

© Гладій О. І.

УДК 616.127-091.8-02:616.153.857]-092.9

Гладій О. І.

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ЕКСТРАЦЕЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСУ МІОКАРДУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГІПЕРУРИКЕМІЇ

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (м. Тернопіль)

olena-gl@ukr.net

Дослідження виконано у ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» в рамках науково-дослідної роботи «Ремоделювання кровоносних русел внутрішніх органів та тканин при різних патологічних станах в експерименті», № держ. реєстрації 0111U008026.

Вступ. Загальнобіологічним проявом відповіді структурних компонентів міокарду на дію ендогенних і екзогенних патогенних чинників є їх ремоделювання. В першу чергу порушується стромально-мязове співвідношення, так як від стану строми залежить морфофункціональний стан кардіоміоцитів. Якісний та кількісний склад структур міокарду, їхнє взаємовідношення є досить чітко взаємозалежним на всіх рівнях організації серцевого м'язу. Порушення цього взаємозв'язку відображаються на функціональних можливостях міокарду, а також визначають патоморфоз захворювань серця [2].

Молекулярні процеси, що є підґрунтям ремоделювання міокарда, і дотепер недостатньо вивчені. Дослідження феномену кардіального ремоделювання були зосереджені переважно на вивченні змін у кардіоміоцитах, тоді як роль екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) міокарда переважно оцінювалася як пасивна і, головним чином, розглядалась лише в забезпеченні метаболізму і умов для функціонування кардіоміоцитів [5]. Однак при вивченні культивованих кардіоміоцитів [1] відмічено, що кардіоміоцити поступово набувають здатності самостійно синтезувати власні білки ЕЦМ. Така перебудова скорочувального апарату та зміна морфології кардіоміоциту може пояснитись нездатністю підтримувати типової морфології за відсутності необхідного ЕЦМ та необхідністю синтезу його компонентів. Результати цих досліджень вказують на важливу роль ЕЦМ у нормальному функціонуванні кардіоміоцитів.

Роботи останніх років переконливо свідчать, що ЕЦМ, як складовий елемент строми, виконує не тільки функцію опори для клітин, але і відіграє динамічну роль в метаболічних процесах, що впливають на клітинну проліферацію, диференціацію, апоптоз, а також депонує біологічні активні фактори росту. Він має вельми складну організацію, власну систему регуляції і відтворення, а також здатний швидко реагувати на зміни навантаження на серце [7, 8].

Питання першочерговості ушкодження стромального компоненту міокарду під дією патологічних чинників, що зумовлює його ремоделювання, а саме гіперурикемії (ГУ) залишається актуальним. У низці досліджень проводилось вивчення

морфо-функціонального стану кардіоміоцитів при захворюваннях, що супроводжуються підвищенням рівня сечової кислоти (СК) в крові. Однак залишається нез'ясованим питання, який з компонентів міокарду: строма чи м'язові клітини реагують на дію цього пошкоджуючого фактору ініціально, а, отже, і спричиняють порушення його функції.

Мета дослідження. З'ясувати особливості структурних змін компонентів міокарда під впливом високого рівня сечової кислоти в крові експериментальних тварин.

Об'єкт і методи дослідження. Проведено дослідження сердець білих безпородних щурів-самців, яких утримували на гіперурикемічній дієті впродовж 45-ти днів (8 щурів 12-ти місячного віку масою 230-250 г). Контрольні тварини кількісно і за віковими даними відповідали піддослідним і знаходилися на стандартному вигодовуванні віварію. Експериментально ГУ моделювали за загальноприйнятою методикою у нашій модифікації [4] шляхом 45 добового утримання тварин на білковій дієті. Склад корму включав суміш кров'янки з дріжджовим аутолізатом, молібденом та інозином. Протокол експерименту в розділах вибірки, утримання тварин, моделювання ГУ і виведення їх із досліду був складений відповідно до принципів біоетики, правил Належної лабораторної практики (GLP), а також відповідав вимогам, що викладені в положеннях «Європейської конвенції про гуманітарне відношення до лабораторних тварин», (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та вимог комісії з біоетики ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені

