

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ АОРТЫ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА И В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

Аверкин Н.С.¹, Федорова М.Г.¹, Степанов Д.А.¹, Латынова И.В.¹, Вишнякова Ж.С.¹, Самарцев А.Д.², Титаренко А.В.²

¹ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», Медицинский институт, Пенза, e-mail: averkin.n@list.ru;

²ГБУЗ ПО «Областное бюро судебно-медицинской экспертизы», Пенза, e-mail: sudmed_penza@mail.ru

В настоящее время отмечается рост числа лиц молодого и среднего возраста, имеющих заболевания сердечно-сосудистой системы. Это обусловлено целым рядом факторов, одним из которых является стресс. В статье представлены результаты экспериментального исследования влияния стресса на развитие инволютивных изменений в стенке артерий. В качестве объекта изучения была выбрана аорта, так как она наиболее полно отображает инволютивные изменения, которые происходят в стенке артерий. Хронический стресс моделировался путем каждодневного воздействия стрессогенных раздражителей. Исследование проводилось на 30 крысах породы Вистар, разделенных на 3 группы: контрольная, старшая, стрессированная. Для проведения измерения морфометрических параметров использовали программу AxioVision, а для статистической обработки полученных данных воспользовались пакетом программ Microsoft Office, программой IBM SPSS Statistics v.25. Выполнили сравнительный анализ отдельных морфометрических параметров аорты крыс, связанных с возрастом, и в условиях воздействия стрессогенных факторов. Выявили достоверные различия некоторых микрометрических критериев в стенке аорты у крыс разного возраста и в условиях хронического стресса. Данные позволяют сделать вывод о том, что хронический стресс ускоряет инволютивные процессы, протекающие в артериях.

Ключевые слова: аорта, стресс, морфометрические параметры, старение

MORPHOMETRIC PARAMETERS OF AORTA IN RATS OF DIFFERENT AGES AND UNDER CONDITIONS OF CHRONIC STRESS

Averkin N.S.¹, Fedorova M.G.¹, Stepanov D.A.¹, Latynova I.V.¹, Vishnyakova Z.S.¹, Samartsev A.D.², Titarenko A.V.²

¹Penza State University, Medical Institute, Penza, e-mail: averkin.n@list.ru;

²Regional Bureau of forensic medical examination, Penza, e-mail: sudmed_penza@mail.ru

At present, there is an increase in the number of young and middle-aged people with diseases of the cardiovascular system. This is due to a number of factors, one of which is stress. The article presents the results of an experimental study of the effect of stress on the development of involutive changes in the arterial wall. The aorta was chosen as the object of study, since it most fully reflects the involutive changes that occur in the wall of the arteries. Chronic stress was modeled by the daily exposure to stressful stimuli. The study was conducted on 30 Wistar rats, divided into 3 groups: control, older, and stressed. To carry out the measurement of morphometric parameters, the AxioVision program was used, and for the statistical processing of the obtained data, they used the Microsoft Office software package, the IBM SPSS Statistics v.25 program. A comparative analysis of aortic morphometry was performed to establish the similarity of changes in morphometric parameters that occur with age and under the influence of stress factors. Significant differences were revealed between the individual morphometric parameters of the aorta in rats of different ages and under conditions of chronic stress, suggesting that chronic stress accelerates the involutive processes in the arteries.

Keywords: aorta, stress, morphometric parameters, aging

Структурно-геометрическая перестройка сосудов происходит на протяжении всей жизни и характеризуется неравномерным течением, обусловленным процессами развития, роста и старения. По данным литературы, с возрастом различные параметры артериальной стенки подвергаются значительным изменениям, большая часть которых связана с увеличением риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [1, 2].

В настоящее время отмечается рост числа лиц молодого и среднего возраста, имеющих заболевания ССЗ. Проблема раннего ремоделирования кардиоваскулярной системы изучается в основном врачами клинических специальностей с применением методов ультразвуковой диагностики. К сожалению, научных работ, посвященных теме инволютивных изменений морфометрических показателей стенки артерий под влиянием стресса, в литературе, имеющейся в открытом доступе, недостаточно. Ввиду этого данный вопрос требует дальнейшего изучения и детализации, так как от состояния артериальной системы зависят трофика тканей и активность происходящих в них обменных процессов [3].

