

УДК 616.126+616.12+612.176

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ЕНДОТЕЛІЮ ЕНДОКАРДА ЛІВОГО ШЛУНОЧКА ЩУРІВ У ПІСЛЯСТРЕСОВОМУ ПЕРІОДІ

Лучко І.М.¹, Гуранич Т.В.¹, Попадинець О.Г.², Дубковецька І.І.¹, Воронич В.О.¹

¹Кафедра фізіології (проф. Н.М. Воронич-Семченко)

²Кафедра анатомії людини (проф. О.Г. Попадинець)

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», м. Івано-Франківськ, Україна, e-mail: fisiology@ifnmu.edu.ua

Резюме. Метою дослідження було вивчення структурних змін ендотеліоцитів ендокарда лівого шлуночка щурів під впливом гострого тригодинного емоційно-больового стресу, зокрема у післястресовий період. Для відтворення стресу використовувалася електроімпульсна модель. Стан ендотелію ендокарда вивчали за допомогою світлооптичної мікроскопії, аналізуючи мазки-відбитки з макропрепаратів шлуночків. Встановлено, що наслідком гострого емоційно-больового стресу є ураження ендокарда, яке супроводжується десквамацією окремих ендотеліоцитів. У післястресовому періоді ступінь ушкодження ендотелію ендокарда значно зростає. Особливо таке явище виражене через 24 год після стресового впливу. У цьому періоді ендотеліоцити часто злущуються пластинами (по 5-20 клітин), що рідко зустрічається безпосередньо після дії стресора. Крім посилення процесу десквамації ендотеліальних клітин ендокарда в умовах стрес-реакції, нами виявлені морфометричні показники зміни їхніх ядер. Зокрема, через 24 год після дії гострого емоційно-больового стресу в ендотелії ендокарда має місце статистично достовірне збільшення кількості ядер з ознаками гіперхромності, каріопікнозу та каріолізу. Паралельно з цим відбувається зміна форми ядер: зменшується кількість еліпсоподібних, збільшується число веретенподібних ядер та ядер неправильної форми. Отримані результати дозволяють заключити, що в умовах гострого тригодинного емоційно-больового стресу виникає ушкодження ендотеліоцитів ендокарда лівого шлуночка та їх десквамація, що максимально проявляється у післястресовому періоді. Окрім того, уже через добу після гострого стресового впливу в ендотелії цієї структури відбуваються зміни, які, з одного боку, свідчать про підсилення деструктивних процесів (гіперхромність ядер, ознаки каріопікнозу і каріолізу), з іншого – є озна-

кою адаптації цих клітин (зміна форми ядер) до впливу патогенного фактора.

Ключові слова: ендотелій, ендокард, стрес.

Вступ. Обґрунтування дослідження.

На цей час експериментальними та клінічними дослідженнями доведено, що дисфункція ендотелію є провідним механізмом в ініціації, прогресуванні та клінічних проявах більшості захворювань серцево-судинної системи [3, 5, 6, 10, 12].

Одними із найважливіших етіологічних чинників, які мають виражений пошкоджуючий вплив на ендотелій серця і судин, вважаються стресові ситуації різного генезу [1, 2, 4, 8]. Попри велику кількість фактичних даних, отриманих у різноманітних дослідженнях, деякі питання, що стосуються патогенного впливу стресу на морфологію і функцію ендотеліальної вистилки серця, залишаються не вивченими. Зокрема, це стосується ендотеліальних клітин ендокарда. Доведено, що пошкоджуюча дія будь-якого стрес-фактора на серце супроводжується активацією ліполізу, підвищенням рівня вільних жирних кислот, деградацією мембранних фосфоліпідів з нагромадженням їх лізоформ, а також – внутрішньоклітинним накопиченням дволанцюгових форм жирних кислот та ацетил-коензиму А [7, 11]. Враховуючи те, що основою всіх біологічних мембран є ліпіди, згадані вище порушення можуть, вочевидь, призвести до значних морфологічних змін у різних структурах ендотеліоцитів серця та судин. Це може суттєво змінити реакцію ендотелію на дію нейрогуморальних факторів при тривалому стресовому впливі [1, 7].

В експериментальних дослідженнях встановлено, що пошкодження кардіоміоцитів виникає не тільки під час дії стресора, але має місце і у післястресовому періоді [1, 7, 11]. Водночас, дані літератури про морфологічну перебудову ендотеліальної вистилки серця

через деякий час після припинення дії стресових факторів є обмеженими.

