

© О.І. Кріпка, Я.Я. Боднар, 2015

УДК 616.12-021.1-02:616.153.857-091.8]-092.9

О.І. КРІПКА, Я.Я. БОДНАР

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, кафедра патологічної анатомії з секційним курсом та судової медицини, Тернопіль

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНИХ ПРОЯВІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРУРИКЕМІЧНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ

Проведено експериментальне моделювання гіперурикемії на щурах дорепродуктивного (молодого) та репродуктивного (зрілого) віку з подальшим дослідженням морфологічних змін міокарда. Морфологічні прояви патогенного впливу гіперурикемії на міокард виражались у структурних змінах кардіоміоцитів, сполучнотканинної строми та кровоносних судин, вираженість яких залежала від віку тварини. У молодих тварин переважали компенсаторно-приспосувальні прояви, а у тварин зрілого віку – запально-некротичні та склеротичні.

Ключові слова: гіперурикемія, кардіоміопатія, морфологія, експеримент

Вступ. У патогенезі серцево-судинних захворювань важливе значення надається особливостям ремоделювання серця, які залежать не лише від вікових змін організму, а також від впливу екзо- чи ендогенних факторів. Одним з таких чинників є гіперурикемія (ГУ), яка трапляється серед усіх типів ремоделювання міокарда лівого шлуночка (ЛШ) [2, 10]. Багатоцентровими дослідженнями доведено, що підвищений рівень сечової кислоти (СК) у сироватці крові асоціюється з ризиком зростання захворювань як у загальній популяції, так і серед пацієнтів високого кардіоваскулярного ризику [4, 8, 9]. Відзначено важливу роль ГУ як фактора ризику смертності у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС), її вважають раннім негативним метаболічним фактором прогнозу перебігу інфаркту міокарда [5, 7], прогресуючої систолічної та діастолічної функції міокарда ЛШ хворих з артеріальною гіпертензією (АГ), ожирінням, хронічною серцевою недостатністю [2, 6].

Однак, попри значну зацікавленість науковців до питання гіперурикемічної кардіоміопатії, здебільшого її розглядають в контексті клінічних проявів основного захворювання, яке вона супроводжує. Експериментальне вивчення гіперурикемії проводилось як частина фундаментальних клінічних робіт, в яких вивчали особливості подагричної кардіопатії [1, 3]. Залишаються недостатньо деталізованими морфологічні особливості кардіопатії, зумовлені безпосереднім впливом СК на тканину залежно від вікового стану органу та тривалості гіперурикемії.

Мета дослідження. З'ясувати структурні зміни міокарда при експериментальній гіперурикемії у щурів дорепродуктивного (молодого) та репродуктивного (зрілого) віку.

Матеріали та методи. Проведено дослідження 32 сердець білих безпородних щурів-самців. Піддослідні тварини із індукованою ГУ дієтою поділені на дві групи: перша група складалася з 8 особин дорепродуктивного (молодого) віку (4-місячні) масою 150–170 г, друга – з 8 щурів ре-

продуктивного (зрілого) віку (12-місячні) масою 230–250 г. Контрольні тварини також розділені на дві групи, які за кількісно і віком відповідали піддослідним і знаходилися на стандартному вигодовуванні у віварії. Експериментально ГУ моделювали шляхом 45-добового утримання тварин на білковій дієті. Склад корму включав суміш кров'янки з дріжджовим аутолізатом, молібденом та інозином. Кров'янка – стандартного виробництва. Аутолізат дріжджів отримували шляхом витримання їх упродовж 2 діб при 60° С з наступною стерилізацією при 1,0–1,3 атм, 120–130° С упродовж 30 хв із додаванням 0,3 г молібдату амонію. 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 І.Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол 24 від 27 серпня 2014 р.). Сечову кислоту в сироватці крові визначали за загальноприйнятим біохімічним методом. Для гістологічного дослідження тканину міокарда фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації та ущільнювали у парафіні. Зрізи товщиною 5–8 мкм, після депарафінізації фарбували гематоксиліном і еозином, фукселіном Харта та залізним гематоксиліном за Генденгайном. Для оцінки процесів програмованої загибелі кардіоміоцитів використовували непрямі імунопероксидазну реакцію з моноклональними антитілами до bcl-2. 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. Через 45 днів експерименту рівень СК крові у тварин дорепродуктивного (молодого) віку, які перебували на гіперурикемічній дієті, становив $(264,76 \pm 4,36)$ мкмоль/л проти $119,17 \pm 3,98$ у контрольних, у експериментальних тварин репродуктивного (зрілого) віку – $(273,64 \pm 4,35)$ мкмоль/л проти $129,72 \pm 3,82$. При гістологічному дослідженні міокарда експериментальних тварин з'ясовано, що морфологічні прояви патогенного впливу гіперурикемії на міокард виражались у структурних змінах кардіоміоцитів, сполучнотканинної стромы та кровеносних судин, які ми умовно поділили на компенсаторно-приспосувальні, запально-дистрофічні та склеротичні. Ступінь виразу їх був різним у залежності від віку тварини. Так, у тварин дорепродуктивного віку переважали компенсаторно-