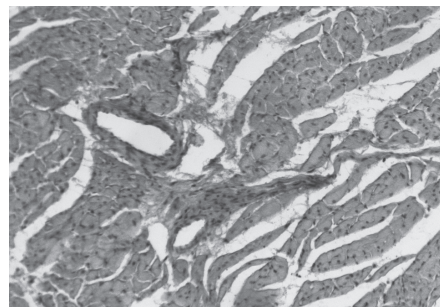


Рис. 1. Помірне накопичення кислих глікозаміногліканів в стромі міокарда та прояви метакромазії в судинній стінці. 45 доба експерименту. Гістологічний зріз міокарда. Заб. альціановим синім за Стідменом. Зб.: ок. 10, об. 10.

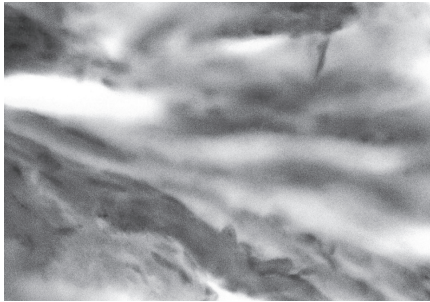


Рис. 2. Нерівномірне накопичення нейтральних глікозаміногліканів в кардіоміоцитах та стромі міокарда. 45 доба експерименту. Гістологічний зріз міокарда. Заб. PAS-реакція. Зб.: ок.20, об.40.

І. Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол 24 від 27 серпня 2014 р.). СК в сироватці крові визначали за загальноприйнятим біохімічним методом. Тканину міокарда фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації та ущільнювали у парафіні. Гістологічні зрізи зафарбовували гематоксиліном і еозинном, для виявлення кислих глікозаміногліканів (ГАГ) – альціановим синім за Стідменом, нейтральних мукополісахаридів – PAS-реакцією. Аналіз гістологічних змін міокарда здійснювали за допомогою мікроскопів SEOSCAN, Люмам Р-8 та МБИ-15 при різних збільшеннях. Для фотодокументування зображення з мікроскопів виводили на монітор комп'ютера за допомогою відеокамери VISION Color CCD Camera і програми InterVideoWinDVR. Аналіз результатів виконаний у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» в програмному пакеті «Statsoft Statistica». Достеменними вважали відмінності при $p \leq 0,05$ (95,5 %).

Результати досліджень та їх обговорення. На 45 добу експерименту рівень СК крові експериментальних тварин зріс до $(273,64 \pm 4,35)$ мкмоль/л проти $(129,72 \pm 3,82)$ мкмоль/л у контрольних. Морфологічно виявлено гіпертрофію кардіоміоцитів. У кардіоміоцитах наявні осередки підвищеної ацидофільії саркоплазми в субендокардіальних та субепікардіальних відділах, а також в міжшлуночкової перегородці, які

поєднувалися із морфологічними проявами порушення циркуляторно-метаболических процесів мікроциркуляторного русла, таких як помірно виражене повнокрів'я, стази та інтерстиціальний набряк.

У тварин із модельованою гіперурикемією поряд із гістологічними проявами метаболических ушкоджень кардіоміоцитів встановлено суттєві прояви дезорганізації стромального компоненту, що виражались у поширенні стромальних прошарків із порівняно більшою кількістю фіброцитів та колагенових волокон. Структурні зміни позаклітинного матриксу проявлялися розвитком периваскулярного склерозу, поєданого із лімфогістіоцитарною інфільтрацією.

У периваскулярних ділянках при забарвленні альціановим синім за Стідменом виявляли ділянки метакрохромазії, що свідчать про накопичення кислих мукополісахаридів (**рис. 1**).

Ймовірно, надлишкову кількість ГАГ в інтерстиції спостерігали внаслідок збільшення юних форм клітин фібробластного ряду, що їх продукують. Про вагомість таких змін свідчать дані літератури про те, що вони спричиняють накопичення білково-полісахаридних комплексів, які сприяють зміні проникності основної речовини сполучної тканини і осаджуються на фібрилах колагену, порушуючи його властивості та сприяючи прогресуванню склеротичних процесів в міокарді [3, 6].

