

Стресс-реакция микроциркуляторной системы сердца и интракардиальных нервных структур молодых и старых крыс

С. А. Сисакян, А. Б. Семерджян

ЕрГМУ им. М. Гераци, кафедра медицинской биологии и генетики

375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: стресс, миокард, гемомикроциркуляция, адренергические и холинергические структуры, возраст

Стрессорное повреждение миокарда является достаточно актуальной проблемой, так как в основе патогенеза развития многих кардиоваскулярных заболеваний лежат стресс-индуцированные процессы, которые могут проявляться нарушениями микроциркуляторного русла миокарда и изменениями в содержании биогенных аминов в интракардиальных нервных структурах [3, 6].

Многочисленные клинические и экспериментальные данные свидетельствуют, что увеличение интенсивности эмоционального стресса приводит к развитию повреждений сердечной мышцы [4, 12, 18, 21, 25]. Такие же повреждения наблюдались и у животных при действии больших доз катехоламинов [9, 13]. Реакция организма на экстремальные воздействия во многом зависит от уровня развития и функционального состояния гемомикроциркуляции и нервных структур сердечно-сосудистой системы, подвергающихся изменениям в процессе старения [2].

Учитывая вышеизложенное, нами были изучены морфологические и функциональные изменения гемомикроциркуляторной системы сердца, а также адренергические и холинергические нервные структуры при разных сроках иммобилизации и возможности восстановления этих сдвигов у молодых и старых крыс после стрессорного воздействия.

Материал и методы

Опыты были поставлены на 52 белых беспородных крысах-самцах массой 80–100 г (молодые) и 280–300 г (старые). Животные иммобилизовались путем фиксации на спине в течение 2 и 6 ч. Каждая группа молодых и старых животных была подразделена на следующие подгруппы: контрольная группа ($n=10$ – молодые; $n=6$ – старые), иммобилизация в течение 2 ч ($n=10$; 6), иммобилизация в течение 6 ч. ($n=8$; 6), через

24 ч после двухчасовой иммобилизации ($n=6$; 6). Декапитация производилась в условиях нембуталового наркоза (40 мг/кг, в/б). Сердце фиксировалось в абсолютном ацетоне и 5% формалине. Капиллярное русло изучалось модифицированным методом С. А. Сисакяна [10] по определению активности кислой фосфатазы и АТФ-азным методом в модификации А. М. Чилингаряна [14].

Для выявления адренергических терминалей криостатные срезы толщиной 20–25 мкм обрабатывались методом Falck-Hillarp в модификации Швалева В.Н., Жучковой Н. И. [15] и Тотте J. С. [26] и изучались под люминесцентным микроскопом. Холинергические нервные структуры выявлялись методом Karnovsky-Rosenthal [23].

На гистологических препаратах среднего слоя левого желудочка с помощью окуляр-микрометра подсчитывались средний диаметр, общая длина капилляров (плотность капилляров) на единицу площади сердечной мышцы, диффузионное расстояние, обменная поверхность капилляров (ОПК), равная πdl и емкость капиллярного русла (ЕКР), определяемая по формуле $\pi^2 l^3$, где d – диаметр, а r – радиус капилляров.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью t -критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

При микроскопическом исследовании препаратов контрольной группы как молодых, так и старых животных была выявлена непрерывная капиллярная сеть, капилляры с ровными контурами расположены параллельно. Выявлялась также хорошо выраженная поперечная исчерченность мышечных волокон. В отличие от этого, у животных обеих возрастных групп, пере-

несших 2-часовой иммобилизационный стресс (ИС), капиллярная сеть местами была прерывистой, зачастую выявлялись капилляры с неровными контурами, иногда отсутствовала поперечная исчерченность мышечных волокон. Отмеченные изменения были более

выражены при 6-часовом воздействии.

Морфометрические измерения показали, что диаметр капилляров в контрольной группе молодых животных составил 6.87 ± 0.1 мкм, а расстояние диффузии 8.63 ± 0.59 мкм (табл. 1).