приспосувальні прояви, а у тварин репродуктивного (зрілого) віку запально-некротичні та склеротичні. Ремоделювання судин різного калібру міокарда тварин дорепродуктивного віку проявлялося потовщенням судинної стінки, що зумовлено гіперплазією м'язових клітин, проліферацією та набуханням ендотеліоцитів та плазматичним просяканням. У тварин репродуктивного (зрілого) віку переважали ознаки гіпереластозу, гіалінозу та склерозу. Характерно, що у цій групі тварин спостерігалася периваскулярна лімфоцитарна реакція.

Серед стромальних змін переважали набряк та клітинні інфільтрати. Останні мали осередкове розташування, переважно в адвентиції магістральних судин та в ендокарді. Тканина останнього набрякла та інфільтрована лімфоцитами.

У тварин репродуктивного (зрілого) віку сполучнотканинні стромальні прошарки більш виражені, в них спостерігається порівняно більше фіброцитів, колагенових волокон та лімфоцитів. Виражених змін при гіперурикемії зазнає і ендокард, що характеризується продуктивним ендокардитом, зокрема тканина клапанів серця набрякла з осередками фібриноїдного некрозу, лімфо-гістіоцитарної інфільтрації та склерозу (рис. 1).

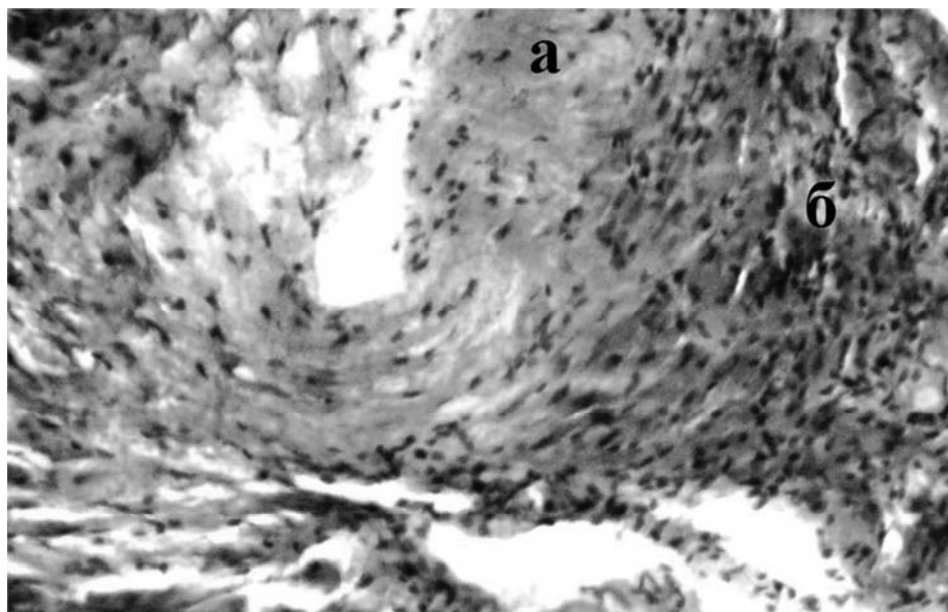


Рис. 1. Фібриноїдний некроз (а) та лімфо-гістіоцитарна інфільтрація (б) ендокарда. Через 45 днів експерименту. Гістологічний зріз міокарда з ендокардом білого щура репродуктивного віку. Заб. гематоксиліном і еозином. Зб. $\times 120$.

Зміни компактного міокарда у тварин дорепродуктивного віку меншою мірою характеризувалися дистрофічними і некротичними змінами, що головним чином проявлялися у нерівномірному забарвленні кардіоміоцитів, набуханні та гомогенізації цитоплазми та зменшенні інтенсивності поперечної посмугованості. Зазначена нерівномірність сприйняття барвників, найбільш

імовірно, зумовлена контрактурними змінами, про що свідчать дані поляризаційної мікроскопії. Поряд із контрактурами 2–3 ступенів наявні осередки міоцитолізу (рис. 2).

