

В.П. Ляшенко, В.І. Політаєва

Зв'язок між гіперхолестеринемією та морфологічними змінами в аорті та печінці

Исследовали некоторые механизмы связи между экзо- и эндогенной гиперхолестеринемией (ГХС) и качеством морфологических изменений аорты и печени. Экзо- и эндогенная ГХС вызывают разные морфологические изменения в аорте и печени животных, которые более выражены при эндогенной ГХС. Проведенные исследования позволяют предположить, что более существенные поражения, вызванные эндогенной ГХС, связаны с большим количеством вовлекаемых нейроэндокринных механизмов, что при экзогенной ГХС не наблюдается.

ВСТУП

За умов гіперхолестеринемії (ГХС) – фактора ризику багатьох патологічних станів організму відбувається вбудовування холестерину в мембрану клітин, що призводить до порушення їх специфічних функцій [2, 6, 8, 18]. Це характеризується збільшенням мікрров'язкості мембран [8], зниженням негативного заряду на їх поверхні [2], різким підвищенням вмісту продуктів перекисного окиснення і зменшенням вмісту антиоксидантів [15], зміною специфічної роботи ферментів мембран, активності Na^+ , K^+ - та Ca^{2+} -АТФаз [18], зниженням інтенсивності відповіді рецепторних систем мембран тощо.

Вважалося, що провідна роль у підвищенні вмісту ліпідів крові належить аліментарному фактору (надлишковому харчуванню), але згодом з'ясувалося, що велике значення в розвитку ендогенної ГХС мають і порушення обміну речовин, паління, спадковість, цукровий діабет, стрес тощо [1, 4, 6, 14, 15].

При екзо- й ендогенній ГХС вміст ліпідів у крові різний, тому можуть бути викликані відповідні порушення, що відрізняються глибиною й якістю ушкоджень.

Мета нашого дослідження – виявити направленість патологічних змін, зумовлених екзо- і ендогенною ГХС (аліментарною і стресовою) в аорті та печінці.

МЕТОДИКА

Досліди проведено на білих щурах-самцях, яких було поділено на три групи: I – контрольна (n=58); II – тварини (n=56), у яких викликали екзогенну (аліментарну) ГХС. Ці тварини щодобово отримували з їжею холестерин (0,5 г/кг), метилтіоурацил (0,1 г/кг), солі жовчних кислот (100 мг/кг). Тваринам III групи (n=76) створювали стресову ситуацію обмеження життєвого простору (80 – 100 см² на одну тварину) і доданням до їжі NaCl (2 г/кг). Це призводило до виникнення ендогенної ГХС [20].

Експеримент тривав 21 тиж з реєстрацією результатів кожні 3 тиж. У цей час тварин декапітували, для морфологічного дослідження брали аорту та печінку, у сироватці крові визначали вміст загального холестерину та холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ).

Мікроскопічне дослідження зазначених органів проводили за загальноприйнятою

методикою [16]. Досліджуваний матеріал фіксували в 10%-му розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в спирті зростаючої концентрації і заливали в парафін. Фарбування проводили гематоксилін-еозинум за методом Малорі. Перший спосіб дозволяв чітко простежити структурні зміни клітин, другий – зміни в будові колагенових і еластичних волокон. Пофарбовані зрізи заключали в полістирол. Препарати вивчали під мікроскопом Р-16.

Вміст загального холестерину в сироватці крові тварин визначали за методом Ілька [11], холестерину ЛПВЩ – після осаду ліпопротеїдів низької (ЛПНЩ) і дуже низької щільності (ЛПДНЩ) гепарином за наявністю іонів марганцю [7]. Результати експериментів обробляли статистично методом парних порівнянь. Результати оцінювались як вірогідні при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У табл. 1 показано зміни вмісту холестерину у тварин досліджуваних груп. У тварин I (контрольної) групи спостерігалися плавні коливання цього показника (1,00–2,60 ммоль/л). Для тварин даного виду, статі та віку він був у межах норми [19]. Відомо, що фізіологічна потреба в холестерині в різні життєві періоди тварин неоднакова [8]. Під час інтенсивного росту та розвитку організму холестерин використовується для створення мембран, формування гормонального статусу та процесів жовчогенезу. В наступний період – холестеринового гомеостазу – надходження і використання холестерину урівнюються.