Мета дослідження. Метою нашого дослідження було вивчення структурних змін ендотеліоцитів ендокарда лівого шлуночка щурів під впливом тригодинного емоційно-больового стресу (ЕБС), зокрема у післястресовий період.

Матеріали і методи. Дослідження проводилися на 24 безпородних білих щурасамцях масою 180-240 г, які були розподілені на дві групи: 1-ша – контрольна група, 2-га – щурі, які піддавалися дії ЕБС тривалістю три години. Для моделювання ЕБС використовували електроімпульсну методику Desiderato O. [10].

Утримання тварин та маніпуляції на них проводили згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та Закону України № 3447-IV „Про захист тварин від жорстокого поводження” (2006). Евтаназію тварин здійснювали під кетаміновим наркозом («ФАРМАК», Україна) з розрахунку 100 мг/кг маси тіла.

Для дослідження стану ендотелію ендокарда готували мазки-відбитки з макропрепаратів лівого шлуночка, прикладаючи їх до предметних скелець. Попередньо стінку шлуночка зі сторони ендокарда висушували потоком повітря. Мікропрепарати фарбували за методом Романовського. При цьому у порівнянні із цитоплазмою чітко фарбуються ядра клітин. Ступінь пошкодження ендотелію ендокарда визначали під світловим мікроскопом (зб: $\times 630$) за кількістю злущених клітин на 1 мм^2 площі відбитку, що відповідає 40 полям зору. Також вивчали зміни ядер ендотеліоцитів: оцінювалися форма ядер, інтенсивність їх фарбування, наявність ознак каріопікнозу та каріолілізу. Структурні зміни ендотелію ендокарда аналізували безпосередньо після тригодинного стресу, а також у післястресовому періоді – через 6 та 24 год після закінчення дії стресора.

Одержані дані проаналізовані статистично за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 7.0.

Результати дослідження та їх обговорення. Установлено, що гострий тригодинний ЕБС супроводжується ураженням ендотелію ендокарда лівого шлуночка.

Як видно із рисунка 1, у тварин контрольної групи на площі відбитку 1 мм^2 нараховується 20-22 злущених ендотеліоцитів, а у полі зору при відповідному збільшенні мікроскопа вони можуть бути відсутніми або їх кількість не перевищує 1-2. Тригодинний ЕБС супроводжується значним збільшенням кількості ендотеліоцитів у мікропрепаратах – у 2,1 раза ($p < 0,001$) порівняно з контролем. У мазках-відбитках переважає поодинокі розміщення клітин у полі зору, значно рідше зустрічаються скупчення по 5-10 ендотеліоцитів (злущення пластами).

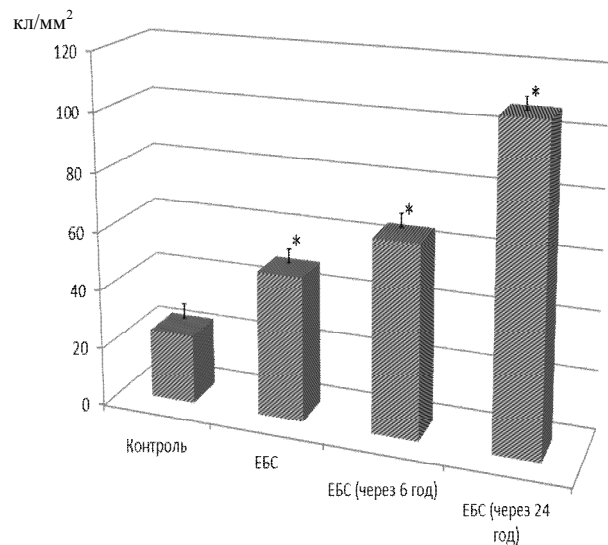


Рис. 1. Ступінь пошкодження ендотелію ендокарда лівого шлуночка (за кількістю злущених клітин) після дії тригодинного емоційно-больового стресу (ЕБС)

Примітка: * – достовірні зміни щодо аналогічних даних у контрольній групі тварин

Слід відмітити, що у післястресовому періоді ступінь ушкодження ендотеліоцитів значно зростає. Особливо таке явище виражене через 24 год після стресового впливу. У цей період після тригодинної дії стресора кількість злущених клітин у мазках-відбитках збільшується у 4,5 раза ($p < 0,001$) порівняно з контрольною групою тварин і у 2,2 раза ($p < 0,001$) щодо цього ж показника, визначеного безпосередньо після стресу. У післястресовому періоді ендотеліоцити часто злущуються пластами (по 5-20 клітин).

