

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 1(13)
2015 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в:

- Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)
- Перечень журналов и изданий ВАК Минобрнауки РФ (редакция май 2012 г.)

Журнал зарегистрирован

Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 14.04.15.
Формат 60×90/8. Бумага офсетная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 211 экз.
Усл. печ. л. 19,5. Уч.-изд. л. 9,7.
Зак. 1353.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и экологии
человека»
ЛИ № 02330/619 от 3.01.2007 г.
Продлена до 03.01.2017

Отпечатано в Филиале БОРБИЦ
РНИУП «Институт радиологии».
220112, г. Минск,
ул. Шпилевского, 59, помещение 7Н

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., зам. гл. редактора), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Бемяковский (д.м.н., профессор), Ю.В. Висенберг (к.б.н., отв. секретарь), Н.Г. Власова (д.б.н., доцент, научный редактор), А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веялкин (к.б.н.), В.В. Евсеенко (к.пс.н.), С.В. Зыблева (к.м.н.), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаев (к.м.н.), А.Н. Лызииков (д.м.н., профессор), А.В. Макарьчик (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), М.Г. Русаленко (к.м.н.), А.Е. Силин (к.б.н.), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), А.Н. Цуканов (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н.)

Редакционный совет

В.И. Жарко (министр здравоохранения Республика Беларусь, Минск), А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), Ю.Е. Демидчик (д.м.н., член-корреспондент НАН РБ, Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., Минск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор, Киев), В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции

246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНИЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbr.rcrm.by> e-mail: mbr@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический
центр радиационной медицины и
экологии человека», 2015

№ 1(13)

2015

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Обзоры и проблемные статьи

Н.Г. Власова, А.В. Рожко, Ю.В. Висенберг
Анализ данных каталога средних годовых эффективных доз облучения жителей населенных пунктов Республики Беларусь 6

Медико-биологические проблемы

В.С. Аверин
Формирование доз внешнего и внутреннего облучения объектов агроэкосистемы при эксплуатации белорусской атомной электростанции 12

Т.В. Андрияшина, Е.А. Саратовских, В.С. Пятенко, И.К. Хвостунов, Е.Ф. Исакова, С.В. Котелевцев
Результаты оценки токсичности и генотоксичности почвы при обследовании загрязненных территорий Орловской области 19

Т.И. Белихина, Т.Ж. Мулдагалиев, Р.Т. Булеуханова, В.К. Нургалиева, Ж.К. Жагипарова
Сравнительный анализ показателей заболеваемости населения Казахстана, проживающего на территориях, прилегающих к ядерным полигонам 30

С.Г. Криворот, Т.Э. Владимирская, И.А. Швед, С.А. Новаковская
Гистологический, гистохимический, ультраструктурный и морфометрический анализ изменений интимы аорты кроликов на фоне холестериновой нагрузки 39

Э.В. Могилевец, П.В. Гарелик, С.С. Ануфрик, Н.И. Прокопчик
Влияние фотодинамической терапии на гистологическую структуру печени и биохимические показатели крови при CCl_4 -индуцированном гепатите, как стадии формирования цирроза 48

В.П. Невзоров, В.И. Чучко, В.Н. Сушицкий, А.П. Бирюков
Методические возможности совершенствования экспертизы оценки влияния экстремальных ситуаций на состояние здоровья населения 57

Reviews and problem articles

N.G. Vlasova, A.V. Razhko, Yu.V. Visenberg
Analysis of catalog of average annual effective doses in residents of settlements of the Republic of Belarus

Medical-biological problems

V.S. Averin
External and internal dose' forming for agroecosystems objects while belarusian nuclear power plant operation

T.V. Andriyashina, E.A. Saratovskikh, V.S. Pyatenko, I.K. Khvostunov, E.F. Isakova, S.V. Koteltsev
The estimation of toxicity and genotoxicity of natural soil located in the territory of Orel region by different biological benchmarks

T.I. Belikhina, T.Zh. Muldagaliev, R.T. Buleuhanova, V.K. Nurgaliev, Zh.K. Zhagiparova
Comparative analysis of morbidity rate of Kazakhstan's population living on the territory adjacent to the nuclear test site

S. G. Kryvorot, T. E. Vladimirskaia, I.A. Shved, S.A. Novakovskaya
Histological, histochemical, ultrastructural and morphometric analysis of intima in rabbit aorta during cholesterol loading

E.V. Mahiliavets, P.V. Garelik, S.S. Anufrik, N.I. Prokopchik
The effect of photodynamic therapy on histological structure of the liver and blood biochemical parameters in CCl_4 -induced hepatitis, as the stage of the development of the cirrhosis

V.P. Nevzorov, V.I. Chuchko, V.N. Sushitskiy, A.P. Biryukov
Methodological possibilities improvement examination of evaluation of extreme situations health status

- Эль-Рефай Хусам, В.П. Ситников, Э.А. Надыров, С.В. Шилько**
Морфологические результаты использования протезов на основе модифицированного фторопласта с алмазоподобным нанопокрывтием в хирургии уха (экспериментальное исследование) 63

