

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ГЕМИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ МИОКАРДА САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС

Заднипрый И.В., Третьякова О.С., Сатаева Т.П.  
Крымский государственный медицинский университет

В статье представлены данные о морфометрических параметрах миокарда самцов крыс в процессе развития гипоксии, индуцированной нитритом натрия ( $\text{NaNO}_2$ ). Выявлено, что хроническое поступление азотсодержащих ксенобиотиков в организм оказывает выраженное токсическое действие на миокард самцов крыс, проявляющееся в виде ишемических и гипоксических повреждений сократительных кардиомиоцитов и эндотелиоцитов, с последующей их гибелью. Основные морфологические признаки нитритного повреждения миокарда были представлены в виде явлений смешанной дистрофии и отека сократительных кардиомиоцитов, лизиса миофибрилл, ригорных комплексов. Также отмечалось достоверное расширение артериол и увеличение коллагеновых фибрилл в интерстиции. Выявленные признаки структурной перестройки миокарда являются предикторами миокардиальной дисфункции.

**Ключевые слова:** миокард, гемическая гипоксия, морфометрия, кардиомиоциты, крысы.

**Постановка проблемы.** Проблема нарастания концентрации азотсодержащих ксенобиотиков в окружающей среде и их влияние на организм человека по-прежнему является актуальной проблемой медицины и экологии [2]. Интенсивное применение в хозяйственной деятельности человека азотсодержащих химических соединений привело к возникновению экологической проблемы, связанной с избыточным поступлением этих веществ в организм человека и животных. Наиболее широкое распространение получили нитриты и нитраты, которые в процессе биотрансформации становятся источниками NO и других активных форм азота [2, 7]. Обладая сходными с кислородом химическими свойствами, они вступают в конкурентные отношения за места связывания  $\text{O}_2$ , вызывая в организме гипоксию за счет снижения кислородной емкости крови и нарушения клеточного дыхания [7, 8, 9].

Вымывание азотных удобрений с полей в природные водоемы, а также попадание окислов азота в грунтовые воды с кислотными осадками является причиной повсеместного увеличения содержания нитратов в питьевой воде крупных городов [4]. Из года в год отмечается высокое содержание (100-300 мг/л) солей азотной кислоты щелочных и щелочноземельных металлов в природных водах, в том числе колодезной воде разных регионов. Увеличение парка личного и муниципального автотранспорта сопровождается значительным повышением выброса выхлопов в воздушную среду с высоким содержанием окислов азота [2, 8]. Таким образом, общая нагрузка содержащими азот веществами, поступающими в организм человека в составе пищи, воды и вдыхаемого воздуха, может значительно превышать физиологические пределы [1, 3, 6].

**Целью** проведения исследования явилось изучение морфометрических параметров миокарда самцов крыс в процессе развития гипоксии, индуцированной нитритом натрия  $\text{NaNO}_2$ .

**Материал и методы исследования.** В работе использовали половозрелых белых беспородных крыс-самцов массой 180-210 г. Выбор крыс в качестве биологической модели обусловлен наличием ряда общих особенностей в строении и функционировании их сердечно-сосудистой системы и сердечно-сосудистой системы человека. Выбор же в качестве объекта исследования самцов обусловлен тем, что именно мужская часть населения в силу профессиональной специфики наиболее часто подвержена контакту с нитросоединениями. Эксперимент произведен на 15 животных. В соответствии с поставленными задачами животные были разби-

ты на две группы. Контрольную группу составили 7 самцов, содержащихся в стандартных условиях вивария. Экспериментальную группу составили 8 самцов, которым в течение 1 месяца ежедневно внутривенно вводили нитрит натрия  $\text{NaNO}_2$  в дозе 5 мг/100 г массы (доза, вызывающая гипоксию средней тяжести) [5].

Животные выводились из эксперимента путем декапитации под наркозом (эфир с хлороформом) с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинской декларации, и в соответствии с требованиями правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [3].

После проведения торако- и перикардотомии под эфирным наркозом сердце извлекалось и сразу же помещалось в кардиоплегический раствор (0,9% KCl при температуре 0°C), чем достигалась остановка сердца в диастолу. Разрез сердца для забора материала из левого желудочка проводился с учетом расположения магистральных путей проводящей системы. Проводилась окраска срезов миокарда ГОФП-методом (гематоксилин-основной фуксин-пикриновая кислота) с целью выявления очагов ишемического повреждения [8].

Ультратонкие срезы изготавливали на ультратоме УМТП-4 (Украина), красили толуидиновым синим, контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом.