Крім посилення процесу десквамації ендотеліоцитів ендокарда в умовах дії стресора, при аналізі мазків-відбитків нами виявлені морфометричні показники зміни їхніх ядер. Оцінювалися форма ядер, інтенсивність їх фарбування, ознаки каріопікнозу та каріолілізу (табл. 1). Згідно з даними дослідження, через 24 год після гострого ЕБС в ендотелії ен-

докарда має місце статистично достовірне збільшення кількості ядер із ознаками гіперхромності, каріопікнозу та каріолізу.

Таблиця 1
Морфологічна характеристика ядер ендотеліоцитів ендокарда лівого шлуночка щурів через 24 год після гострого тригодинного емоційно-больового стресу (ЕБС) (M±m)

Морфологічні особливості ядер	1-ша група (інтактні тварини, n=6)	2-га група, (ЕБС, n=6)
Форма ядер: а) округла (%)	16,3±3,1	21,5±1,7*
б) еліпсоподібна (%)	63,0±2,9	32,8±1,9*
в) веретеноподібна (%)	3,0±1,0	9,0±1,5*
г) неправильна (%)	17,7±3,2	36,7±2,8*
Гіперхромні ядра (%)	7,0±1,4	17,2±2,1*
Каріопікноз (%)	2,0±0,8	4,2±0,8*
Каріолізу (%)	2,8±0,8	8,0±1,8*

Примітка: * – достовірно у порівнянні з контролем (p<0,05)

Паралельно з цим відбувається зміна форми ядер: зменшується на 48,0 % (p<0,001) кількість еліпсоподібних, у три рази (p<0,001) збільшується число веретеноподібних. Також, в ендокарді лівого шлуночка у 2,1 рази (p<0,001) зростає кількість ядер неправильної форми.

Установлено, що вже через добу після гострого стресового впливу в ендотелії ендокарда лівого шлуночка відбуваються зміни, які, з одного боку, свідчать про підсилення деструктивних процесів (гіперхромність ядер, ознаки каріопікнозу і каріолізу), з другого – є ознакою адаптації цих клітин (зміна форми ядер) до впливу патогенного фактора.

Отже, в умовах гострого тригодинного ЕБС виникає ушкодження ендотеліоцитів ендокарда лівого шлуночка, прояв якого є максимальним у післястресовому періоді (через 24 год). Це, ймовірно, пов'язано із різкою активацією симпатoadреналової системи та багаторазовим зростанням концентрації у крові катехоламінів, яке має місце при стресі [4, 11]. Останні мають виражену патоендотеліотропну дію [5, 9]. Той факт, що виражене пошкодження ендотелію лівого шлуночка виникає не одразу після дії стресора, а в постстресорний період (через 6 і 24 год), можна пояснити наступним чином. Очевидно, під час дії стресора в ендотеліоцитах виникають зворотні зміни, які поступово нарастають із виникненням по-

рушення міжэндотеліальних стиків та зв'язку з базальною мембраною, що врешті-решт веде до десквамації клітин.

За даними літератури на ушкодження ендотеліальних клітин впливає і низка інших механізмів: кальцієвих, електролітно-осмотичних, ацидотичних, які активуються нервово-гуморальним компонентом стресу [1, 5, 7, 11]. Насамкінець, стресові ситуації є причиною виникнення ендогенної гіперхолестеринемії, яка може поглиблювати пошкоджуючий ефект [1, 11].

Враховуючи отримані нами результати, а також дані інших експериментальних досліджень [1, 8, 11], можна говорити про системний характер пошкодження ендотелію серця та судин різного калібру при стресових ситуаціях різного генезу. Тому вважаємо доцільним подальше вивчення впливу стресорних чинників на структуру ендотелію судин різних органів та перебіг метаболічних процесів. Результати таких досліджень сприятимуть розкриттю нових ланок патогенезу ендотеліальної дисфункції при багатьох захворюваннях та пошуку нових підходів до їх лікування.

Висновки: 1. В умовах гострого тригодинного ЕБС виникає ушкодження ендотеліоцитів ендокарда лівого шлуночка та їх десквамація, що максимально проявляється у післястресовому періоді.

2. Уже через добу після гострого стресового впливу в ендотелії ендокарда лівого шлуночка відбуваються зміни, які, з одного боку, свідчать про підсилення деструктивних процесів (гіперхромність ядер, ознаки каріопікнозу і каріолізу), з другого – є ознакою адаптації цих клітин (зміна форми ядер) до впливу патогенного фактора.