У тварин II групи, які перебували під впливом аліментарного фактора, спостерігалася така сама динаміка вмісту загального холестерину. Однак кількісні характеристики протягом дослідження перевищували контрольні значення в 1,1 – 1,8 раза. Виключенням є тільки 21-й тиждень, коли вміст холестерину стає нижчим від контрольних значень. Така картина пов'язана з надходженням надлишкового екзогенного холестерину і включенням різноманітних компенсаторних реакцій у відповідь на аліментарний фактор. Динаміку та можливі механізми спостережуваних явищ було детально описано в наших попередніх працях [9, 10, 12]. Наголошувалося, що в останні тижні дослідження у неспецифічну відповідь організму можуть включатися механізми, характерні для стрес-реакції [13, 14, 17].

Щодо III групи тварин, які знаходилися під дією стресового фактора, то вміст холестерину у них змінювався так само, як у тварин попередніх груп. Вміст холестерину у цій групі більший (в 1,5 – 3 рази), ніж у тварин контрольної групи і навіть тварин II групи (в 1,5 – 2 рази). Тобто у відповідь на дію стресового фактора спостерігається розвиток захисно-компенсаторної реакції, одним з проявів якої є виникнення ендогенної ГХС. Як бачимо, у тварин II та III груп розвивається стійка ГХС, в основі якої лежать різні адаптивні механізми. Незважаючи на їх походження (екзо- чи ендогенне), такі зміни ліпідного спектра будуть з часом призводити до ушкодження клітин. Відомо, що всі молекулярні механізми ушкодження

Таблиця 1. Динаміка вмісту холестерину (ммоль/л) у сироватці крові щурів

Група тварин	3 тиж	6 тиж	9 тиж	12 тиж	15 тиж	18 тиж	21 тиж
I	1,47±0,10	1,86±0,05	2,02±0,08	2,29±0,24	2,43±0,17	2,96±0,21	2,61±0,18
II	1,96±0,06*	2,39±0,03*	1,97±0,07	2,42±0,10	4,43±0,07*	4,27±0,02*	2,27±0,29
III	5,07±0,11*	2,53±0,07*	3,15±0,20*	6,90±0,09*	6,64±0,31*	6,61±0,11*	6,76±0,02*

Примітка. Тут і в табл. 2 * $P < 0,05$ порівняно з контролем.

базуються на порушенні проникності та цілісності клітинних мембран [2, 5, 8, 13, 17]. У цій роботі представлено мікроскопічні дослідження органів які, з одного боку, беруть безпосередню участь у виникненні і розвитку ГХС, а з іншого – є найбільш уразливими в такій ситуації.

Мікроскопічне дослідження стінок аорти тварин контрольної групи на 21-му тижні експерименту показує помірно виражене склерозування. Контури еластичних мембран залишилися чіткими, волокна звичайної товщини. Спостерігається дещо набряклий ендотелій, збережений на всьому подовженні. Клітини печінки цих тварин мають звичайну для них будову з чіткою архітектонікою. Ядра гепатоцитів відносно мноморфні з одним-двома ядрцями.

У цей самий час дослідження (21 тиж) стінка аорти щурів II групи (рис. 1) потовщена внаслідок набряку та склерозу. Ендотелій набряклий, місцями десква-

ваний. Еластичні мембрани стоншені, дещо розпрямлені, контури їх нечіткі. Між волокнами виражена проліферація гладеньком'язових клітин і клітин сполучної тканини з вираженим поліморфізмом ядер. Частина ядер округлої, неправильної форми, відзначається феномен “вертикального розташування ядер”, тобто перпендикулярно до внутрішньої поверхні аорти. В адвентиції явище хронічного запалення з периваскулярним розташуванням округлоклітинного інфільтрату. Інфільтрат за умов запалення складається переважно з макрофагів і лімфоїдних елементів. Окремі макрофаги інфільтрують в еластичний прошарок, розташовуючись між волокнами. Еластичні волокна стоншені, прозорі, розпрямлені.

