

Изучение структурно-функциональных изменений микроциркуляторной системы сердца при длительном введении низких доз адреналина

А.В. Азнаурян, А.М. Варданян

Кафедра гистологии ЕрГМУ

375025 Ереван, Корюна, 2

Ключевые слова: функция кардиомиоцитов, микроциркулятор, миокард

Как известно, длительная симпатическая активация не приводит к острому токсическому, ишемическому действию на миокард, а скорее нарушает местные регуляторные адренергические механизмы, функцию кардиомиоцитов, вазомоторную реакцию сосудистого русла сердца [10–13]. В связи с этим несомненный интерес представляет изучение изменения цитоархитектоники миокарда, капиллярной системы при длительной симпатической активации, играющей определяющую роль в развитии сердечной недостаточности. Более полному пониманию патогенеза этого патологического процесса способствует его изучение на экспериментальной модели. Была использована модель экспериментальной кардиомиопатии (КМП), которая по своей значимости максимально близка к патогенезу развития этого синдрома в клинической практике.

Вышеизложенное диктует необходимость изучения динамики морфофункциональной перестройки миокарда при длительном катехоламининдуцированном повреждении миокарда.

В наших исследованиях мы применили катехоламининдуцированную модель развития этой патологии путем длительного введения низких, нетоксических концентраций адреналина.

Материал и методы

Моделирование экспериментальной кардиомиопатии проводилось путем ежедневного внутрибрюшинного введения адреналин-гидрохлорида в дозе 0.01 мг/кг веса. Животные были разделены на контрольную и экспериментальные группы: крысы контрольной группы не получали адреналин в период эксперимента. Животным I опытной группы введение адреналин-гидрохлорида проводилось в течение 12 суток, II группы – в течение 25 дней, III и IV групп – в течение 5 и 8 недель соответственно. Крыс декапитировали через 3–5 дней после последней инъекции.

Парафиновые срезы, приготовленные из миокарда, окрашивались гематоксилин-эозином, а также по методу Шабадша на гликоген. Окрашенные гематоксилин-эозином продольные срезы миокарда левого желудочка изучались методом поляризационной микроскопии [7,9].

Для изучения морфофункционального состояния капиллярной системы миокарда применялся модифицированный метод Гомори по определению кислой фосфатазы [7]. Для этой цели кусочки миокарда крыс размером 2–3 мм³ фиксировали в абсолютном ацетоне на холоде. После фиксации их промывали в проточной воде и готовили замороженные срезы толщиной 90–120 мкм, которые погружали в инкубационную смесь следующего состава:

- 1% уксуснокислый свинец – 90мл
- нормальный ацетатный буфер (рН-6,2) – 10мл
- 2% α -глицерофосфат натрия – 1мл.

Затем их промывали в дистиллированной воде в течение 10–15 мин. Дальнейшая обработка срезов проводилась в 0,5% растворе сернистого натрия в течение 10–15 минут. После этого срезы заключались в глицеринжелатин.

Количественные параметры, характеризующие функциональное состояние капиллярной сети, определялись на микроскопических препаратах животных контрольных и подопытных групп, обработанных безинъекционным методом выявления капилляров. Диаметры капилляров, а также расстояние между соседними капиллярами измерялись окулярным микрометром в среднем слое миокарда желудочков на уровне их средней трети. Определялось также количество капилляров, идущих параллельно друг другу в пределах 1 мм² мышечной ткани.

Учитывая, что капилляры имеют форму цилиндра, и зная их количество, которое равно их общей длине (L) в 1мм² мышечной ткани, и средний диаметр (D), по формуле PdL , Pt^2L , определяли соответственно обменную поверхность и емкость капиллярного русла.