Таблица 1

**Морфометрические показатели гемомикроциркуляции миокарда
при иммобилизации молодых животных**

Морфометрические показатели	Контроль	ИС 2 ч	ИС 6 ч	Через 24 ч после 2 ч ИС
Диаметр капилляров (мкм)	6.87 ± 0.1	$5.93 \pm 0.27^*$	$5.07 \pm 0.26^{**}$	6.53 ± 0.17
Расстояние диффузии (мкм)	8.63 ± 0.59	$11.35 \pm 1.11^*$	$12.2 \pm 0.47^{**}$	9.49 ± 0.36
Общая длина капилляров на ед. площади сердечной ткани (мкм)	4043.09 ± 110.58	$3437.97 \pm 6.87^*$	$2760.01 \pm 366.93^*$	3816.49 ± 294.92
ОПК (мм ²)	87.21 ± 2.15	$64.09 \pm 3.22^{**}$	$44.63 \pm 2.95^{**}$	$77.97 \pm 4.5^{\#}$
ЕКР (мм ³)	0.15 ± 0.004	$0.1 \pm 0.01^{**}$	$0.057 \pm 0.04^{**}$	$0.13 \pm 0.01^{\#}$

Примечание. Здесь и в табл. 2 * $p < 0.01$; ** $p < 0.001$ – достоверность разницы с контролем; # $p < 0.05$ – достоверность разницы с группой животных, подвергшихся 2 ч ИС

Через 2 ч после иммобилизации отмечалось некоторое уменьшение диаметра капилляров, а межкапиллярное расстояние значительно увеличилось. Шестичасовая иммобилизация вызвала более выраженное сужение диаметра капилляров и увеличение расстояния диффузии. Изменения указанных показате-

телей закономерно отражались на показателях ОПК и ЕКР. Как видно из табл. 1, через 2 ч после иммобилизации по сравнению с контролем эти показатели уменьшаются соответственно на 26.51 и 33.33%, а через 6 ч – на 48.82 и 62%.

Таблица 2

**Морфометрические показатели гемомикроциркуляции миокарда
при иммобилизации старых животных**

Морфометрические показатели	Контроль	ИС 2 ч	ИС 6 ч	Через 24 ч после 2 ч ИС
Диаметр капилляров (мкм)	5.84 ± 0.09	$5.27 \pm 0.16^*$	$4.85 \pm 0.10^{**}$	5.58 ± 0.12
Расстояние диффузии (мкм)	8.4 ± 0.33	$11.91 \pm 0.36^{**}$	$12.53 \pm 0.31^{**}$	10.7 ± 0.57
Общая длина капилляров на ед. площади сердечной ткани (мкм)	2765.33 ± 97.04	$2307.87 \pm 86.74^*$	$2152.79 \pm 120.04^*$	2694.07 ± 167.3
ОПК (мм ²)	50.51 ± 2.01	$38.24 \pm 1.89^*$	$32.23 \pm 2.00^{**}$	$47.25 \pm 2.96^{\#}$
ЕКР (мм ³)	0.074 ± 0.003	$0.050 \pm 0.004^{**}$	$0.040 \pm 0.02^{**}$	$0.066 \pm 0.005^{\#}$

В контрольной группе старых животных диаметр капилляров составил 5.84 ± 0.09 мкм, а расстояние диффузии 8.4 ± 0.33 мкм (табл. 2). В группе старых животных, подвергшихся 2- часовому ИС, диаметр капилляров уменьшился на 9.76%, расстояние диффузии увеличилось на 41.79%, а через 6 ч – 16,95 и 32, 96% соответственно; ОПК и ЕКР после 2-часового воздействия уменьшились на 24.9 и 33.33%, а после шестичасового стресса – на 36.19 и 45.94%.

Через 24 ч после 2-часовой иммобилизации в обеих возрастных группах отмечалась тенденция к восстановлению вышеперечисленных показателей. Более того, наблюдалось достоверное ($p < 0.05$) увеличение ОПК и ЕКР на 21.65 и 27% у молодых и на 23.56 и 32% у старых животных по сравнению с этими же показателями в соответствующих возрастных группах после 2-часовой иммобилизации.