В настоящее время совершенно точно установлена связь между старением населения и ростом сердечно-сосудистых катастроф. Видимо, инволютивные изменения в сосудах и сердце оказывают влияние на патогенетические механизмы, способствующие развитию ССЗ. Установлены определенные изменения, которые могут считаться началом развития ранней патологии сердца и сосудов, в том числе: наличие атеросклеротических бляшек, утолщение оболочек сосудов, эндотелиальная дисфункция, синдром жесткости артериальной стенки. При этом следует помнить, что возраст является немодифицируемым фактором риска ССЗ. В возрасте от 20 до 90 лет толщина внутренней и средней оболочек артериальной стенки увеличивается в 2–3 раза, что создает основу для атерогенеза в аорте и ее ветвях. Несмотря на то что клеточные и биохимические процессы внутри диффузно утолщенной интимы напоминают атеросклеротические, они должны рассматриваться только как возрастные изменения [4, 5].

Для того чтобы расширить представления о процессах возрастной перестройки кардиоваскулярной системы, подобные исследования необходимо проводить также на клеточном и тканевом уровнях, в том числе с применением современных морфологических методов диагностики. При этом важно определить взаимосвязь начавшихся отдельных изменений в сердце и стенках артерий здоровых людей с известными факторами риска ССЗ [6]. Несмотря на то что последние хорошо известны, их роль в ремоделировании сосудистой стенки и миокарда изучена недостаточно. Важно отметить, что одним из ведущих факторов риска развития сердечно-сосудистой патологии на сегодняшний день является стресс [7].

В статье представлено экспериментальное исследование, в котором изучались изменения в стенке аорты крыс, ассоциированные с возрастом и с применением хронического стресса.

Цель исследования: изучить особенности морфометрических параметров стенки аорты у крыс разного возраста и в условиях хронического стресса.

Материалы и методы исследования

Исследование проводили на 30 крысах породы Вистар, которые были разделены на контрольную группу (младшая, возраст 6 месяцев), старшую (возраст 24 месяца) и группу стрессированных крыс (табл. 1).

Таблица 1

Экспериментальные группы животных

№ группы	Группа эксперимента	Количество животных, n
1	Контрольная группа (возраст 6 месяцев)	10
2	Старшая группа (возраст 24 месяцев)	10
3	Стрессированные крысы (возраст 6 месяцев)	10

Размещение, содержание животных, моделирование хронического стресса, а также выведение из эксперимента осуществлялись строго в соответствии с правилами лабораторной диагностики (GLP), этическими нормами, изложенными в соответствующих международных рекомендациях, приказах МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. и МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом при ФГБОУ ВО «ПГУ», протоколом № 3 от 30.11.2018 г.

Хронический стресс моделировался путем каждодневного воздействия стрессогенных раздражителей. В течение 6 недель опытные животные подвергались ежедневному воздействию различных стрессорных факторов, чередующихся в случайном порядке. Стрессогенные раздражители: смена горизонтального положения клетки на угловое (30°), лишение пищи на 41 час, питьевая депривация (лишение воды на 7 ч с последующим помещением в клетку пустых поилок на 17 ч), влажная клетка – в клетку выливали 500 мл воды на 17 ч, пустая клетка – животных оставляли без древесной стружки на 17 ч, воздействие звуками хищника на 30 мин, помещение в клетку ватных дисков с дегтем, тесная клетка (клетку делили перегородкой на 24 ч), смена свето-темного цикла в течение 24 ч. Каждый стресс был применен 6–7 раз в течение всего периода времени, так, чтобы каждые сутки на животных воздействовали один или комбинация двух факторов. Во избежание привыкания один и тот же стрессовый фактор не применялся последовательно в течение 2 дней [8]. Эвтаназию проводили под эфирным наркозом через 24 часа после воздействия последнего раздражителя.

В качестве объекта изучения была выбрана аорта, так как она наиболее полно отображает инволютивные изменения, которые происходят в стенке артерий. Срединным разрезом вскрывали брюшную и грудную полости. Затем препарировали и полностью извлекали аорту.

