ефірним наркозом шляхом декапітації, а кролі умирялись шляхом передозування тіопенталового наркозу. Після розтину грудної клітки забирали серця для подальшого морфологічного дослідження. Поперечні целоїдинові та парафінові зрізи фарбували гематоксиліном і еозином та по Ван Гізону, а заморожені - по Лізону суданом чорним-В для виявлення загальних ліпідів. Мікрофотографування проводили за допомогою цифрової фотокамери «Olimpus E 410» та мікроскопа Olympus BX 41. Мікроморфометрію коронарних артерій проводили за методикою С.В. Шорманова [11], визначаючи площу поперечного перерізу артерій, площу просвіту, зовнішній і внутрішній діаметр, товщину стінки та індекс Вогенворта. Для вимірювання мікроморфометричних характеристик артерій використовували програмне забезпечення Quick Photo Micro 2.3 з використанням об'єктива x40 і фотоокуляра x10. Отримані кількісні показники обробляли статистично з використанням програмного пакету «STATISTIKA». Достовірність різниці між незалежними порівнюваними величинами визначали за допомогою критерія Стюдента, а у випадку розподілення відмінного від нормального або аналізу порядкових змінних використовували Mann-Whitney U.

Результати дослідження та їх обговорення. При дослідженні міокарда тварин з експериментальним атеросклерозом виявлені різного ступеня судинні розлади. Вони проявляються у вигляді повнокрів'я капілярів і вен, периваскулярних крововиливів, плазматичного просякнення стінок судин, набряку між'язової та периваскулярної тканини. Атеросклеротичні зміни артерій характеризуються, в першу чергу, порушенням структури внутрішньої оболонки судин, що проявляється її потовщенням, дифузною інфільтрацією ліпідами і проліферацією клітинних елементів підендотеліального шару, що призводить до значного звуження просвіту судин. Гладенькі м'язові клітини середньої оболонки втрачають властиве їм циркулярне розташування, а їх цитоплазма містить ліпіди у вигляді крапель різної величини. В адвентиції судин і периваскулярних просторах виявляються значні скупчення ліпідів.

Гістологічне дослідження як кролів так і щурів показує, що в багатьох інтрамуральних артеріях відмічаються типові атеросклеротичні бляшки, які різко звужують просвіт, а іноді спостерігається дифузна ліпідна інфільтрація всіх оболонок стінки судини і повна облітерація її просвіту. Найбільше страждають судини, розміщені під епікардом і в папілярних м'язах. Вказані зміни судин є причиною ішемії та гіпоксії тканин, що сприяє порушенню структури міокарда у вигляді дифузних і вогнищевих змін, представлених явищами дистрофії, деструкції та некробіозу кардіоміоцитів, а також розростанням стромі, що проявляється збільшенням вмісту основної речовини і волокнистих структур у між'язових просторах, та накопиченням ліпідів в цитоплазмі кардіоміоцитів і стромі серцевого м'язу, що спостерігали і інші дослідники [1, 7, 8]. Описані результати підтверджуються даними морфометрії судин дрібного калібру (табл. 1), при якій виявлено збільшення площі поперечного перерізу судин на 56,22% у кролів, та на 27,5% у щурів,

зовнішнього діаметру - на 15,29% у кролів та на 34,4% у щурів, площі стінки - в 2 рази та в 2,25 рази відповідно, товщини стінки - на 73,44% у кролів та на 12,36% - у щурів, а також індексу Вогенворта - в 4,24 та в 3 рази відповідно, спостерігається зменшення площі просвіту на 48,68% у кролів та 16,5% у щурів у порівнянні з групою інтактних тварин [8].

Таблиця 1

Морфометричні параметри інтрамуральних артерій малого калібру міокарда кролів та щурів в нормі та при ЕА (M±m).

Показники	Кролі		Щури	
	Інтактні	Атеросклероз	Інтактні	Атеросклероз
Зовн. діаметр (мкм)	32,51±0,88	37,48±1,28*	74,81±3,94	100,6±4,04*
Площа перерізу (мкм ²)	573,92±45,59	896,57±91,07*	262,4±11,90	333,4±13,02*
Внутр. діаметр (мкм)	20,61±0,96	16,84±1,58*	53,43±3,52	51,32±3,71
Площа просвіту (мкм ²)	187,04±10,94	95,99±9,39*	182,8±10,19	152,6±4,45*
Товщина стінки (мкм)	5,95±0,49	10,32±0,75*	10,68±0,59	24,63±3,32*
Площа стінки (мкм ²)	386,88±26,12	800,58±81,68*	79,63±4,37	180,8±22,05*
Індекс Вогенворта(%)	203,69±12,52	863,63±74,77*	43,57±3,17	118,4±1,69*

Примітка. * - достовірна різниця порівняно з інтактною групою (p≤0,05).