На рис. 1, б показано мікроскопічні зміни аорти тварин за умов ендогенної ГХС, викликаній дією стресового фактора. Спостерігається значне порушення цитоархітектоніки, стоншення, розщеплення, роз-

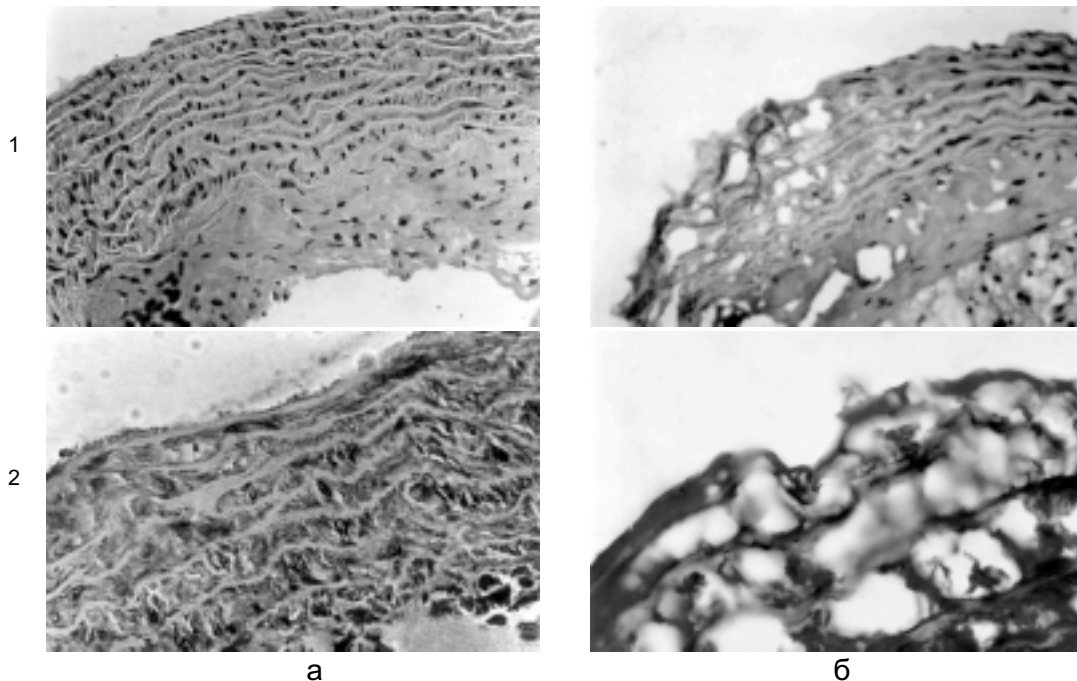


Рис. 1. Фрагмент черевного відділу аорти щура за умов екзогенної (а) та ендогенної (б) гіперхолестеринемії (21 тиж): 1 – фарбування гематоксилін-еозином. 36.х40; 2 – фарбування за Малорі – Слінченко. 36.х100

пад і дегенерація еластичних мембран, які замінюються колагеновими волокнами. Чіткі прояви порушення цілісності ендотелію внаслідок десквамації клітин. Стінка аорти з класичними проявами ксантоматозу й атероматозу. Всі ці ознаки свідчать про те, що у тварин III групи аорта підлягала більш патогенному впливу, ніж у щурів II групи.

Подібна направленість уражень підтверджується і мікроскопічними дослідженнями печінки (рис. 2). У печінці тварин II групи спостерігається порушення цитоархітекτονіки, набряк гепатоцитів через жирову дистрофію, грануляція цитоплазми. Важко визначаються синусоїди, контури балок змиті, видно місця апоптозу деяких гепатоцитів.