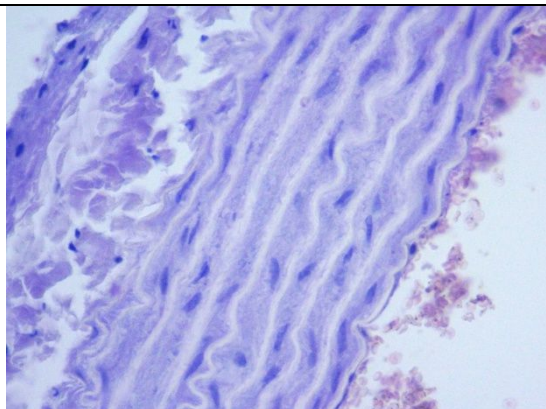
Приготовление гистологического препарата осуществляли по общепринятым методикам. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Вейгерту–Ван

Гизону. Морфометрические показатели определяли по фотографиям увеличения 5х, 40х, 100х. Получено по 5 фотографий с каждого гистологического препарата. Для измерения морфометрических параметров использовали программу AxioVision LE Rel. 4.3. Оцениваемые морфометрические параметры аорты: наружный диаметр (мм), внутренний диаметр (мм), площадь поперечного сечения артерии (мм²), площадь просвета аорты (мм²), площадь стенки артерии (мм²), толщина интимы, меди, адвентиции (мкм), общая толщина стенки аорты (мкм). Для оценки функционального состояния аорты вычисляли индекс Вогенворта (отношение площади стенки к площади просвета).

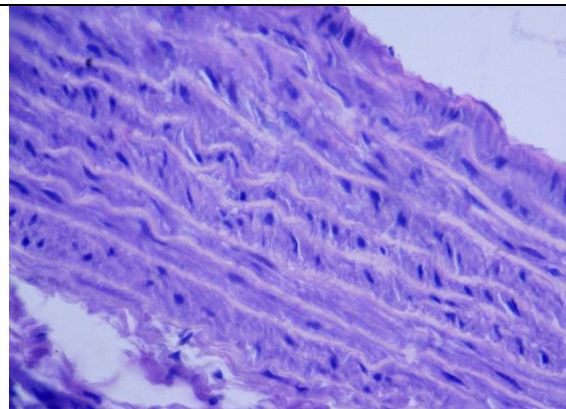
Для статистической обработки полученных данных пользовались пакетом программ Microsoft Office, программой IBM SPSS Statistics v.25. В соответствии с критерием равенства дисперсий Ливиня определялась правомерность использования t-критерия Стьюдента для полученных значений в сравниваемых группах. При неправомерности последнего для определения значимости различий применяли U-критерий Манна–Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

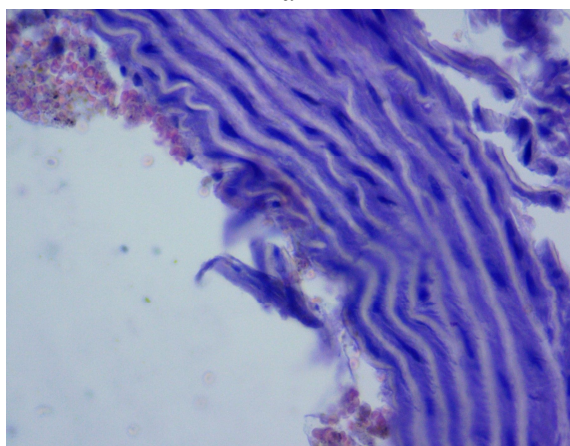
Данные, полученные при измерении морфометрических параметров аорты по репрезентативным фотографиям аорты (рис.), представлены в таблицах 2 и 3.



