

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ L-NAME ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ В ТЕЧЕНИЕ 28 ДНЕЙ

А.С. БЕЛОУС

*Курский государственный
медицинский университет*

e-mail: a.s.belous@mail.ru

Моделирование L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота (внутрибрюшинным введением L-NAME в дозе 12,5 мг/кг в течение 28 дней) у крыс приводило к развитию гипертрофии миокарда и мышечного слоя сосудистой стенки, ишемии почек с типичными для данного состояния изменениями.

Ключевые слова: эндотелий, оксид азота, L-Name.

Эндотелиальная дисфункция (ЭД) — это дисбаланс между сосудорасширяющими и сосудосуживающими медиаторами, который, как правило, характеризуется уменьшением выработки вазодилататоров [2, 6].

Основным патофизиологическим механизмом ишемической болезни сердца (ИБС) является нарушение равновесия между уровнем коронарного кровотока и потребностью миокарда в кислороде. Развитие ишемии резко меняет метаболизм кардиомиоцитов. Снижение их оксигенации вызывает угнетение аэробного синтеза АТФ. Падение запасов АТФ восполняется усилением захвата глюкозы и быстрым истощением запасов гликогена [3, 4, 5].

Согласно последним литературным данным, в развитии и прогрессировании ИБС ЭД может играть более важную роль, чем морфологические, обусловленные атеросклерозом, изменения сосудов [1, 7].

Целью настоящего исследования явилось изучение морфологических изменений сердечно-сосудистой системы в результате развития эндотелиальной дисфункции на 28-дневной модели L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота.

Методика исследования. В эксперименте были выделены следующие группы животных: 1) интактные самцы (вводили дистиллированную воду); 2) группа с моделированием дефицита оксида азота (внутрибрюшинное введение L-NAME в дозе 12,5 мг/кг в течение 28 дней).

На 29-й день эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) для морфологического исследования после выведения животных из эксперимента производили забор материала органов: сердца, почек, надпочечников, участков сонных артерий и брюшной аорты, участка мышцы голени. Материал фиксировали в 10% растворе формалина. После фиксации производили вырезку кусочков для гистологического исследования по следующим методикам. Сердца рассекали через середину во фронтальной плоскости через все отделы в виде пластин толщиной 2 мм, в которых содержались оба предсердия, правый и левый желудочки, межжелудочковая перегородка. Кусочки почек вырезали в поперечном направлении строго через центральную часть, включающую почечный сосочек. Материал фиксирован, вырезан и залит в парафин в одни сроки. Заливку в парафин осуществляли одновременно в автомате карусельного типа STP-120 (Microm Int. GmbH, Германия). Кусочки из одной серии эксперимента заливали в парафин в виде одного блока (по 4-6 кусочков) на станции EC-350 (Microm Int. GmbH, Германия), что позволяло достигать максимальной стандартизации условий предварительной обработки и последующего изготовления гистологических срезов на полуавтоматическом микротоме с системой транспортировки срезов EC-340. Окраску срезов гематоксилином и эозином производили также в автоматическом режиме в автостейнере HMS 740 (Microm Int. GmbH, Германия). Для последующего анализа морфологических изменений и морфометрии микропрепараты сканировали на системе для архивирования и анализа

изображений MiraxDesk (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия). Определяли диаметры кардиомиоцитов левого желудочка, кровеносных сосудов, в почках измеряли диаметры почечных клубочков. Просмотр, анализ и морфометрию осуществляли с помощью программы просмотра и анализа изображений Mirax Viewer 1.12.

Достоверность изменений абсолютных параметров определяли разностным методом вариационной статистики с нахождением средних значений сдвигов (M), средней арифметической ($\pm m$) и вероятности возможной ошибки (p) по таблицам Стьюдента. Различия оценивали как достоверные при $p < 0,05$. Статистические расчёты проводились с использованием программы Microsoft Excel 7.0.

Результаты исследования. Изменения, характерные для L-NAME-индуцированной артериальной гипертензии, выявлены при морфологическом исследовании почек, сердца и сосудов.