В отличие от молодых животных у старых крыс

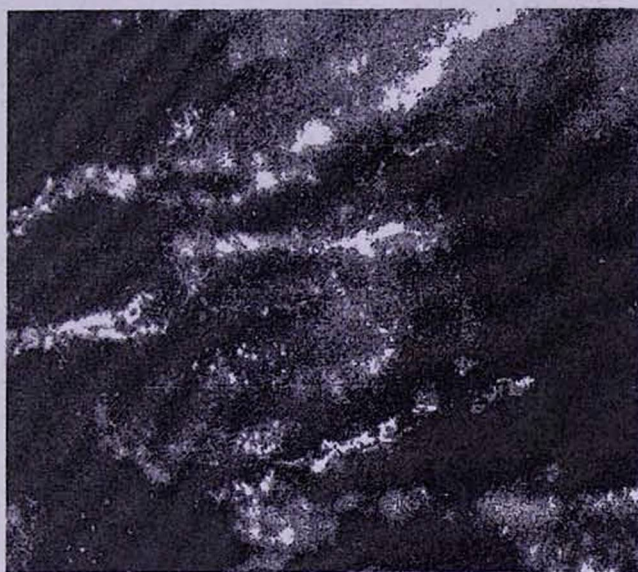


Рис. 1. Межпредсердная перегородка интактного миокарда старых животных. Видны интенсивно люминесцирующие адренергические волокна. Метод В.Н. Швалева. Об. 40, ок. 7.

Изредка регистрировались относительно крупные сосуды ($d=35-40$ мкм), стенки которых окутаны адренергическими волокнами. Наибольшая плотность адренергических волокон наблюдалась в области предсердий и межжелудочковой перегородки по сравнению с желудочками. В отличие от старых животных контрольной группы в миокарде молодых крыс наблюдалась более плотная адренергическая сеть.

У животных обеих возрастных групп после 2 и 6 ч стрессорного воздействия установлено уменьшение

отмечалось достоверное ($p < 0.001$) уменьшение общей длины капилляров на единицу площади сердечной ткани (плотность капилляров). Так, если у молодых контрольных животных она составляла 4043.09 ± 110.58 мкм, то у старых животных – 2765.33 ± 97.04 мкм. Установлено также достоверное ($p < 0.001$) уменьшение среднего диаметра капилляров у старых крыс, что подтверждается данными литературы [11, 17, 19, 24].

Определенный интерес представляют данные по изучению распределения адренергических и холинергических структур сердца у контрольных и подопытных животных разных возрастных групп. Так, на обработанных раствором глиоксиловой кислоты микроскопических препаратах сердца молодых крыс из контрольной группы выявляются интенсивно люминесцирующие волокна в области предсердий и межпредсердной перегородки (рис. 1).

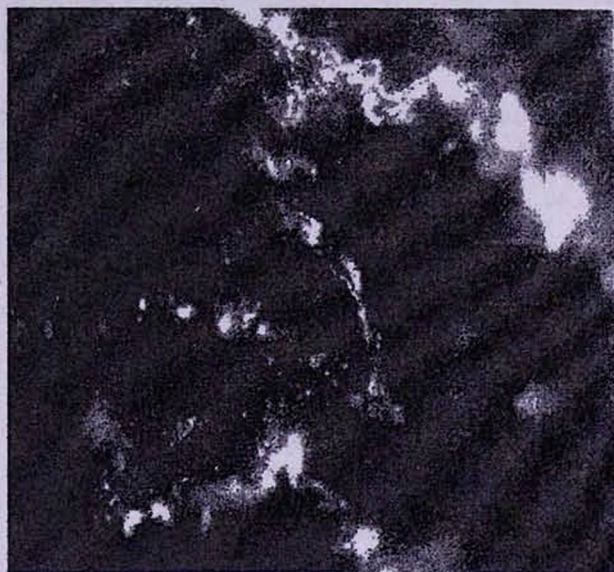


Рис. 2. Адренергические нервные волокна межпредсердной перегородки у старых крыс, подвергшихся стрессорному воздействию. Менее интенсивно люминесцирующие волокна с неровными контурами, а также интенсивно священные гранулы по ходу волокон. Метод В.Н. Швалева. Об.40, ок. 7.