Зазначене положення стверджується також наявністю осередків, зафарбованих у чорний колір залізним гематоксиліном при забарвленні міокарда за Генденгайном.

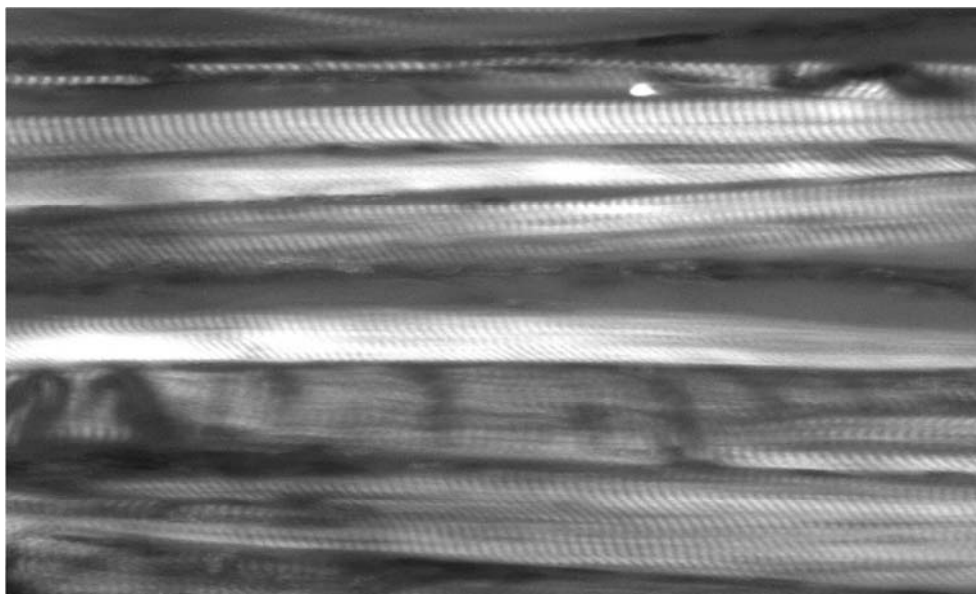


Рис. 2. Посилення анізотропії А-дисків та їх злиття. Через 45 діб експерименту. Гістологічний зріз міокарда білого щура дорепродуктивного віку. Поляризаційна мікроскопія. Зб. x120.

Проте у більшості кардіоміоцитів спостерігалось їх потовщення. Ядра таких м'язових клітин гіперхромні, збільшені в об'ємі із декількома ядерцями, зазвичай втрачають овальну форму, що свідчить про активацію процесів гіпертрофії. У поодиноких кардіоміоцитах ядра розташовані субсарколемально.

Посилення апоптичних процесів міокарда було характерним для експериментальних тварин обох вікових груп, що, на нашу думку, свідчить про

пришвидшення процесів програмованої смерті кардіоміоцитів за умов гіперурикемії, а, отже, і про участь її в у розвитку ремоделювання серця. Виявлені зміни за допомогою імуногістохімічного дослідження проявлялись зафарбовуванням цитоплазми кардіоміоцитів у рожево-коричневий колір різної інтенсивності. В деяких клітинах, особливо в тварин репродуктивного віку, спостерігали також гіперхромію та пікноз ядер (рис. 3).