Для гистологических исследований образцы тканей левого желудочка сердца фиксировали в 10% нейтральном формалине и после соответствующей проводки заливали в парафин. Гистологические срезы изготавливались толщиной 10-15 мкм, окрашивались гематоксилин-эозином и исследовались с помощью микроскопа Olympus CX-31 (Япония).

При морфометрии [1] определяли длину, площадь кардиомиоцитов, площадь их цитоплазмы, диаметр и площадь ядер кардиомиоцитов, диаметр сосудов, диаметр просвета сосудов, площадь просвета сосудов и соединительной ткани. Стромально-кардиомиоцитарное отношение высчитывали по формуле: площадь кардиомиоцитов+площадь сосудов/площадь интерстиция. Ядерно-цитоплазматическое отношение рассчитывали по формуле: площадь ядра кардиомиоцита/площадь цитоплазмы кардиомиоцита. Измерения производили при увеличении 400x с помощью лицензионной программы Image J [6].

Статистическая обработка полученных цифровых данных проводилась с помощью программ Microsoft Excel 2007. Проверка статистических гипотез осуществлялась по t-критерию Стьюдента.

При оценке статистических гипотез принимались следующие уровни значимости:  $p < 0,05$ .

#### Результаты исследования и их обсуждение.

Гистологическое и морфометрическое изучение сократительного миокарда белых крыс опытной группы выявило наличие признаков общетоксического действия нитрита натрия.

При окраске гематоксилин-эозином в экспериментальной группе по сравнению с контролем отмечалось достоверное уменьшение длины и площади кардиомиоцитов соответственно на 18,38% и 35,21% ( $p \leq 0,05$ ), что свидетельствовало об их ишемическом и гипоксическом повреждении (табл. 1).

Таблица 1  
Морфометрические показатели миокарда белых крыс,  $X \pm SX$

№	Показатель	Контроль	Опыт
1.	Длина кардиомиоцитов, мкм	73,21 ± 3,91	59,75 ± 2,81*
2.	Площадь кардиомиоцитов, мкм <sup>2</sup>	616,37 ± 40,33	399,29 ± 20,85*
3.	Площадь цитоплазмы кардиомиоцитов, мкм <sup>2</sup>	591,41 ± 42,42	356,48 ± 27,63*
5.	Диаметр ядер кардиомиоцитов, мкм	5,31 ± 0,41	5,62 ± 0,14
6.	Площадь ядер кардиомиоцитов, мкм <sup>2</sup>	24,71 ± 2,19	26,79 ± 3,05
7.	Диаметр артериол, мкм <sup>2</sup>	15,98 ± 0,67	17,73 ± 0,75*
8.	Диаметр просвета артериол, мкм	7,15 ± 0,45	9,36 ± 0,49*
9.	Площадь просвета артериол, мкм <sup>2</sup>	1427,35 ± 127,38	1459,41 ± 111,02*
10.	Площадь интерстиция, мкм <sup>2</sup>	1797,51 ± 61,68	2035,37 ± 40,394*
11.	Стромально-кардиомиоцитарные отношения (площадь сосудов + площадь интерстиция/площадь кардиомиоцитов), мкм <sup>2</sup>	5,22 ± 0,04	8,11 ± 0,13*
12.	Ядерно-цитоплазматическое отношение (площадь ядра/площадь цитоплазмы), мкм <sup>2</sup>	0,04 ± 0,02	0,07 ± 0,05*

Примечание: \* –  $p \leq 0,05$  по сравнению с животными контрольной группы

При оценке структуры кардиомиоцитов у животных экспериментальной группы выявлено, что контуры сократительных кардиомиоцитов были нечеткими, их цитоплазма неравномерно окрашена, зернистая, что свидетельствует о развитии смешан-

ной дистрофии. Поперечная исчерченность миофибрилл нечетко выражена, местами отсутствовала, между мышечными волокнами обнаруживались участки круглоклеточной инфильтрации (рис. 1). Выявлялись многочисленные ригорные комплексы, которые являлись следствием повреждения митохондрий и избыточного поступления ионов кальция  $Ca^{2+}$  в саркоплазму через расширенные мембранные поры. Ядра кардиомиоцитов отличались полиморфизмом формы (округлые, вытянутые) за счет отека саркоплазмы и имели очаги просветления за счет неравномерной конденсации хроматина (рис. 2).