Для электронной микроскопии фрагменты миокар-

да не более 1 мм фиксировали в 2% р-ре глютарового альдегида на 0,2М какодилатном буферер (рН 7,4) при температура 4°C в течение двух часов, после чего образцы промывали 0,15М какодилатным буфером (рН 7,4) с добавлением сахарозы (3 порции в течение 0,5ч.) и подвергали постфиксации в 1% р-ре четырехокиси осмия на 0,2М какодилатном буфере (рН 7,4). Дегидратацию материала проводили в ацетонах возрастающей концентрации. Заливку осуществляли в смеси эпона и аралдита.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показывают, что цитоархитектонику стенок кровеносных капилляров удается выявить лишь в короткий период инкубации (на 3–4-й день). При этом часто обнаруживаются контуры эндотелиальных клеток. В более поздние сроки инкубации стенки капилляров окрашиваются диффузно, что позволяет выявить пространственное расположение капилляров и межкапиллярные анастомозы. Как правило, контуры капилляров ровные, они расположены параллельно друг другу и мышечным волокнам.

В отличие от интактной группы в миокарде подопытных животных на 25-е сутки после введения малых доз катехоламинов сеть капилляров имела преры-

вистый характер, часто с неровными контурами. Отмечалось умеренная деструкция стенок некоторых сосудов левого желудочка. Данные изменения в основном обнаруживались в области левого желудочка. Отмечалось также некоторое увеличение среднего диаметра капилляров (37,3%) и их обменной поверхности (18%).

В дальнейшем на 5- и 8-й неделях эксперимента отмечалось неравномерное кровенаполнение капилляров, вследствие чего просветы микрососудов по ходу их расположения выглядели либо расширенными, либо суженными. Как в области левого, так и правого желудочков сердца местами обнаруживались участки, опустевшие от капилляров, многие из них весьма слабо окрашивались. Поперечная исчерченность мышечных волокон не обнаруживалась.

В поздние сроки эксперимента (8 недель) наблюдалось уменьшение диаметра капилляров. Уменьшение числа функционирующих капилляров приводит к снижению других важных показателей, характеризующих функциональное состояние микроциркуляторного русла сердца, а именно обменной поверхности и емкости капиллярной системы. Так, если в интактном миокарде обменная поверхность капилляров (на единицу мышечной ткани) равна $45,61 \pm 3,72$, то через 8 недель введения адреналина она снижается до $26,71 \pm 1,32$ см (Таблица).

Таблица

Морфологические показатели капиллярной системы левого желудочка крыс в динамике развития катехоламининдуцированной КМП

Количественные показатели	Контрольная (интактная) группа	Сроки			
		12-е сутки	25-е сутки	5 недель	8 недель
Диаметр капилляров (мкм)	$5,7 \pm 0,21$	$5,9 \pm 0,6$	$6,95 \pm 0,054$ $p < 0,001$	$5,1 \pm 0,2$ $p < 0,01$	$4,78 \pm 0,34$ $p < 0,01$
Общая длина капилляров (мм)	2110 ± 163	2106 ± 203	2200 ± 196 $p > 0,05$	1890 ± 130	$1787 \pm 104,1$ $p < 0,01$
Обменная поверхность капилляров (мм ²)	$47,6 \pm 3,78$	$46,37 \pm 4,53$	$51,29 \pm 3,3$	$31,74 \pm 3,6$	$26,71 \pm 1,32$ $p < 0,01$

Электронно-микроскопические исследования миокарда животных всех четырех групп показали, что у подопытных животных I и II групп (12 или 25 дней) стенка кровеносных капилляров нередко истончена, в ней обнаруживаются дефекты в виде расхождения соединений между эндотелиоцитами. Цитоплазма ядродержащей части эндотелиальных клеток представлена тонким бесструктурным электронно-плотным ободком, содержащим относительно крупные вакуоли. Ядро ряда эндотелиоцитов находится в

состоянии пикноза, проявляющегося грубой конденсацией хроматина, а иногда и его распада (кариорексис). Характерными для данного срока являются эвгинации истонченных участков эндотелиоцитов в перикапиллярные пространства. Все вышеперечисленные признаки, несомненно, свидетельствуют о повышении проницаемости гематотканевого барьера в миокарде, что приводит к межклеточному отеку и, как следствие, внутриклеточному отеку и дистрофии кардиомиоцитов. Обращает внимание, что именно

вблизи капилляров в кардиомиоцитах особенно отчетливо проявляются дистрофические изменения – очаговые контрактуры миофибрилл, деструкция и лизис миофиламентов. В околокапиллярном пространстве обнаруживаются в основном эритроциты и нейтрофильные лейкоциты.