интенсивности люминесценции и плотности адренергических волокон как в предсердиях (рис. 2), так и в желудочках, особенно у молодых животных после продолжительного стрессорного воздействия. Отмечалась фрагментация нервных волокон, по ходу отдельных волокон обнаруживались варикозные расширения.

На препаратах, обработанных методом Karnovsky-Roots, у всех контрольных животных в области предсердий выявлялись многочисленные холинергические

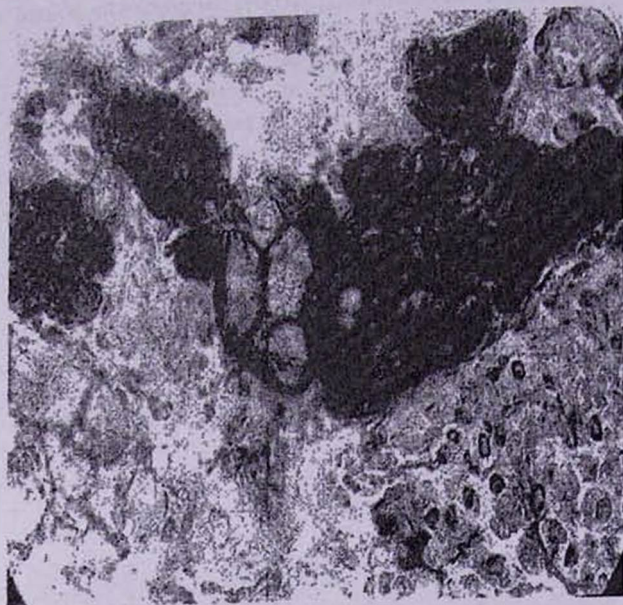


Рис. 3. Миокард интактных молодых крыс. Видна интенсивная окраска в перикарионах ацетилхолин-позитивных нервных клеток. Метод Карновского-Рутс. Об. 40, ок. 10.

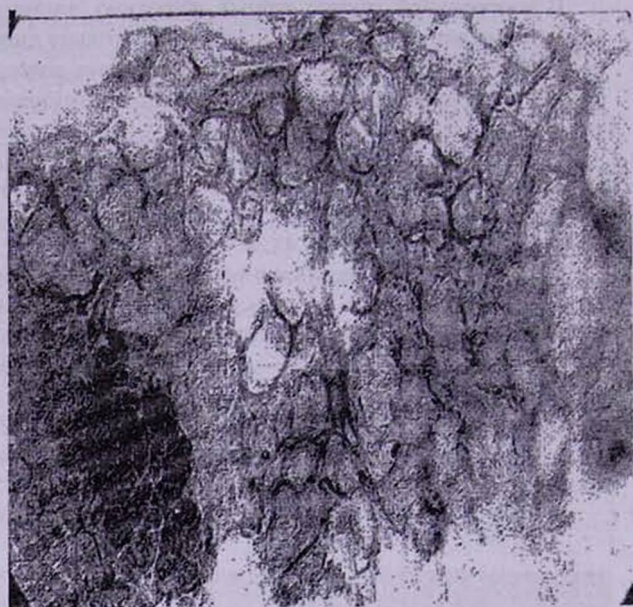


Рис. 4. Миокард молодых крыс после иммобилизации. Слабая окраска в перикарионах холинергических нервных клеток с едва заметными контурами. Метод Карновского-Рутс. Об. 40, ок. 10.

волокна, а также единичные нервные клетки. Достаточно высокая активность холинэстеразы, особенно в перикарионах этих клеток и нервных волокнах (рис. 3), заметнее выражена в контрольной группе молодых животных. Отражением высокой активности холинэстеразы является наличие крупнозернистого темного осадка сульфида меди в перикарионах нервных клеток.

У подопытных животных после 2 и 6 ч ИС активность холинэстеразы значительно уменьшалась, а в перикарионах нервных клеток (рис. 4) и в собственно нервных волокнах обнаруживался слабо окрашенный мелкозернистый осадок.