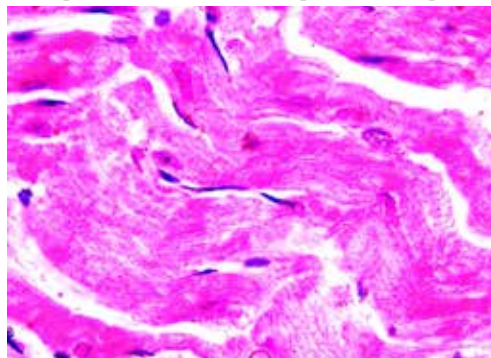


Рис. 1. Полиморфизм ядер кардиомиоцитов, явления смешанной дистрофии, контрактурные изменения, лизис и разволокнение миофибрилл. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув. x 1000

При этом диаметр ядер кардиомиоцитов и их площадь за счет отека незначительно увеличивались по сравнению с контролем на 5,31% и 7,76% (табл. 1) соответственно. Ядерно-цитоплазматический индекс в опытной группе, по сравнению с контролем, вырос на 42,85% ( $p \leq 0,05$ ).

Приведенные выше данные свидетельствуют об ишемическом поражении миокарда левого желудочка и гипоксии правого, подтверждают развитие межмышечного отека. Ишемические и гипоксические изменения миокарда носят «мозаичный» характер, что проявляется неравномерным увеличением ядер кардиомиоцитов.

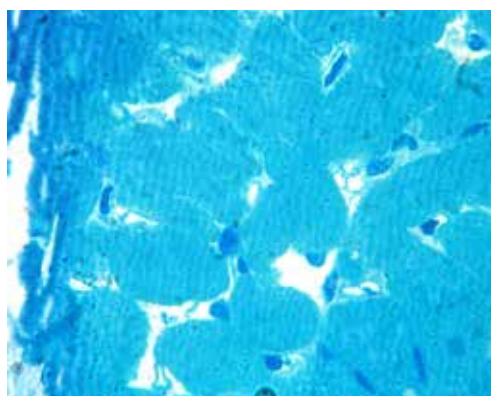
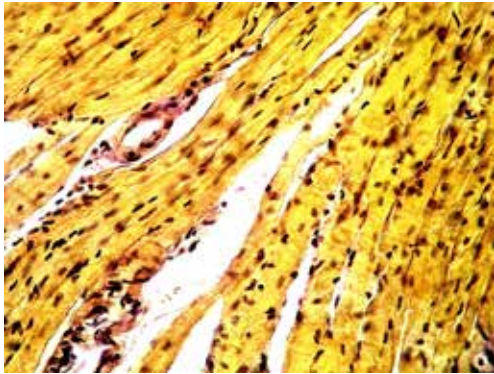


Рис. 2. Явления межмышечного отека. Полутонкий срез. Окраска: толуидиновым синим. Ув. x 400

В условиях гемической гипоксии, которая сопровождалась избыточной концентрацией ионов  $NO$ , наблюдалось расширение просветов сосудов микроциркуляторного русла и разрастание соединительной ткани в стенке сосудов и между миофибриллами (рис. 3). Морфометрически это проявлялось увеличением, по сравнению с контролем, диаметра артериол на 9,87% ( $p \leq 0,05$ ), диаметра просвета артериол – на 23,61% ( $p \leq 0,05$ ), общей площади ар-

териол – на 2,19% ( $p \leq 0,05$ ), что свидетельствует о значительном расширении просвета артериол и отеке эндотелиоцитов. Стромально-кардиомиоцитарные отношения, по сравнению с контролем, за счет отека и коллагеногенеза выросли на 35,63% ( $p \leq 0,05$ ) (табл. 1).



**Рис. 3. Перикапиллярний отек. Большое количество диффузно расположенных мелких очагов умеренно выраженной фуксинофилии интерстиция. Окраска: ГОФП-метод. Ув. x 400**

Таким образом, влияние хронической гемической гипоксии на миокард, изученное нами также в предыдущих работах [9], проявляется морфо-

функциональными сдвигами различной степени выраженности, отражающими глубокие тканевые изменения, проявляющиеся в переходе из компенсаторно-приспособительных процессов в необратимые деструктивные изменения. При этом нарушаются процессы микроциркуляции и коллагеногенеза во внеклеточном матриксе миокарда, что приводит к снижению объема кардиомиоцитов, их дегенерации и атрофии. Это обуславливает прогрессирующее миокардиальное дисфункцию.

#### **Выводы:**

1. Хроническое поступление азотсодержащих ксенобиотиков в организм оказывает выраженное токсическое действие на миокард самцов крыс, которое в виде ишемических и гипоксических повреждений сократительных кардиомиоцитов и эндотелиоцитов, с последующей их гибелью.