Водночас у печінці тварин III групи картина більш виразна (див. рис. 2, в). Простежується поліморфізм ядер клітин,

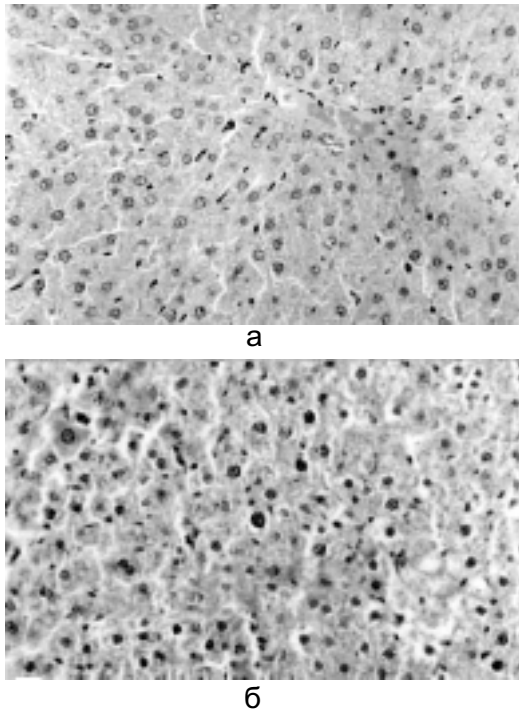


Рис. 2. Фрагмент печінки досліджуваних тварин (21 тиж): а – за умов екзогенної гіперхолестеринемії; б – за умов ендогенної гіперхолестеринемії. Фарбування гематоксилін-еозином. 36.×40

котрі мають гранулярну цитоплазму та всі ознаки жирової і гідропічної дистрофії. Печінкових балок зовсім не видно, синусоїди нерівномірної ширини, в їх просвіті – гранулярний матеріал.

Такі структурно-морфологічні зміни аорти і печінки за умов екзо- й ендогенної ГХС дозволяють припустити декілька можливих механізмів досліджуваних явищ. По-перше, більш високий рівень ГХС, що спостерігається в III групі тварин, може викликати і більш уразливу картину ушкоджень відносно тварин II групи. По-друге, при екзо- й ендогенній ГХС, очевидно, різні вміст ліпідів у крові і морфологічні зміни. По-третє, стресовий фактор, що викликає ендогенну ГХС, може мати більш патогенну дію, оскільки включає нервогуморальний компонент, який в результаті призводить до активації цілої низки факторів, які діють через ліпідні, кальцієві, електролітно-осмотичні, ацидотичні та інші механізми ушкодження клітини. На відміну від стресового, аліментарний фактор включає в основному ліпідні механізми ушкодження без суттєвих змін нейроендокринного статусу.

Для того, щоб підтвердити чи скасувати ці припущення, ми вивчили ліпідний спектр крові у тварин досліджуваних груп. Його зміни за умов аліментарної ГХС детально вивчені в дослідженнях на щурах [8, 19] і інших тваринах [3, 5, 6]. У тварин з ендогенною ГХС, яка викликана стресовими впливами, збільшення вмісту загального холестерину супроводжується і збільшенням вмісту холестерину ЛПВЩ (табл. 2). Таким чином, з 3-го по 12-й тижні дослідження загальний вміст холестерину у тварин III групи перевищував відповідні значення у тварин контрольної групи в 1,4 – 3 рази. Водночас вміст холестерину ЛПВЩ – в 2 – 3,4 раза. На 15 – 21-му тижнях дослідження вміст холестерину, який був вищим за контроль в 2,2 – 2,7 раза також супроводжується збільшенням вмісту хо-

лестерину ЛПВЩ, який більший від контролю в 1,7 – 2,3 рази. Тобто на початкових етапах дослідження у тварин III групи вміст холестерину ЛПВЩ збільшується швидше, ніж загального холестерину, а на останніх етапах дослідження – навпаки. Відсоток холестерину ЛПВЩ від загального холестерину у цій групі тварин на 3 – 12-му тижнях дослідження більший, а на 15 – 21-ому – менший, ніж у тварин контрольної групи.