Таким образом, субмикроскопическое исследование миокарда животных I и II групп выявило разнообразие проявления патологии клетки на уровне ультраструктур. При этом обнаруженные изменения затрагивали как кардиомиоциты, так и эндотелий стенки кровеносных капилляров.

В динамике развития длительной катехоламин-дуцированной КМП (12- и 25-е сутки) происходят адаптивно-приспособительные изменения капиллярного звена, направленные на увеличение кровотока с увеличением просвета капилляров, их обменной поверхности, которые однако вызывают стаз микроциркуляции, замедление кровотока, экссудацию форменных элементов, а также ультраструктурные изменения стенки сосудов микроциркуляторного русла.

В поздние сроки эксперимента (5-8 недель) в миокарде сохраняются явления межклеточного отека и различные деформации и дистрофические изменения тканевых элементов микроциркуляторного русла, которые, по-видимому, являются непосредственной причиной развития некрозов сердечной мышцы. При этом в артериолах наблюдаются локальные истончения безъядерных участков эндотелиоцитов, выбухание в просвет ядродержащих частей. Ядра эндотелиоци-

тов пикнотичны, цитоплазма гомогенизирована и содержит множество макро- и микропиноцитозных пузырьков.

При изучении сети капилляров обращает на себя внимание феномен псевдоангиоматоза, являющийся результатом их извилистого хода, а, возможно, и новообразования. Такая картина капиллярной сети встречается при различных патологиях (стресс, гипоксия и др.). Тонкая стенка капилляров на слабых увеличениях микроскопа представлена бесструктурным электронно-плотным слоем, образовавшимся в результате уплотнения цитоплазмы эндотелиоцитов. Встречаются разрывы капиллярной стенки. В отдельных случаях имеет место повреждение сарколеммы и выход органелл в интерстициальное пространство. Часто встречаются капилляры с узким просветом. Вокруг таких спазмированных капилляров, тесно прилегая к ним, лежат КМ с признаками деструкции.

Указанные изменения свидетельствуют о сохранении и даже усугублении повышенной сосудистой проницаемости, что, вероятно, способствует пролонгированию дистрофических изменений в мышечной ткани и строении сердца.

Таким образом, отмеченные выше изменения сосудов капиллярного русла миокарда являются, по-видимому, одной из причин прогрессирования дистрофических и склеротических изменений миокарда при развитии экспериментальной КМП.

Поступила 02.15.05

Սրտի միկրոցիրկուլյատոր համակարգի փոփոխությունները ադրենալինի փոքր դեղաչափերի երկարատև ներարկման դեպքում

Ա.Վ. Ազնաուրյան, Ա.Մ. Վարդանյան

Հետազոտվել է սրտի միկրոցիրկուլյատոր համակարգում ընթացող լուսային և էլեկտրոնային մանրադիտակային փոփոխությունները ադրենալինի փոքր դեղաչափերի երկարատև ներարկման դեպքում:

Յույց է տրված, որ առնետներին երկարատև մինչև 5-8 շաբաթ 0,01 մգ/կգ քաշին ադրենալինի ներարկման դեպքում դիտվում է մազանոթների նյութափոխանակության մակերեսի զգալի նվազում (մինչև 26,7%), ինչպես նաև միջբջջային այտուց, հյուսվածքային տարրերի դիստրոֆիկ փոփոխություններ, որոնք, ըստ երևույթին, պատճառ են

սրտամկանի նեկրոզի:

Հայտնաբերվում է մալ մազանոթների էնդոթելիոցիտների ցիտոպլազմայի խտացում, իսկ որոշ տեղերում վնասվում է սարկոլեման, և օրգանոիդները դուրս են գալիս միջբջջային տարածություն: Այդ փոփոխությունները, ըստ երևույթին, պատճառ են դառնում սրտամկանի դիստրոֆիկ և սկլերոտիկ փոփոխությունների, որոնք նպաստում են փոքր-ճարտարական կարդիոմիոպաթիայի զարգացմանը:

Cardiac microcirculation changes in long-term administration of adrenaline small doses

A.V. Aznauryan, A.M. Vardanyan

The present research was focused on the light and electron microscopy studies of cardiac microcirculation under influence of long-term administration of small doses of adrenaline.