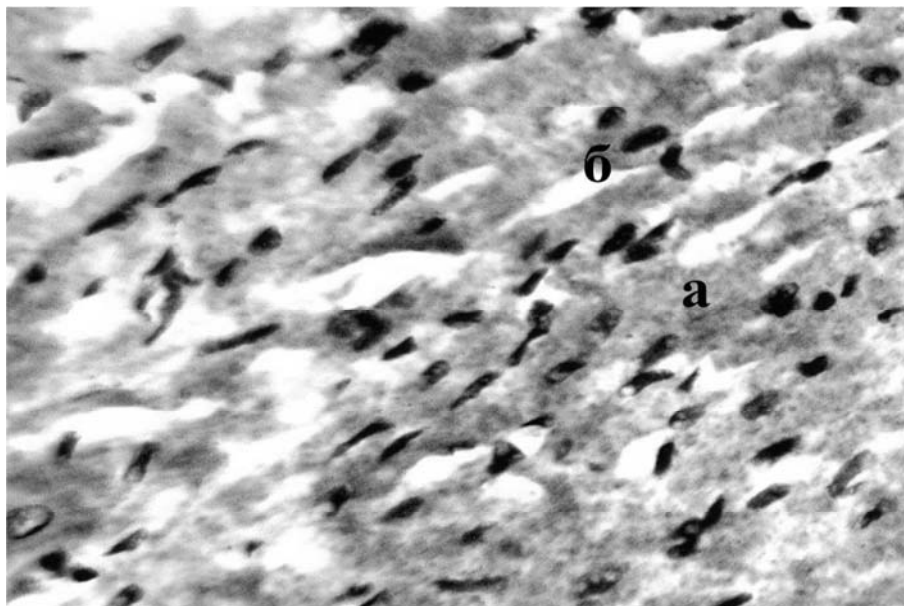


Рис. 3. Експресія білка bcl-2 цитоплазми кардіоміоцитів (а) та гіперхромія апоптичних ядер (б). Гістологічний зріз міокарда білого щура дорепродуктивного віку. Через 45 діб експерименту. Імуногістохімічний метод. Зб. x240.

Прозапальний вплив сечової кислоти, що зумовлює запально-дистрофічні зміни міокарда у тварин старшого віку і завершуються некрозом кардіоміоцитів, підтверджено даними отриманих

при фарбуванні мікропрепаратів за методикою Генденгайна та при дослідженні препаратів у поляризованому світлі. Ділянки контрактурно змінених кардіоміоцитів спостерігалися навколо

судин або мали інтрамуральне розташування на фоні периваскулярного склерозу, що, ймовірно, зумовлено посиленням гіпоксичних процесів.

Розвиток дистрофічно-некротичних змін кардіоміоцитів тварин дорепродуктивного (моло-

дого) віку при гіперурикемії ми пов'язуємо із порушенням мікроциркуляції, що зумовлено наявністю не тільки інтерстиціального та периваскулярного набряків, а і наявністю стазу в судинах гемомікроциркуляторного русла (рис. 4).

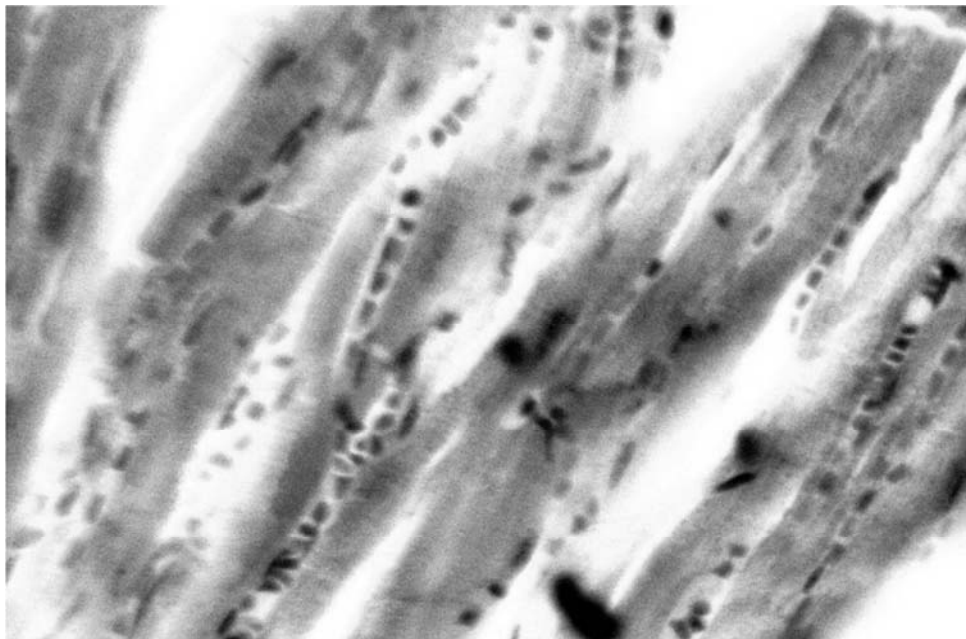


Рис. 4. Стаз у гемокапілярах міокарда. Гістологічний зріз міокарда білого щура дорепродуктивного віку. Через 45 діб експерименту. Заб. за Генденгайном. Зб. х240.

У тварин репродуктивного (зрілого) віку, навпаки, переважали процеси «зриву» компенсації. Це зумовлено наявністю м'язових волокон із посиленням звивистості та осередками цитолізу, про що свідчить відсутність посмугованості міофібрил, розпливчастість контурів ядер, розташування їх переважно ближче до саркоплазми. Поряд із потовщеними кардіоміоцитами наявні і стоншені. В стромі між ним переважала сітка із потовщених колагенових волокон.