Література:

1. Барабой В. А. Фізіологія, біохімія і психологія стресу : монографія / В.А. Барабой. О.Г. Резніков. – К.: Інтерсервіс, 2013. – 313 с.
2. Бобров В. О. Емоційний стрес та індукована ішемія міокарда / В.О. Бобров, Л.В. Клименко, А.П. Степаненко // Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. – К., 2008 – Вип. 17, кн. 2. – С.492-495.
3. Вацеба М.О. Клініко-діагностичне значення ендотеліальної дисфункції та артеріальної жорсткості у хворих на артеріальну гіпертензію у поєднанні із ожирінням та подагрою / М.О. Вацеба // Львівський медичний часопис. – 2014. – Т. 20, №1. – С.48-52.
4. Влас Е.А. Анатомія стресса. Ганс Селье и его последователи: монографія / Е.А. Влас. – К. : Медкнига, 2011. – 128 с.

5. Возна Х.І. Ендотелій: функціональні властивості та його дисфункція / Х. І. Возна, В. Д. Москалюк // Інфекційні хвороби. – 2015. – № 1. – С.66-71.
6. Запровальна О.Є. Вплив ендотеліальної дисфункції на основні чинники ішемічної хвороби серця у пацієнтів різних вікових груп / О. Є. Запровальна // Кровообіг та гемостаз. – 2015. – № 1. – С.86-87.
7. Ігрунова К.М. Механізми розвитку пошкоджень серця при стресі та їх корекція / К.М. Ігрунова; за ред. К.М. Ігрунової. – Вінниця: Меркьюрі-Поділля, 2014. – 239 с.
8. Ільєнко М. Диференційна роль стресів у виникненні хворобливих синдромів / М. Ільєнко // Освіта регіону. Політологія. Психологія. Комунікації. – Київ: Україна, 2011. – № 1. – С.272-276.
9. Левицький В.А. Біохімічні та морфологічні прояви ендотеліальної дисфункції ендокарда і судин міокарда при емоційно-больовому стресі у поєднанні з гіперхолестеринемією / В.А. Левицький, І.М. Лучко // Фізіол. журнал. – 2008 – Т. 54, № 5. – С. 75–80.
10. Садляк О.В. Ендотелій як регулятор імунних, запальних та вільнорадикальних процесів, опосередкованих системою L-аргінін-оксид азоту / О.В. Садляк // Медична хімія. – 2013. – Т.15, № 4. – С.96-99.
11. Трошин В.Д. Стресс и стрессогенные расстройства: диагностика, лечение, профилактика: монография / В.Д. Трошин. – М. : МИА, 2007. – 779 с.
12. Abdelhamed A. I. No effect of an L-arginine-enriched medical food (HeartBars) on endothelial function and platelet aggregation in subjects with hypercholesterolemia / A.I. Abdelhamed, S.E. Reis, D.C. Sane // Anj. American Heart Journal. – 2008. – Vol. 145, №3. – P.492.

УДК 616.126+616.12+612.176

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ ЭНДОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА КРЫС В ПОСЛЕСТРЕССОВОМ ПЕРИОДЕ

Лучко И.Н.¹, Гураныч Т.В.¹,
Попадинец О.Г.², Дубковецкая И.И.¹,
Воронич В.А.¹

¹Кафедра физиологии (проф. Н.Н. Воронич-Семченко)

²Кафедра анатомии человека (проф. О.Г. Попадинец)
ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет», г. Ивано-Франковск, Украина
e-mail: fisiology@ifnmu.edu.ua

Резюме. Целью исследования было изучение структурных изменений эндотелиоцитов эндокарда левого желудочка крыс под влиянием острого трёхчасового эмоционально-болевого стресса, в частности в послестрессовый период. Для воспроизведения стресса использовалась электроимпульсная модель. Состояние эндотелия эндокарда изучали с помощью светооптической микроскопии, анализируя мазки-отпечатки с макропрепаратов желудочков. Установлено, что следствием острого эмоционально-болевого стресса является повреждение эндокарда, которое сопровождается десквамацией отдельных эндотелиоцитов. В послестрессовом периоде степень повреждения эндотелия эндокарда значительно возрастает. Особенно такое явление выражено через 24 ч после стрессового воздействия. В этом периоде эндотелиоциты часто отторгаются пластами (по 5-20 клеток), что редко бывает непосредственно после воздействия стрессора. Кроме усиления процесса десквамации эндотелиальных клеток эндокарда в условиях стресс-реакции, нами выявлены морфометрические показатели изменения их ядер. В частности, через 24 ч после воздействия острого эмоционально-болевого стресса в эндотелии эндокарда имеет место статистически достоверное увеличение количества ядер с признаками гиперхромности, кариопикноза и кариолизиса. Параллельно с этим происходит изменение формы ядер: уменьшается количество эллипсообразных, увеличивается число веретенообразных и ядер неправильной формы. Полученные результаты позволяют заключить, что в условиях острого трёхчасового эмоционально-болевого стресса возникает повреждение эндотелиоцитов эндокарда левого желудочка и их десквамация, что максимально проявляется в послестрессовом периоде. Кроме того, уже через сутки после острого стрессового воздействия в эндотелии этой структуры происходят изменения, которые, с одной стороны, свидетельствуют об усилении деструктивных процессов (гиперхромность ядер, признаки кариопикноза и кариолизиса), с другой – являются признаком адаптации этих клеток (изменение формы ядер) к воздействию патогенного фактора.