It has been shown that the long-term (until 5-8 weeks) administration of 0.01 mg/kg adrenaline causes significant decrease in capillary metabolic surface (26.7%) and

intercellular swelling, dystrophic changes of tissue elements, which are supposed to be the result of myocardial necrosis. Capillary endotheliocytes show cytoplasmic concentration, local sarcolemmal damage and leakage of organelles to intercellular space. The noted changes presumably result in dystrophic and sclerotic alterations that support in development of experimental cardiomyopathy.

Литература

1. *Азнаурян А.З.* Морфофункциональная характеристика рыхлой соединительной ткани при синдроме длительного раздавливания в эксперименте. Дисс. канд. Ереван, 2005.
2. *Азнаурян А.В., Артищева М.Ю., Белоусова Т.А., Петросян Н.Р.* Ранняя стадия экспериментального краш-синдрома в свете ультраструктурной патологии. Ку-таиси, 1998.
3. *Артищева М.Ю., Артемян Н.С., Азнаурян А.В., Мкртчян Г.Л.* Структурные и ультраструктурные изменения капилляров лимфатических узлов при синдроме длительного раздавливания. Ж. Морфология, 2005, 121, 2-3.
4. *Артищева М.Ю., Артемян Н.С., Азнаурян А.С.* Ультраструктурная характеристика миокарда и микроциркуляторного русла при развивающемся краш-синдроме в эксперименте. Сб. научн. трудов, посвященный 75-летию ЕРГМУ им. Гераци. Ереван, 2005.
5. *Кисилева З.М.* Сердце и катехоламины с позиции адаптационно-трофической функции симпатoadrenal-овой системы. Кардиология, 1988, т. 28, 8, с. 10-13.
6. *Меерсон Ф.З., Пиенникова М.Г.* Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М., Медицина, 1988.
7. *Сисакян С.А.* Новый микроскопический метод выявления надпочечников и адренергическая иннервация желудочков сердца в постнатальном периоде антогенеза белой крысы. Архив АГЭ, 1987, 2, с.36-39.
8. *Татоян М.Р., Ваданян А.М., Саркисян Дж.А., Мелтонян Г.Л.* Структурно-функциональная характеристика скелетной мускулатуры и сосудов при краш-синдроме, развивающемся после декомпрессии в эксперименте. Сб. научн. трудов, посвященный 75-летию ЕРГМУ им. Гераци. Ереван, 2005.
9. *Целлариус Ю.Г., Семенова Л.А.* Гистопатология очаговых метаболических повреждений миокарда. Новосибирск, 1972.
10. *Atsumi H., Takeishi Y., Fujiwara S.* Cardiac sympathetic nervous disintegrity is related to exercise intolerance in patients with chronic heart failure, Nucl. Med. Commun., 1988, 19, p 451-456.
11. *Colucci W.S., Sawyer D.B., Singh K.* Adrenergic overload and apoptosis in heart failure: implications for therapy, J. Cardiol. Failure, 2000, Jun. 6 (2 Suppl 1), p.1-7.
12. *Eals D., Esler M.* Human Ageing and the sympathoadrenal system, J. of Physiology, 2000, 528.3. p. 407-417.
13. *Pick R., Jalil J.E., Jopicji J.S. et al.* The fibrillar nature and structure of isoproterenol induced myocardial injury in rats, Amer. J. Pathol., 1989, 134, p. 365-371.
14. *Rupp H., Ohalla K.S.* Mechanisms of cardiac cell damage due to catecholamines: significance of drugs regulating central sympathetic outflow, J. Cardiovasc. Pharmacol., 1994, 24, Suppl. 1, p.16-24.