У саркоплазмі окремих кардіоміоцитів, розташованих здебільшого в субендокардіальних та центральних ділянках при постановці PAS-реакції виявлялися гранули глікогену, а в стромі помірно накопичення нейтральних мукополісахаридів (**рис. 2**).

Висновки. При експериментальній гіперурикемії спостерігається ремоделювання як скоротливого так і стромального компонентів міокарда.

Ремоделювання стромального компоненту міокарда при гіперурикемії проявляється у інтерстиціальному та периваскулярному набряку, стазах та повнокрів'ї структурних компонентів мікроциркуляторного русла, накопиченні кислих та нейтральних глікозаміногліканів.

Перспективи подальших досліджень. З метою з'ясування процесу гіперпродукції колагену провести імуногістохімічне дослідження його типів.

Література

1. Бильдюг И. Б. Зависимость организации сократительного аппарата кардиомиоцитов от внеклеточного матрикса / И. Б. Бильдюг, Г. П. Пинаев // Цитология. – 2013. – Т. 55, № 10 – С. 713–724.
2. Горбунов А.А. Соединительнотканый компонент миокарда: новый этап изучения давней проблемы / А.А. Горбунов // Морфология. – 2007. – Т. I, № 4. – С. 6–12.
3. Морфогенетические аспекты изменений миокарда в условиях острой и хронической ишемии / В. Н. Благодаров, М. В. Данилишина, Н. Н. Лагода, О. Г. Рудницкая // Запорож. мед. журн. – 2011. – Т. 13, № 6. – С. 10–13.
4. Патент України № 97949 UA, G09B23/28, A61K35/14 Спосіб моделювання гіперурикемії / Боднар Я. Я., Кріпка О. І., Юрик І. І. / ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» / Опубл. 10.04.2015; Бюл. № 7.
5. Роль системи матриксних металопротеїназ та їх тканинних інгібіторів у формуванні постінфарктного ремоделювання серця / В. К. Гринь, О. І. Бассов, М. Т. Ватугін, А. С. Воробйов // Буков. мед. вісн. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 152–156.
6. Gallagher G. Myocardial extracellular matrix remodeling in ischemic heart failure / G. Gallagher, C. Jackson, S. Hunyor // Front. Biosci. – 2007. – Vol. 1, № 12. – P. 1410–1419.
7. Shirwany A. Extracellular matrix remodeling in hypertensive heart disease / A. Shirwany, K.T. Weber // J. Am. Coll. Cardiol. – 2006. – Vol. 48. – P. 97–98.
8. The Myocardial Extracellular Matrix: An Ever-Changing and Diverse [Electronic resource] / Entity Marieke Rienks, Anna-Pia Papageorgiou, Nikolaos G. Frangogiannis, Stephane Heymans // Circulation Research. – 2014. – Vol. 14. – P. 860–871. – Mode of access: <http://circres.ahajournals.org/content/114/5/872.full.pdf+html>.

УДК 616.127-091.8-02:616.153.857]-092.9

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ЕКСТРАЦЕЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСУ МІОКАРДУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГІПЕРУРИКЕМІЇ

Гладій О. І.

Резюме. У статті проаналізовано особливості морфологічних змін екстрацелюлярного матриксу міокарду за умов 45-ти денного моделювання гіперурикемії. Встановлено, що ремоделювання стромального компоненту міокарда при гіперурикемії проявляється в інтерстиціальному та периваскулярному набряку, стазах та повнокрів'ї структурних компонентів мікроциркуляторного русла, накопиченні кислих та нейтральних глікозаміногліканів.

Ключові слова: гіперурикемія, екстрацелюлярний матрикс, міокард.

UDC 616.127-091.8-02:616.153.857]-092.9

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСА МИОКАРДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРУРИКЕМИИ

Гладий Е. И.