Висновки. 1. При експериментальній гіперурикемії спостерігаються дистрофічно-некротичні зміни міокарда у поєднанні із ремоделюванням су-

дин за типом рівномірного потовщення, плазматичного просякання і склерозу стінки артеріол міокарда і переважанням компенсаторно-приспосувальних процесів, а саме – гіпертрофії кардіоміоцитів у тварин дорепродуктивного (молодого) віку та формуванням кардіосклерозу в старих.

2. Морфологічними особливостями експериментальної гіперурикемічної кардіоміопатії є поєднання дистрофічно-некротичних і компенсаторно-приспосувальних процесів міокарда із ураженням ендокарда, що проявлялося у набряку, фібриноїдному некрозі та вираженою лімфогістіоцитарною інфільтрацією.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Боднар Р.Я. Електронномікроскопічні прояви урикемічної міокардіопатії / Р.Я. Боднар, Я.Я. Боднар, П.Я. Боднар // Матеріали науково-практичної конференції «Морфологія на сучасному етапі розвитку науки» (5–6 жовтня 2012 р., м. Тернопіль). — Тернопіль: Укрмедкнига, 2012. — С. 24–25.
2. Кравчун П.Г. Гіперурикемія та ремоделювання міокарда лівого шлуночка у хворих на метаболічний синдром з хронічною серцевою недостатністю / П.Г. Кравчун, Д.В. Ольховський // Український медичний альманах. — 2008. — Т. 11, № 1. — С. 66–69.
3. Ороховська О.В. Клініко-експериментальне дослідження подагричної кардіопатії та обґрунтування патогенетичної терапії / О.В. Ороховська, В.К. Гринь, І.В. Василенко // Тези доповідей науково-практичної конференції ревматологів України «Сучасне лікування ревматичних захворювань». — Донецьк, 1996. — С. 44–45.
4. Швед М.І. Можливості корекції ремоделювання та порушень ритму серця у хворих на післяінфарктний кардіосклероз, асоційований із гіперурикемією / М.І. Швед, С.Й. Гриценко // Вісник наукових досліджень. — 2008. — № 1. — С. 34–36.
5. Швед М.І. Поєднаний вплив артеріальної гіпертензії і гіперурикемії на перебіг гострого інфаркту міокарда / М.І. Швед, Р.Я. Боднар, Н.М. Вівчар // Галицький лікарський вісник. — 2003. — Т. 10 (1), Частина II. — С. 68–69.

6. Association of hyperuricemia with conventional cardiovascular risk factors in elderly patients / T. Marotta, M. Liccardo, F. Schettini [et al.] // *The Journal of Clinical Hypertension*. — 2015. — Vol. 1, № 1. — P. 27—32.
7. Chen Chien-Chang Impact of elevated uric acid on ventricular remodeling in infarcted rats with experimental hyperuricemia / Chien-Chang Chen, Yu-Jung Hsu, Tsung-Ming Lee // *AJP. – Heart Circ. Physiol.* — 2011. — Vol. 301. — P. 101—117.
8. Feig D.I. Uric Acid and Cardiovascular Risk / D.I. Feig, D. Kang, R.J. Johnson // *N. Engl. J. Med.* — 2008. — Vol. 358. — P. 1811—1821.
9. Gagliardi A. Uric acid: a marker of increased cardiovascular risk / A. Gagliardi, M. Miname, R. Santos // *Atherosclerosis*. — 2009. — Vol. 202. — P. 11—17.
10. Lack of association between serum uric acid and organ damage in a never-treated essential hypertensive population at low prevalence of hyperuricemia / C. Cuspidi, C. Valerio, C. Sala [et al.] // *Am. J. Hypertens.* — 2007. — Vol. 20. — P. 678—685.

O.I. KRIPKA, Ya.Ya. BODNAR

I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Department of Pathological Anatomy with Dissection Course and Forensic Medicine, Ternopil

AGE PECULIARITIES OF MORPHOLOGICAL CHANGES OF EXPERIMENTAL HYPERURICEMIC CARDIOMYOPATHY

We have made the experimental hyperuricemia model in rats 4 and 12 months old and have established age morphofunctional peculiarities of hyperuricemia cardiac remodeling. The morphological cardiac changes were manifested as structural changes of cardiomyocytes, connective tissue and vessels. The degree of its expression depends on age of rats. In young animals dominated the compensatory-adaptive changes and in mature animals mostly inflammatory, necrotic and sclerotic processes were found.

Key words: hyperuricemia, cardiomyopathy, morphology, experiment

Стаття надійшла до редакції: 10.12.2014