Ключевые слова: эндотелий, эндокард, стресс.

UDC 616.126+616.12+612.176

STRUCTURAL CHANGES OF ENDOTHELIUM OF LEFT VENTRICLE ENDOCARDIUM IN RATS IN POST-STRESS PERIOD

I.M. Luchko¹, T.V. Guranych¹,
O.G. Popadynets², I.I. Dubkovetska¹,
V.O. Voronych¹

SHEI «Ivano-Frankivsk National Medical University»

¹*Department of Physiology (prof. N.M. Voronych-Semchenko)*

²*Department of Human Anatomy head of department (prof. Popadynets O.G.)*
e-mail: fisiology@ifnmu.edu.ua

Abstract. The purpose of the research was to study the structural changes of endothelial cells in the left ventricular endocardium of rats under the influence of acute three-hour emotional-pain stress, in particular in the post-stress period. An electric pulse model was used for stress reproduction. The endothelium of the endocardium was studied with the help of light optic microscopy, analyzing smears-imprints by number of mutilated cells per 1 mm² of the area of the imprint. Smears-imprints were prepared from the macro-preparations of the left ventricle, applying them to the objective glasses. Also, changes of the endothelial cells nuclei were studied. Structural changes of the endocardium endothelium were analyzed immediately after a three-hour stress, also in the post-stress period - 6 and 24 hours after the stressor's action. It was established that the result of the acute three-hour emotional-pain stress is the damage of endocardium, which is accompanied by desquamation of separate endothelial cells. The number of desquamated cells in micro-preparations has increased in 2.1 times in comparison with the control. Single placement of cells in the field of vision is predominant in smears-imprints, much less the accumulations of 5-10 endothelial cells are seen. The degree of the damage of the endocardium endothelium increases significantly in the post-stress period. Especially this phenomenon is obvious after 24 hours after stress influence. Under these conditions the num-

ber of desquamated cells in smears-imprints increases in 4.5 times compared with the control group of animals and in 2.2 times in comparison with the same index, that was determined immediately after the stress influence. In this period, endothelial cells are often desquamated into layers (5-20 cells). In addition to enhancing of the process of endothelial cells desquamation of endocardium under conditions of stress reaction we found morphometric indices of changes in their nuclei. In particular, 24 hours after the acute emotional-pain stress in the endothelium of the endocardium, there is a statistically significant increase in the number of nuclei with signs of hyperchromicity, kariopcnosis and karyolysis. Also, there is a change in the shape of the nuclei. So, under conditions of acute three-hour emotional-pain stress there is damage of endothelial cells of the left ventricular endocardium and their desquamation, which manifests itself as much as possible in the post-stress period. This probably is connected with the sharp activation of the sympathoadrenal system and the multiple increase of catecholamine concentration in the blood that has pathoendotheliotropic effect. The fact that the expressed endothelium damage does not occur immediately after the action of the stressor, but in the post-stress period (after 6 and 24 h) can be explained in the following way. During the action of the stressor reversible changes in the endothelial cells appear that gradually increase with the occurrence of violations of the joints between endothelial cells and connection with the basal membrane, which eventually leads to the desquamation of the cells. As some scientists suggest, endothelial cells are susceptible to a number of other mechanisms: calcium, electrolyte-osmotic, acidophilic, which are activated by the nervous-humoral component of stress. In addition, within a day after acute stressful effect in the endothelium of the left ventricular endocardium, there are changes that indicate an increase of destructive processes and are a sign of adaptation of these cells to the influence of pathogenic factor. The results of further studies of the influence of stressors on the structure of the endothelium of the vessels in different organs will facilitate the disclosure of new links of pathogenesis of endothelial dysfunction in case of many diseases and the search for new approaches to their treatment.

Key words: endothelium, endocardium, stress.

Стаття надійшла до редакції 24.11.2017 р.