2. Основные морфологические признаки нитритного повреждения миокарда представлены в виде явлений смешанной дистрофии и отека сократительных кардиомиоцитов, лизиса миофибрилл, развития ригорных комплексов, расширения просветов артериол и увеличения содержания коллагена в интерстиции.

3. Выявленные признаки структурной перестройки миокарда являются предикторами миокардиальной дисфункции, что обуславливает необходимость проведения кардиопротекции.

#### **Список литературы:**

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Ажипа Я. И. Экологические и медико-биологические аспекты проблемы загрязнения окружающей среды нитратами и нитритами / Я. И. Ажипа, В. П. Реутов, Л. П. Каюшин // Физиология человека. – 1990. – Т. № 16. – С. 131-150.
3. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. Основные принципы // Ланималогия. – 1993. – № 1. – С. 29.
4. Середенко М. М. Механизмы развития и компенсация гемической гипоксии. – Киев: «Наукова думка». – 1987. – 178 с.
5. Черкесова Д. У., Омаров М.-С. А. Экспериментальная модель внутриутробной нитритной гипоксии / Д. У. Черкесова, М.-С. А. Омаров // Бюллетень. «Медицина. Наука и практика». ДНЦРАМН. – 1995. – № 1. – С. 44-46.
6. Collins T. J. ImageJ for microscopy / T. J. Collins // BioTechniques. – 2007. – № 43. – С. 25-30.
7. Tichauer K. M., Brown D. W., Hadway J., Lee T. Y., Lawrence K. Near-Infrared Spectroscopy Measurements of Cerebral Blood Flow and Oxygen Consumption Following Hypoxia-Ischemia in Newborn Pogllets // J. Appl. Physiol. – 2006. – V. 100. – № 3. – P. 850-857.
8. Nitric Oxide Inhibits Mitochondrial NADH: Ubiquinon Reductase Activity through Peroxynitrite Formation / N. A. Riobo, E. Clementi, M. Melani et al. // Biochem. J. – 2001. – V. 359. – P. 139.
9. Zadnipyryany I. V., Sataieva T. P. Neonatal rat myocardium survival in terms of chronic hemic hypoxia / I. V. Zadnipyryany, T. P. Sataieva // In the world of Scientific discoveries. – 2014. – № 10(58). – С. 281-290.

**Задніпрський І.В., Третякова О.С., Сатаєва Т.П.**  
Кримський державний медичний університет

## **ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ ГЕМІЧНОЇ ГІПОКСІЇ НА МОРФОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ МІОКАРДУ САМЦІВ БІЛИХ ЩУРІВ**

#### **Анотація**

У статті висвітлені дані щодо морфометричних параметрів міокарду самців щурів в процесі розвитку гіпоксії, індукованої нітритом натрію ( $\text{NaNO}_2$ ). Виявлено, що хронічне надходження азотовмісних ксенобиотиків в організм оказує виражену токсичну дію на міокард самців щурів, яке проявляється у вигляді ішемічних і гіпоксичних пошкоджень скорочувальних кардіоміоцитів і ендотеліоцитів, з подальшою їх загибеллю. Основні морфологічні ознаки нітритного пошкодження міокарду були представлені у вигляді явищ змішаної дистрофії та набряку скорочувальних кардіоміоцитів, лизису міофібрил, ригорних комплексів. Також відзначалося достовірне розширення артеріол і збільшення коллагенових фібрил в інтерстиції. Виявлені ознаки структурної перебудови міокарду є предикторами міокардиальної дисфункції.

**Ключові слова:** міокард, гемічна гіпоксія, морфометрія, кардіоміоцити, щури.

Zadnipyany I.V., Tretiakova O.S., Sataieva T.P.  
Crimea State Medical University

## EFFECTS OF CHRONIC HYPOXIA ON HEMIC MORPHOMETRIC PARAMETERS OF MALE ALBINO RAT MYOCARDIUM

### Summary

In this article we represented the morphometric parameters of the myocardium of male rats during development of hypoxia induced by sodium nitrite  $\text{NaNO}_2$ . It was found out that chronic intake of nitrogen-containing xenobiotics in the body and has a strong toxic effect on the myocardium of male rats, which is manifested in the form of ischemic and hypoxic damage contractile cardiomyocytes and endothelial cells, with subsequent their death. The main morphological features of nitrite myocardial damage were presented in form of mixed dystrophy and contractile cardiac edema, lysis of myofibrils, rigor complexes. Also, there was a significant increase of arterioles diameter and increased amount collagen fibers in the interstitium. We revealed signs of structural violations which are predictors of myocardial dysfunction.

**Keywords:** myocardium, hemic hypoxia, morphometry, cardiomyocytes, rats.