Для оцінки ступеня змін біохімічних показників ліпідного обміну при розвитку атеросклерозу забирали кров у кролів і у щурів. При ЕА в зв'язку з нерівномірним розподілом холестеролу між фракціями ліпопротеїдів виникає необхідність визначення в сироватці крові загального холестеролу (ЗХ), ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), тригліцеридів (ТГ), а також розрахунку індексу атерогенності (ІА) (табл. 2).

Таблиця 2

Показники біохімічного дослідження сироватки крові кролів та щурів в нормі та при ЕА (M±m)

Показники	Кролі		Щури	
	Інтактні	Атеросклероз	Інтактні	Атеросклероз
Загального холестеролу (мМ/л)	0,88±0,090	4,15±0,460 *	1,435±0,025	4,563±0,203*
Ліпопротеїди низької щільності (мМ/л)	1,40±0,030	7,42±0,550 *	0,310±0,030	3,860±0,205*
Ліпопротеїди високої щільності (мМ/л)	6,27 ± 0,907	2,84 ± 0,463*	0,680±0,025	0,503±0,026*
Тригліцериди (мМ/л)	0,97±0,060	0,94±0,150	0,980±0,065	0,420±0,010*
Індекс Атерогенності	0,87±0,140	1,55±0,220*	1,120±0,042	8,280±0,614*

Примітка. * - достовірна різниця порівняно з інтактною групою (p≤0,05).

Біохімічні дослідження показали, що експериментальний атеросклероз, викликаний тривалим згодовуванням тваринам холестеролу, призводить до зростання майже всіх вивчених показників ліпідного обміну. Так у кроликів спостерігається зростання загального холестеролу – в 5 разів, ліпопротеїдів низької щільності – майже в 6 разів, тригліцеридів – майже в 3-5 разів. Відповідно у щурів спостерігається та сама картина. Так збільшуються показники загального холестеролу майже в 3 рази, та ліпопротеїдів низької щільності – майже в 12,5 рази, індексу атерогенності – майже в 8 разів. Рівень ліпопротеїдів високої щільності в ході експерименту прогресивно знижувався. Так, Через місяць моделювання атеросклерозу, у щурів з даною патологією, рівень ліпопротеїдів високої щільності знижується на 26% і складає - 0,503±0,026 Ммоль/л, а кролів – на 45,3%, що в свою чергу складає 2,84 ± 0,463 Ммоль/л.

Висновки

1. Проведене морфометричне дослідження показало, що на тлі введення холестеролу в судинах міокарда і у кролів і у щурів виникають атеросклеротичні зміни коронарних судин і розлади мікроциркуляції, які і провокують розвиток ішемії тканин серця, що в свою чергу призводить до вогнищевих пошкоджень кардіоміоцитів дистрофічно-некробіотичного характеру і розвитку кардіосклерозу.
2. При холестеринівому навантаженні як у кролів так і щурів, виникають порушення ліпідного спектру сироватки крові у вигляді підвищення рівня загального холестеролу, ліпопротеїдів низької щільності та індексу атерогенності.
3. Враховуючи односпрямованість і інтенсивність змін структурних компонентів серця, а також характерні порушення ліпідного обміну сироватки крові можна стверджувати, що і кролів і щурів можливо раціонально використовувати для моделювання ЕА і подальшого дослідження дії антиатеросклеротичних засобів.

Перспективи подальших досліджень. Результати проведеного біохімічного дослідження крові та дослідження коронарних судин міокарда при ЕА є перспективним напрямком, оскільки розширюють та уточнюють можливості діагностувати та профілактувати ССЗ.