Резюме. В статье проанализированы особенности морфологических изменений экстрацеллюлярного матрикса миокарда в условиях 45-ти дневного моделирования гиперурикемии. Установлено, что ремоделирование стромального компонента миокарда при гиперурикемии проявляется в интерстициальном и периваскулярном отеке, стазах и полнокровии структурных компонентов микроциркуляторного русла, накоплении кислых и нейтральных гликозаминогликанов.

Ключевые слова: гиперурикемия, экстрацеллюлярный матрикс, миокард.

UDC 616.127-091.8-02:616.153.857]-092.9

PECULIARITIES OF MORPHOLOGICAL CHANGES OF EXTRACELLULAR MATRIX OF MYOCARDIUM IN CONDITION OF EXPERIMENTAL HYPERURICEMIA

Gladii O. I.

Abstract. The article analyzes the peculiarities of morphological changes of myocardial extracellular matrix in the conditions of 45-days hyperuricemia.

Introduction. Remodelling is general biological changes of myocardial structural component response under condition of the effect of endogenic or exogenous pathological factors. At first stroma-muscle ratio breaks, because the morpho-functional condition of cardiomyocytes depends on the condition of stroma. Recent scientific works demonstrate convincingly that extracellular matrix as component of stroma makes not only support function for cells, but also plays dynamic role in metabolic processes which affect on proliferation, differentiation, apoptosis and also the biological active growth factors accumulate in extracellular matrix. It has rather complex organization, own system of regulation and reproduction, can rapidly respond to heart load changes. The morpho-functional state of cardiomyocytes under condition of diseases which accompanied by high level of uric acid in blood was investigated in number researches. But the question about the anteriority of damage of stroma components of myocardium under pathological conditions which lead to its remodeling, particularly in conditions of hyperuricemia is actual.

The objective of the research. To determine the peculiarities of the structural changes of the myocardium component under the influence of the high level of uric acid in blood of the experimental animals.

Materials and methods of the research. The hearts of white male rats (8 rats at 12 months with weight ranging from 230-250 g), which were kept in the hyperuricemia diet for 45 days were examined in the research. The control group was consisted of 8 rats, which were given standard food. Then organ biosamples were fixed in 10 % neutral formalin, after inclusion of the material in paraffin histological slices were prepared. Histological preparation had been painted with haematoxylin-eosin. A portion of the histological slices were subjected to PAS reaction for determine neutral glycosaminoglycans. The other part of the fixed slices was stained with alcian blue in order to determine acid glycosaminoglycans.

Results and discussion. The level of uric acid in blood of the experimental animals was $(273,64 \pm 4,35)$ $\mu\text{mol/l}$ vs $(129,72 \pm 3,82)$ $\mu\text{mol/l}$ in the control on the 45th day of the experiment. The histological study established the hypertrophy of cardiomyocytes. There had been found the locus with elevated acidophylia of sarcoplasm in subendocardial and subepicardial section and in interventricular septum, which were combined with morphological manifestations of circulatory-metabolic disorders of microcirculatory system, such as moderate plethora, stasis and interstitial edema.

Also there were established the significant manifestations of disorganisation of the stromal component, which were expressed in the enlargement of stromal layers with more number of fibrocytes and collagen fibres in the animals of the experimental group. The structural changes of extracellular matrix were manifested in the development of the perivascular sclerosis with the lympho-histiocytic infiltration.

There had been found the locus of methachromasia in the perivascular areas after the coloration with alcian blue by Stidmen, which evidence about accumulation acid glycosaminoglycans. Pellets of glycogen were found in sarcoplasm of some cardiomyocytes mostly of subendocardial and central areas and accumulation neutral glycosaminoglycans in stroma after the PAS reaction.

Conclusions. 1. Stroma as well as contractive component of myocardium is remodeling under the conditions of hyperuricemia. 2. The morphological changes of the stromal component of myocardium were manifested as interstitial and perivascular edema, stasis and plethora of the structural components of the microcirculatory system, accumulation of acid and neutral glycosaminoglycans.

Keywords: hyperuricemia, extracellular matrix, myocardium.

Рецензент – проф. Костиленко Ю.П.

Стаття надійшла 03.06.2015 р.