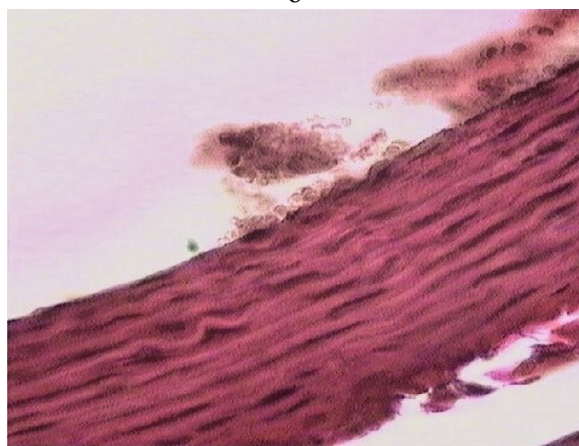
а



б



в



г

Брюшная часть аорты: а – младшая группа. Нормальная структура аорты. Окраска Н&Е. Ув. х40, б – старшая группа. Утолщенная интима, миоциты в меди дистрофичны, имеют

разную форму и величину. Окраска Н&Е. Ув. х40; в – стрессированная группа. Случивание, набухание эндотелиоцитов. Окраска Н&Е. Ув. х40; г – стрессированная группа. Эластические волокна в меди имеют слабую извилистость и разную ширину, между ними видны темные ядра гладких миоцитов. Окраска по Вейгерту–Ван Гизону. Ув. х40

Анализ полученных данных показал статистически значимое увеличение толщины стенки аорты у животных старшей возрастной группы (в среднем $110,13 \pm 4,45$ мкм) и у стрессированных животных (в среднем $102,28 \pm 3,19$ мкм) по сравнению с контрольной группой (в среднем $88,33 \pm 4,21$ мкм) на 19,79% и на 13,63% соответственно.

Таблица 2

Толщина оболочек стенки аорты (M±m), мкм

Параметр	Контрольная группа	Старшая группа	Стрессированная группа
Интима	$6,87 \pm 0,27$	$8,92 \pm 0,33^{**}$	$8,84 \pm 0,36^{**}$
Медиа	$66,57 \pm 4,08$	$85,2 \pm 4,16^*$	$77,69 \pm 2,4^*$
Адвентиция	$13,88 \pm 1,61$	$16,01 \pm 1,48$	$15,75 \pm 1,53$
Общая толщина аорты	$88,33 \pm 4,21$	$110,13 \pm 4,45^*$	$102,28 \pm 3,19^*$

Примечание: * – различия статистически значимы (Т-критерий, $p < 0,05$ относительно контрольной группы); ** – различия статистически значимы (критерий U Манна–Уитни, $p < 0,05$ относительно контрольной группы)

Достоверные различия между группами выявлены по толщине оболочек стенки аорты. Толщина интимы в старшей группе (в среднем $8,92 \pm 0,33$ мкм) увеличивалась на 22,98%, в группе стресса (в среднем $8,84 \pm 0,36$ мкм) – на 22,2% относительно контрольной группы (в среднем $6,87 \pm 0,27$ мкм). Толщина меди в старшей группе (в среднем $85,2 \pm 4,16$ мкм) увеличивалась на 21,87%, в группе стресса (в среднем $77,69 \pm 2,4$ мкм) также увеличивалась на 14,31% относительно контрольной группы (в среднем $66,57 \pm 4,08$ мкм).

Статистически значимых различий в толщине адвентиции аорты между группами выявлено не было.

Наружный диаметр аорты достоверно увеличен в старшей группе животных (в среднем $1,2 \pm 0,02$ мм) на 18,33% относительно младшей группы (в среднем $0,98 \pm 0,01$ мм). Достоверное увеличение данного параметра установлено также в группе стрессированных крыс (в среднем $1,06 \pm 0,02$ мм) на 7,54% относительно контрольной группы.

Статистически значимые различия по внутреннему диаметру установлены только в старшей группе (в среднем $0,99 \pm 0,02$ мм) – увеличение параметра на 18,18% относительно животных младшей группы (в среднем $0,81 \pm 0,02$ мм).

Площадь поперечного сечения аорты в старшей группе (в среднем $1,14 \pm 0,05$ мм²) достоверно увеличивалась на 33,3%, в группе стрессированных животных (в среднем $0,89 \pm 0,04$ мм²) данный параметр увеличивался на 14,6% относительно молодой группы (в среднем $0,76 \pm 0,01$ мм²).

Статистически значимые различия по площади просвета аорты установлены только в старшей группе (в среднем $0,77 \pm 0,04$ мм²) – увеличение параметра на 32,46% относительно животных младшей группы (в среднем $0,52 \pm 0,01$ мм²).