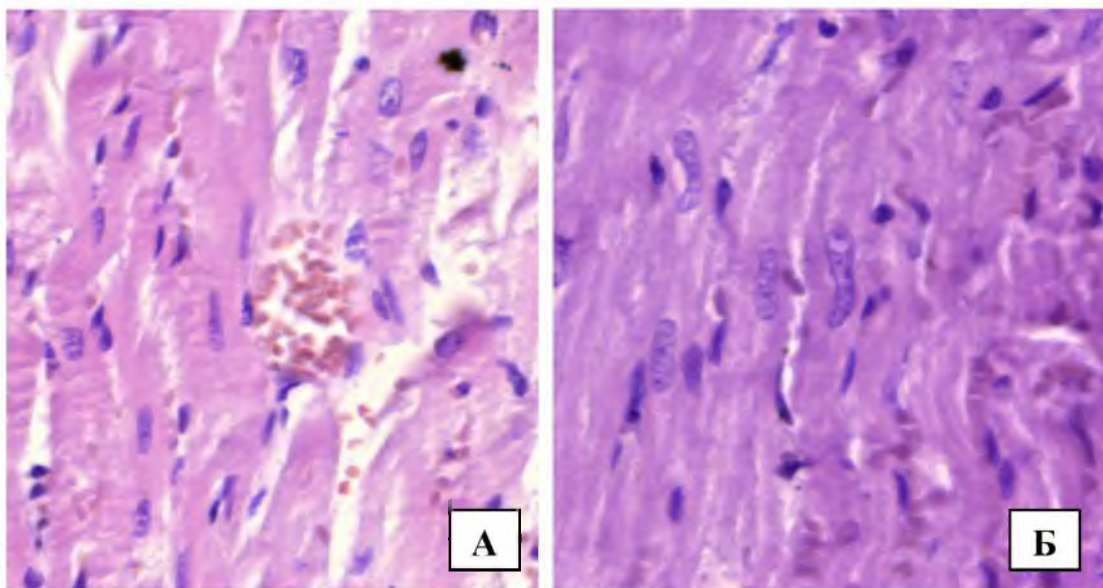


Рис. 1. Морфология миокарда у intactных и опытных животных.

А – гистологическая картина миокарда у intactных крыс на поперечном срезе;
Б – гипертрофия кардиомиоцитов и их ядер у крысы с артериальной гипертензией в модели с L-NAME на поперечном срезе. Окр. гематоксилином и эозином. Микрофото $\times 400$

На 28-е сутки эксперимента наблюдались выраженные изменения миокарда. Сердце макроскопически с плотными стенками, абсолютная и относительная масса его увеличены до 1047 ± 95 мг (в контроле 930 ± 50 мг) и $3,79$ мг/г соответственно. Наблюдается равномерная гипертрофия стенок желудочков. Отмечена гипертрофия кардиомиоцитов левого желудочка до $15,14 \pm 0,33$ мкм (в норме $9,91 \pm 0,17$ мкм), сосудистые изменения в виде спастического состояния артериол, утолщения их стенок (рис. 1). При окраске гематоксилином Рого выявлялись очаговые сегментарные или тотальные повреждения кардиомиоцитов контрактурного типа.

При микроскопии в ишемизированных почках выявлены типичные для данного состояния изменения. Наблюдались клиновидные участки некроза, атрофии паренхимы с коллапсом стромы, ее лимфоидной инфильтрацией.

Выраженные диффузные изменения почечных телец в виде сморщивания, гиалиноза и склероза, гиалиноз и склероз артерий. Эпителий канальцев уплощен, на значительных участках десквамирован. Практически все канальцы заполнены плотными гиалиновыми цилиндрами.

В контралатеральных почках наблюдались закономерные компенсаторные изменения в виде гипертрофии почечных телец (средний диаметр $85,0 \pm 0,7$; в норме $72,3 \pm 0,8$ мкм) с расширением полости капсулы, составившей $19,3\%$ площади (в норме $13,8\%$), что в сочетании с диффузным полнокровием свидетельствует о развитии гиперфильтрации. Со стороны канальцев наблюдалось умеренное расширение,

очагово-зернистая дистрофия, в просвете единичных канальцев имелись гиалиновые цилиндры (рис 2).

Комплекс изменений в сердце и почках позволяет оценить их как соответствующие периоду стойкого повышения артериального давления с развитием поражения сосудов.

Таким образом, результаты гистологических исследований обнаружили, что моделирование L-NAME-индуцированного дефицита NO на 28-е сутки приводит к яркой гипертрофии миокардиоцитов, утолщению мышечного слоя сосудистой стенки и спазму артериол, наиболее выраженному в почечных артериях, а также «вздыбливанию» эндотелиоцитов.