В постстрессорном периоде (24 ч) отмечалось заметное восстановление как адренергических, так и холинергических нервных структур сердца, измененных после двух часов иммобилизации.

Таким образом, у животных после 2 и 6 ч. ИС в капиллярном русле миокарда отмечались морфологические и функциональные сдвиги, которые проявляются изменением контуров и хода капилляров. Сдвиги основных морфофункциональных показателей микроциркуляторного русла миокарда прямо пропорциональны продолжительности стрессорного воздействия. Частичное восстановление этих показателей отмечалось уже через 24 ч после 2-часового ИС. Стрессорные изменения сопровождаются качественными и

количественными сдвигами интракардиальных нервных структур. Уменьшается активность холинэстеразы как в перикарионах, так и в холинергических волокнах предсердий и желудочков, которые носят обратимый характер. Вместе с тем снижение активности и плотности холинергических нервных структур коррелирует также с возрастом, что совпадает с литературными данными [20].

В области предсердий и межжелудочковой перегородки после 2 и 6 ч стрессорного воздействия значительно уменьшается плотность и интенсивность люминесценции адренергических волокон, по ходу которых иногда обнаруживаются варикозные расширения. Вместе с тем относительно крупные сосуды окутаны сетью весьма слабо люминесцирующих адренергических волокон, а в стенках желудочков обнаруживаются меньшей плотности адренергические волокна. Известно [7], что норадреналин (НА) в сердечной мышце преимущественно связан с адренергическими нейронами: снижение его уровня при иммобилизационном стрессе связано как с усиленным выбросом НА из нервных окончаний, так и уменьшением его обратного захвата. Кроме того, показано [22], что обратный захват НА в миокарде подавляется в условиях симпатической стимуляции при старении. При этом угнетение постсинаптической инактивации нейромедиатора усиливает нервный сигнал, а наличие при этом сер-

дечной патологии может запускать стресс-индуцированные сердечно-сосудистые реакции, особенно усугубляющиеся возрастным понижением вагального тонуса.

Снижение интенсивности свечения и плотности адренергических терминалей при иммобилизационном стрессе было показано также в других исследованиях [3, 5, 9]. Отмеченные изменения в предсердиях и желудочках миокарда проследуют также при старении [1, 8, 16]. В работе Р.А. Серова и соавт. [8] было показано, что плотность адренергических терминалей в течение 24 ч после стрессорного воздействия имела тенденцию к восстановлению. Таким образом, стрессорная реакция со стороны капиллярной системы миокарда у молодых животных выражена сильнее, чем у старых и зависит от сроков иммобилизации. У старых крыс диаметр и плотность капилляров, а также показатели ОПК и ЕКР несколько мень-

ше, чем у молодых животных.

У молодых животных плотность и интенсивность люминесценции адренергических структур и холинэстеразная активность и распределение парасимпатических нервных структур в предсердиях больше, чем у старых крыс. Изменения адренергических и холинэргических структур при стрессорном повреждении миокарда более выражены и значимы у молодых животных.

Постстрессорное частичное восстановление показателей микроциркуляторного русла сердца, его адренергических и холинэргических нервных структур отмечается в обеих возрастных группах, однако сильнее выражено у молодых крыс.

Поступила 23.06.02

Երկրասարդ և ծեր առնետների սրտի միկրոցիրկուլյատոր համակարգի և ինտրակարդիալ նյարդային կառուցվածքների սթրես-նեակցիան փարբեր ժամկետների իմոբիլիզացիայի պայմաններում

Ս. Ն. Սիսակյան, Ա. Բ. Սեմերջյան

Ուսումնասիրված են սրտամկանի մազանոթային համակարգի, ադրեներգիկ և խոլիներգիկ նյարդային կառուցվածքների փոփոխությունները երկու հասակային խմբերի առնետների մոտ տարբեր ժամկետների իմոբիլիզացիոն սթրեսի պայմաններում: Ցույց է տրված, որ սթրեսային ռեակցիայի նկատմամբ սրտամկանի մազանոթների տրա-