Площадь стенки аорты в старшей группе (в среднем $0,36 \pm 0,01$ мм²) достоверно увеличивалась на 36,11%, в группе стрессированных животных (в среднем $0,3 \pm 0,01$ мм²) данный параметр увеличивался на 23,33% относительно контрольной группы (в среднем $0,23 \pm 0,01$ мм²).

Таблица 3

Морфометрические параметры аорты (M±m)

Параметр	Контрольная группа	Старшая группа	Стрессированная группа
Наружный диаметр, мм	$0,98 \pm 0,01$	$1,2 \pm 0,02^{**}$	$1,06 \pm 0,02^{**}$
Внутренний диаметр, мм	$0,81 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,02^{**}$	$0,86 \pm 0,02$
Площадь поперечного сечения, мм ²	$0,76 \pm 0,01$	$1,14 \pm 0,05^{**}$	$0,89 \pm 0,04^{**}$
Площадь просвета, мм ²	$0,52 \pm 0,01$	$0,77 \pm 0,04^{**}$	$0,59 \pm 0,03$
Площадь стенки, мм ²	$0,23 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,01^*$	$0,3 \pm 0,01^*$
Индекс Вогенворта	$0,32 \pm 0,01$	$0,48 \pm 0,02^*$	$0,52 \pm 0,02^*$

Примечание: * – различия статистически значимы (Т-критерий, $p < 0,05$ относительно контрольной группы); ** – различия статистически значимы (критерий U Манна–Уитни, $p < 0,05$ относительно контрольной группы).

Индекс Вогенворта в старшей группе (в среднем $0,48 \pm 0,02$) достоверно увеличивался на 33,33%, в группе стрессированных животных (в среднем $0,52 \pm 0,02$) данный параметр увеличивался на 38,46% относительно молодой группы (в среднем $0,32 \pm 0,01$). По изменениям индекса Вогенворта можно косвенно судить о нарушении циркуляции крови в аорте крыс старшей и стрессированной групп.

Вышеизложенные данные подтверждают схожесть течения инволютивных процессов, протекающих под влиянием стресса и происходящих с возрастом.

Заключение

Выявлены достоверные различия отдельных морфометрических параметров аорты у крыс разного возраста и в условиях хронического стресса, в том числе с возрастом. Как и в условиях стресса, обнаружено увеличение внутренней и средней оболочек аорты, чем обусловлено увеличение общей толщины ее стенки; также увеличивались наружный диаметр аорты, площадь поперечного сечения аорты, площадь стенки аорты, индекс Вогенворта. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что хронический стресс оказывает влияние на преждевременную перестройку стенки артерий.

Список литературы

1. Драпкина О.М. Сосудистый возраст как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний // Артериальная гипертензия. 2014. №20(4). С.224-231.
2. Аверкин Н.С., Федорова М.Г., Латынова И.В., Харитонов Е.А., Пивоваров Е.В. Микрометрические изменения стенок крупных артерий в условиях нарушенного углеводного обмена // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. 2019. №2. С.144-151.
3. Kwak B.R., Back M, Vochaton• Piallat M.L. et al. Biomechanical factors in atherosclerosis: mechanisms and clinical implications. Eur Heart J. 2014. vol.35. P. 13–20.
4. Стражеско И.Д., Акашева Д.У., Дудинская Е.Н., Ткачева О.Н. Старение сосудов: основные признаки и механизмы // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2012. №11(4). С.93-100.
5. Pikilidou M., Yavropoulou M., Antoniou M., Yovos J. The contribution of Osteoprogenitor cells to Arterial stiffness and hypertension. J. Vasc. 2015. vol. 52. P. 32-40.
6. Каусова Г.К., Толеу Е.Т., Кодасбаев А.Т., Нурбакыт А.Н. К вопросу профилактики сердечно-сосудистых заболеваний // Вестник КазНМУ. 2017. №4. С.40-42.
7. Carallo C., Tripolino C., De Franceschi M.S., Irace C., Xu X.Y., Gnasso A. Carotid endothelial shear stress reduction with aging is associated with plaque development in twelve years. Atherosclerosis. 2016. vol.251. P.63-69.
8. Wu H.H., Wang S. Strain differences in the chronic mild stress animal model of depression. Behav. Brain. Res. 2010. vol. 213. no. 1. P. 94-102.