Проаналізувавши результати ми припускаємо наступний механізм цих явищ. У наших дослідженнях ендогенна ГХС є вторинною до нейроендокринних зрушень, викликаних дією стресового фактора. Вірогідно, що зміни вмісту холестерину і холестерину ЛПВЩ збігаються зі стадіями стресової реакції і виділенням “гормонів стресу” – глюкокортикоїдів і катехоламінів [3, 14, 15, 17, 20]. Щодо ліпідного обміну, то дія цих гормонів неоднакова в різних органах, до того ж ефект глюкокортикоїдів не збігається з дією паралельно виділених АКТГ, ліпотропного гормону і катехоламінів [3, 17]. Глюкокортикоїди діють як стимулятори ліполізу в адипоцитах, спричиняють пермисивну підсилювальну дію на ефект катехоламінів. Самі катехоламіни є сильними ліпомобілізуючими факторами, які підсилюються АКТГ, глюкагоном і прямими симпатичними впливами. Ці реакції особливо проявляються в ранню фазу гострої відповіді на стрес при низькому вмісті ін-

суліну [15, 17]. За умов тривалого стресу буде спостерігатися підвищення вмісту ЛПНЩ, оскільки глюкокортикоїди у високих концентраціях знижують кількість апо-В-рецепторів, які беруть участь у захопленні та кліренсі ЛПНЩ [6]. У пізню фазу резистентності та фазу виснаження під впливом АКТГ відбувається суттєве підвищення продукції та вивільнення інсуліну, який призводить до посилення анаболізму і ліпогенезу. Крім того, інсулін є сильним детергентом для клітинних мембран [17]. Не можна забувати і про різну дію глюкокортикоїдів і катехоламінів на перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) – глюкокортикоїди стимулюють антиоксидантні системи і блокують ПОЛ [5, 13], катехоламіни збільшують інтенсивність процесів, що дезінтегрують мембрани і сприяють ПОЛ [18]. Усе це свідчить про те, що важливим аспектом змін ліпідного спектру крові за умов стресу є балансова модуляція структури плазматичних мембран у різних клітинах, що є результатом протилежних ефектів глюкокортикоїдів і катехоламінів на ліпідний аспект метаболізму [2, 3, 5, 17].

Отже, результати наших досліджень показують, що у тварин III групи патогенними агентами є як стрімкий і інтенсивний розвиток ендогенної ГХС, так і залучення до цього процесу інших дезінтегруючих факторів, зумовлених змінами нейроендокринного статусу при стресі. Це підтверджується і мікроско-

Таблиця 2. Динаміка вмісту холестерину лінопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ) у сироватці крові щурів

Група тварин, показник	3 тиж	6 тиж	9 тиж	12 тиж	15 тиж	18 тиж	21 тиж
I група							
ХС ЛПВЩ,							
ммоль/л	0,80±0,05	1,03±0,08	1,14±0,10	1,42±0,05	1,59±0,12	2,11±0,08	1,87±0,05
% від загального	54,47±3,61	55,34±4,03	56,40±5,01	62,03±2,28	65,38±5,09	71,21±2,65	71,54±2,03
III група							
ХС ЛПВЩ,							
ммоль/л	3,63±0,28*	2,15±0,07*	2,90±0,33*	4,76±0,16*	2,98±0,45*	3,62±0,23*	4,45±0,43*
% від загального	71,67±5,59*	84,93±2,74*	92,16±10,65*	68,98±2,26*	44,79±6,77*	54,71±3,40*	65,73±6,39

під час контролю структурних змін аорти та печінки. У тварин III групи з початку дослідження спостерігалось збільшення не тільки глибини, а й швидкості розвитку патологічних змін в аорті і печінці порівняно з тваринами II групи. Тому можна зробити висновок, що ушкоджуючий ефект ендогенної ГХС порівняно з екзогенною пов'язаний із залученням низки механізмів, зумовлених нейроендокринними змінами.