Список літератури

1. Banzaraksheev VG. Pathophysiological substantiation of the atherogenic dyslipidemia modeling results in rats. Acta biomedica scientifica. 2016; 1 (3): 33-36. [in Russian]
2. Bogatryyova RV. Annual report on the health care system activity results in Ukraine. 2012 year Kiev; 2012. 464 p. [in Ukrainian]
3. Chaplinsky RB. Dislipidemia as a major risk factor for atherosclerosis and coronary heart disease. Bulletin of the Kamyanets-Podilskyi Ivan Ogienko National University. Physical education, sports and human health. 2015; 8: 383-391.
4. Kovalenko VM., Kornatsky VM. Regional medical and social problems of circulatory system diseases. Dynamics and analysis. Kyiv; 2013. 239 p. [in Ukrainian]
5. Kornatskyi VM., Dorogoy AP, Manoylenko TS. Cardiovascular morbidity in Ukraine and recommendations for improving health in the present day conditions. Analytical and statistical manual. Kyiv; 2012. 117 p.
6. Kvitashvili O. Annual report on the health status of the population, the sanitary and epidemiological situation and the results of the health care system activity in Ukraine. 2014; Ministry of Health of Ukraine. Kyiv; 2015. 460 p. [in Ukrainian]
7. Shevchuk TI., Piskun RP., Vasenko TB. Changes in the morphometric characteristics of cardiac vessels in experimental dislipoproteinemia. World of medicine and biology. 2017; 3 (61): 154-157.
8. Shkand TV., Chizh NA., Naumova OV., Sandomirskyi BP. Morphological characteristics of rat heart in the conditions of experimental myocardial necrosis. Morphology. 2013; 7 (2): 84-89.
9. Shormanov SV, Kulikov SV .. Histological and ultrastructural changes of the liver with experimental stenosis of the pulmonary trunk at the decompensation stage. Morphology. 2010; 3: 46-50.
10. Sikora, VZ., Yarmolenko OS. Age features of morphofunctional myocardial transformations in the norm and under the conditions of damaging factors influence (literature review). Journal of Clinical and Experimental Medical Research. 2013; 1 (3): 263-274.
11. Padró T, Cubedo J, Camino S, Béjar MT, Ben-Aicha S, Mendieta G, et. al. Detrimental Effect of Hypercholesterolemia on High-Density Lipoprotein Particle Remodeling in Pigs. Journal of the American College of Cardiology. 2017 Jul 11;70(2):165-178.
12. The Concept of the National Program "Healthy Nation for 2012-2016" [Electronic resource] - Access mode: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/828-2011-%D1%80>.

Реферати

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРЫ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АТЕРОСКЛЕРОЗА У КРОЛЕЙ И КРЫС

Н. Н. Гринчак, Р. П. Пискун, Т. И. Шевчук, Т. Б. Васенко

В данной работе представлены результаты биохимических, микроскопических и микроморфометрических исследований сердца крыс и кроликов в норме и при холестеринном атеросклерозе. Состояние экспериментального атеросклероза моделировалось на белых лабораторных крысах-самцах массой 150-200 г. и кроликах-самцах породы «шиншилла» массой 3,0 - 4,7 кг. Кроликам холестерин вводили перорально, смешивая его с тертой морковью и подсолнечным маслом в дозе 0,5 г / кг массы тела в течение 3 месяцев. Крысам в течение 30 дней ежедневно вводили холестерин внутривенно с помощью зонда с оливой, предварительно растворяя его в подсолнечном масле, тоже в дозе 0,5 г / кг и на фоне угнетения функции щитовидной железы 4 (6) - Метил-2-тиоурацилу в дозе 12 мг / кг. Установлены признаки атеросклеротических изменений структур сердца обоих видов лабораторных животных при таком моделировании патологического состояния. Гистологическое исследование как у кроликов так и у крыс показывает, что во многих интрамуральных артериях отмечаются типичные атеросклеротические бляшки, которые резко сужают просвет сосудов, а иногда наблюдается диффузная липидная инфильтрация всех оболочек стенки сосуда и полная облитерация ее просвета. Указанные изменения сосудов является причиной ишемии и гипоксии миокарда.

Ключевые слова: экспериментальный атеросклероз, липиды крови, миокард, коронарные артерии.

Статья надійшла 20.12.17р.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE HEART MUSCLE STRUCTURE IN THE SIMULATION OF ATHEROSCLEROSIS IN RABBITS AND RATS

N. M. Hrynychak, R. P. Piskun, T. I. Shevchuk, T. B. Vasenko

This paper presents the results of biochemical, microscopic and micromorphometric studies of the hearts of rats and rabbits in normal state and in cholesterol atherosclerosis. The experimental atherosclerosis was simulated in white male rats weighing 150-200 g and male chinchilla rabbits weighing 3.0 - 4.7 kg. In rabbits, cholesterol was administered orally, added to grated carrots and sunflower oil, at a dose of 0.5 g/kg body weight for 3 months. In rats, cholesterol was administered by gavage with olive, pre-dissolved in sunflower oil, for 30 days daily, at a dose of 0.5 g/kg and, in the setting of thyroid depression with 4(6) - Methyl-2-thiouracil, at a dose of 12 mg/kg. In this simulation of the pathological condition, the signs of atherosclerotic changes of the heart structures in both types of laboratory animals have been observed. Histological examination of both rabbits and rats shows that many of the intramural arteries developed typical atherosclerotic plaques that result in drastic luminal occlusion, and sometimes there is diffuse lipid infiltration of all layers of the vessel walls and complete lumen obliteration. These changes in blood vessels cause ischemia and myocardial hypoxia.

Key words: experimental atherosclerosis, blood lipids, myocardium, coronary arteries.

Рецензент Білаш С.М.