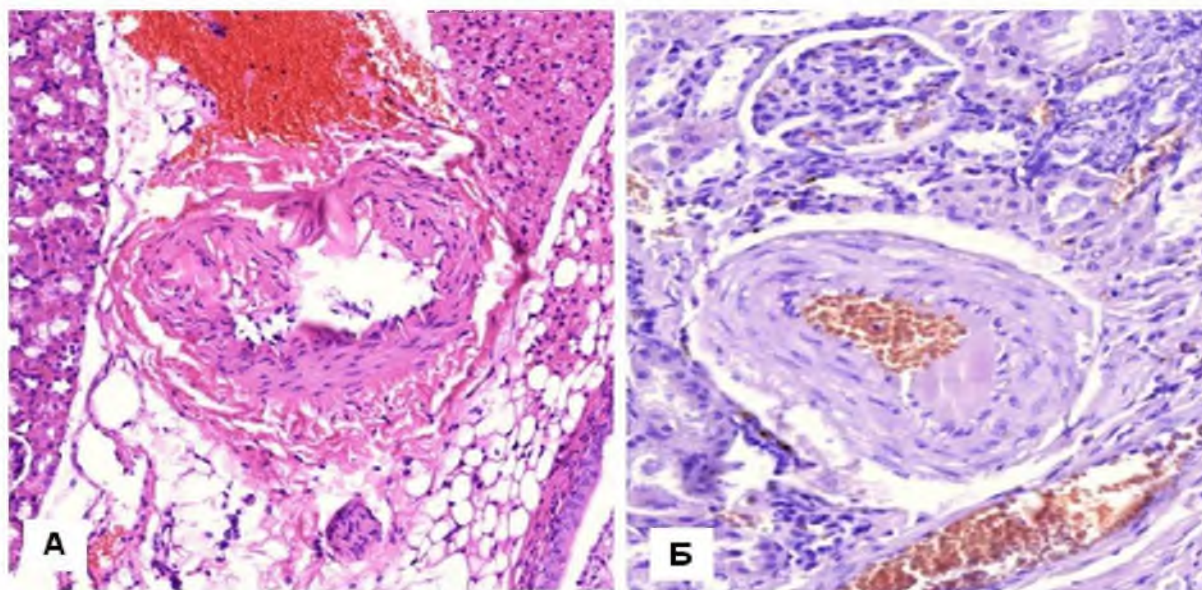


Рис. 2. Морфологическая картина крупных почечных артерий у интактных и опытных животных.

А – неизменная артерия почки у интактной крысы; Б – перестройка стенки почечной артерии с резким утолщением ее стенки и сужением просвета, гиперплазией эластических структур и гипертрофией гладкомышечных элементов у крысы с артериальной гипертензией в модели с L-NAME. Окр. гематоксилином и эозином. Микрофото х400

Комплекс изменений в сердце и почках позволяет оценить их как соответствующие периоду стойкого повышения артериального давления с развитием поражения сосудов.

Таким образом, результаты гистологических исследований обнаружили, что моделирование L-NAME-индуцированного дефицита NO на 28-е сутки приводит к яркой гипертрофии миокардиоцитов, утолщению мышечного слоя сосудистой стенки и спазму артериол, наиболее выраженному в почечных артериях, а также «вздыбливанию» эндотелиоцитов.

Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать использование данной модели для оценки степени коррекции эндотелиальной дисфункции и предотвращения развития морфологических изменений со стороны сердечно-сосудистой системы потенциальными эндотелиопротекторами.

Литература

1. Гомеостаз и инфекционный процесс: тез. докл. Шобщерос. конф. с междунар. участием (Сочи, 14-16 мая 2002 г.). – М.: Акад. естествознания, 2002. – 103 с.
2. Роль оксида азота и свободных радикалов в патогенезе артериальной гипертензии / Е.Б. Манухина, Н.П. Лямина, П.В. Долотовская и др. // Кардиология. – 2002. – Т. 42, № 11. – С. 73-84.



3. Age-related changes in the protective effect of chronic administration of L-arginine on post-ischemic recovery of endothelial function / K. Nakamura, S. Al-Ruzzeh, A.H. Chester et al. // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* – 2003. – Vol. 23, № 4. – P. 626-632.

4. Does severity of ischemic coronary disease correlate with erectile function? / A. Greenstein, J. Chen, H. Miller et al. // *Int. J. Impot. Res.* – 1997. – Vol. 9, № 3. – P. 123-126.

5. Drory, Y. Myocardial ischemia during sexual activity in patients with coronary artery disease / Y. Drory, I. Shapira, E.Z. Fisman // *Am. J. Cardiol.* – 1995. – Vol. 75. – P. 835-837.

6. Luscher, T.F. Vascular protection: current possibilities and future perspectives / T.F. Luscher // *Int. J. Clin. Pract.* – 2001. – Vol. 117. – P. 3-6.

7. Wyatt, A.W. Modulation of the L-arginine/nitric oxide signalling pathway in vascular endothelial cells / A.W. Wyatt, J.R. Steinert, G.E. Mann // *Biochem. Soc. Symp.* – 2004. – Vol. 71. – P. 143-156.

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE CARDIOVASCULAR SYSTEM FOR SIMULATION L-NAME-INDUCED ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN 28 DAYS

A.S. BELOUS

Kursk State Medical University

e-mail: a.s.belous@mail.ru

Modelling of L-NAME – induced deficiency of nitric oxide (intraperitoneal administration of L-NAME at a dose of 12.5 mg / kg for 28 days) in rats led to the development of myocardial hypertrophy and the muscle layer of the vascular wall, renal ischemia with typical for this state change.

Key words: endothelium, nitric oxide, L-Name.