V. P. Lyashenko, V. I. Politaeva

RELATIONS OF EXOGENIC AND ENDOGENIC HYPERCHOLESTERINEMIA WITH MORPHOLOGICAL CHANGES IN AORTA AND LIVER

Effects of exogenic and endogenic hypercholesterinemia on morphological structure of aorta and liver were investigated. Both exogenic and endogenic hypercholesterinemia have been shown to induce different morphological changes in tissues of the aorta and the liver which were more expressed at endogenic hypercholesterinemia, as compared to exogenic one. The data obtained suggest that more pronounced impairments in the tissues examined which led to endogenic hypercholesterinemia were the result of a great number of neuroendocrine mechanisms involved in a stressful reaction.

Dnepropetrovsk National University

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гавриш А. С., Сергиенко О. В., Лисовец М. А., Лишнева В. Ю. Структурно-метаболические изменения эндотелия сосудов и тромбоцитов при комплексном воздействии хронической гиперхолестеринемии и стресса // Укр. кардіол. журн. – 1999. – № 5. – С. 25 – 31.
2. Геннис Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функция. – М.: Наука, 1997. – 472 с.
3. Данилов Г. Е., Брындина И. Г., Исакова Л. С. и др. Стабильные гомеостатические константы и эндокринный статус при хроническом нейрогенном стрессе и стресс-протекторных воздействиях // Архив клин. и эксперим. медицины. – 2000. – 9, №1. – С. 71 – 74.
4. Дмитренко С. А. Роль психоэмоционального стресса в развитии артериальной гипертензии // Укр. мед. журн. – 1999. – № 13.
5. Ігрунова К. М., Зозуля І. С., Ігрунов Л. П., Ігрунова К. Л. Пошкодження біомембран міокарда при стресі // Фізіол. журн. – 1998. – 44, №4. – С. 78 – 79.
6. Климов А. И., Никульчева Н. Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. – СПб.: Питер, 1995. – 298 с.
7. Колб В. Г., Камышников В. С. Справочник по клинической химии. – Минск.: Беларусь, 1982. – 360 с.
8. Лопухин Ю. М., Арчаков А. И., Владимиров Ю. А., Коган Э. М. Холестериноз. – М.: Медицина, 1983. – 352 с.
9. Ляшенко В. П., Лукашев С. Н., Політаєва В. І. Роль стрессового фактора в процесі патогенезу атеросклерозу // Архив клин. и эксперим. медицины. – 2001. – 10, №2. – С. 183.
10. Ляшенко В. П., Лукашов С. М., Політаєва В. І. Динаміка вмісту загального холестерину та морфологічні зміни аорти за умов стресу різного генезу // Фізіол. журн. – 2002. – 48, №2. – С. 72.
11. Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
12. Мірошніченко А. А., Ляшенко В. П., Лукашов С. М. Вплив стресу різного генезу на накоплення кальцію в печінці та її функціональну активність // Фізіол. журн. – 2002. – 48, №5. – С. 22 – 27.
13. Мхитарян Л. С., Орлова Н. Н., Евстратова И. Н. и др. Влияние острого и хронического стрессорного воздействия на структурно-функциональное состояние мембран кардиомиоцитов и форменных элементов крови // Укр. кардіол. журн. – 1998. – № 5. – С. 47 – 51.
14. Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса. – Новосибирск.: Наука, 1983. – 234 с.
15. Пшенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2000. – №3. – С. 20 – 26.
16. Саркисов Д. С., Перов Ю. Л. Микроскопическая техника. – М.: Медицина, 1996. – 542 с.
17. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. – М.: Мир, 1989. – 656 с.
18. Титов В. Н. Атеросклероз – патология полиеновых жирных кислот // Клин. лабор. диагностика. – 2001. – № 1. – С. 3 – 9.
19. Трахтенберг И. М., Сова Р. Е., Шефтель В. О., Оникиенко Ф. А. Проблема нормы в токсикологии. – М.: Медицина, 1991. – 206 с.
20. Патент на винахід UA-7-G09B23/28, №43978A від 15.01.02, Держпатент України, Спосіб моделювання атеросклерозу // Ляшенко В. П., Лукашов С. М., Зорова Ж. В., Політаєва В. І.

Дніпропетров. нац. ун-т М-ва освіти України

Матеріал надійшов до редакції 8.07.2003