մաչափի, ընդհանուր տարողության, ինչպես նաև ադրեներգիկ և խոլիներգիկ վերջավորությունների փոփոխություններն ավելի արտահայտված են երիտասարդ կենդանիների մոտ և կախված են սթրեսային ազդակի տևողությունից: Երկժամյա սթրեսից 24 ժ անց նկատվում է նշված փոփոխությունների վերականգնման միտում:

Stress-reaction of heart microcirculatory system and intracardial nervous structures of young and aged rats in conditions of immobilization of different duration

S. H. Sisakian, A. B. Semerjyan

The study of myocardial capillary network, adrenergic and cholinergic nervous structures in young and aged rats exposed to immobilization of different duration showed more expressed stress-induced changes of myocardial capillary diameter, capillary bed capacity, as well as of adrenergic and cholinergic nervous terminals in young

animals, which correlated with the time of stress exposition. In addition, a partial restoration of those changes was observed 24 hrs after the stress caused by 2 hrs immobilization.

Литература

1. Амвросьев А.П., Кирилюк А.П., Лобанюк Л.М. и др. Наука и техника, 1984, Минск.
2. Аршавский И.А. В кн.: Нервные и эндокринные механизмы стресса. Кишинев, 1980, с. 56.
3. Бунятыян А.М., Марьян К.Л., Каргина-Терентьева Р.А. Физиологический журнал СССР им. И.М. Сеченова, 1985, 71, 5, с. 581.
4. Горизонтова М.П., Дешевой Ю.Б. Пат. физиология, 1983, 5, с. 43.
5. Марьян К.Л., Бунятыян А.М. Архив анат., гист. и эмбр., 1984, 86, 3, с. 34.
6. Пшенникова М.Г. Пат. физиол. и эксп. тер., 2000, 4, с. 21.
7. Рахманкулова Г.М. В кн.: Функции двигательного аппарата человека и животных. М., 1986, с. 109.
8. Серов Р.А., Соколова Н.Н. Архив анат., гист. и эмбр., 1987, 92, 2, с. 36.
9. Серов Р.А., Чекарева Г.А., Соколова Н.Н., Михайленко Т.Ф. Фармакология и токсикология, 1987, 50, 4, с. 38.
10. Сисакян С.А. Cor et vasa, 1977, 19, 4/5, с. 334.
11. Соколов В.В., Каплунова О.А. Морфология, 1997, 111, 2, с. 112.
12. Ульяновский Л.С. Физиол. ж. им. И.М. Сеченова, 1994, 80, 2, с. 23.
13. Целлариус Ю.Г., Семенова Л.А. Гистопатология очаговых метаболических повреждений миокарда. Новосибирск, 1972.
14. Чилингарян А.М. Экспериментальная и клиническая медицина АН Арм. ССР, 1977, 17, 5, с. 19.
15. Швалев В.Н., Жучкова Н.И. Архив анат., гист. и эмбр., 1979, 6, с. 114.
16. Швалев В.Н., Сосунов А.А. Архив патологии, 1983, 45, 5, с. 73.
17. Шеролян Э.Е., Исаакян Дж.Г., Хачатрян Дж. Р. Морфология, 2000, 117, 3, с. 139.
18. Якобсон Г.С., Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н. Пат. физиол. и эксп. тер., 1994, 4, с. 59.
19. Anversa P., Li P., Sonnenblick E.H., Olivetti G. Am. J. Physiol., 1994, 267 (3 Pt 2), p. 1062.
20. Chow L.T., Chow S.S., Anderson R.H., Gosling J.A. Anat. Rec., 2001, 264, 2, p. 169.
21. Eliot R.S., Todd G.L., Pieper G.M. et al. Primary Cardiology, 1981, 2, p. 44.
22. Esler M.D., Thompson J.M., Kaye D.M. et al. Circulation, 1995, 91, p. 351.
23. Karnovsky M.Z., Roots W. J. Histochem. Cytochem., 1964, 12: 219.
24. Rakusan K., Nagai J. Cardiovasc. Res., 1994, 28, 7, p. 969.
25. Schomig A. J. Cardiovasc. Pharmacol., 1988, 12 (suppl):S1.
26. Torre J.C., Surgeon J.W. Histochem., 1976, 49: 81.