Клиническая медицина

- О.П. Грошева, А.В. Величко**
Лабораторные предикторы вторичного гиперпаратиреоза на разных стадиях хронической болезни почек и после ренальной аллотрансплантации 71
- А.Г. Карапетян**
Оценка эндокринных изменений у ликвидаторов ЧАЭС в раннем и отдаленном поставарийном периоде 78
- А.С. Князюк, Э.А. Надыров, Д.Н. Бонцевич, Д.А. Зиновкин**
Новый антибактериальный шовный материал: морфологическая оценка биологического действия на органы и ткани 87
- А.Б. Малков**
Доклиническая диагностика дистальной диабетической полинейропатии нижних конечностей 96
- А.Н. Михайлов, И.С. Абельская, Т.Н. Лукьяненко**
Роль количественной компьютерной томографии в оценке архитектоники костных структур у пациентов с остеохондрозом шейного отдела позвоночника 104
- Е.П. Науменко, И.Э. Адзериho, А.В. Коротаев**
Исследование показателей сократимости миокарда левого желудочка по данным спекл-трекинг эхокардиографии у пациентов с ишемической болезнью сердца в сочетании с сахарным диабетом 2 типа 112

- El-Refai Hoosam, V.P. Sitnikov, E.A. Nadyrov, S.V. Shil'ko**
The morphological results use of prostheses based on modified teflon with dlc-nanocoating in ear surgery (experimental study)

Clinical medicine

- O.P. Grosheva, A.V. Velichko**
Laboratory predictors of secondary hyperparathyroidism at the different stages of chronic kidney disease and after renal allotransplantation
- A.G. Karapetyan**
Evaluation of endocrine changes in liquidators: the early and late post-accident period
- A.S. Kniaziuk, E.A. Nadyrov, D.N. Bontsevich, D.A. Zinovkin**
New antibacterial sutural material: morphological evaluation of biologic effect on organs and tissues
- A. Malkov**
Preclinical diagnostics of distal diabetic polyneuropathy of lower extremities
- A.N. Mikhailov, I.S. Abelskaya, T.N. Lukyanenka**
The role of quantitative computed tomography in the evaluation of the architectonics of bone structures in patients with osteochondrosis of the cervical spine
- E. Naumenko, I. Adzeriho, A. Korotaev**
Study of the parameters of myocardial contractility of the left ventricle according to the speckle-tracking echocardiography in patients with coronary heart disease combined with type 2 diabetes

Н.М. Оганесян, А.Г. Карапетян, К.В. Асрян, М.И. Мириджанян, М.Г. Шахмурадян, Н.Р. Давидян

Лечение жителей Армении, пострадавших в результате аварии на Чернобыльской АЭС

118

В.В. Татчихин, В.В. Аничкин

Функциональные результаты эндооральных резекций при раке языка и слизистой оболочки дна полости рта

125

Н.А. Филиптова, А.П. Сиваков, Т.С. Петренко
Влияние комбинированного воздействия гидромагнитотерапии и пневмокомпрессионной терапии на антиоксидантную систему больных сахарным диабетом

132

Обмен опытом

В.П. Невзоров, М.А. Круглова, Т.М. Буланова, С.С. Фаткина, С.В. Тхоровский, А.П. Бирюков

Основные принципы формирования учебных задач по радиационной эпидемиологии для повышения квалификации специалистов в рамках института последиplomного профессионального образования ФМБА России

138

Правила для авторов

144

N.M. Hovhannisyan, A.G. Karapetyan, K.V. Asryan, M.I. Mirijanyan, M.G. Shakhmuryan, N.R. Davidyan

Treatment of Armenian citizens injured in the Chernobyl NPP accident

V.V. Tatchihin, V.V. Anichkin

Functional results of endo-oral tongue resection and mucosa of the mouth floor in cancer

N.A. Filiptsova, A.P. Sivakov, T.S. Petrenko

The influence of combined effect of hydromagnetic and pneumocompression therapy on antioxidant system of patients with diabetes mellitus

Experience exchange

V.P. Nevzorov, M.A. Kruglova, T.M. Bulanova, S.S. Fatkina, S.V. Thorovsky, A.P. Biryukov

The basic principles of formation of learning tasks in radiation epidemiology for training at the Institute of Postgraduate Professional Education of the Federal Medical-Biological Agency of Russia

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ, ГИСТОХИМИЧЕСКИЙ, УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ ИНТИМЫ АОРТЫ КРОЛИКОВ НА ФОНЕ ХОЛЕСТЕРИНОВОЙ НАГРУЗКИ

¹ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Беларусь

²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси» г. Минск, Беларусь

В статье изложены результаты экспериментальных исследований влияния холестериновой нагрузки на формирование атерогенных повреждений интимы аорты кроликов. На основании морфологического изучения установлено, что на стадии инициации и начальных стадиях (1-7е сутки) экспериментального атерогенеза происходит активация, апоптоз и усиленная десквамация эндотелиоцитов; на 7-15е сутки формирования атеросклеротических повреждений отмечены явления компенсаторной реакции (конгломераты эндотелиальных клеток (ЭК), при наиболее интенсивном апоптозе ЭК прослеживалась тенденция к увеличению гиперплазии интимы); при прогрессировании атеросклеротического процесса (30-60е сутки) выявлено снижение апоптотического индекса ЭК, обусловленное переходом клеток из поздней стадии апоптоза в некроз.

Ключевые слова: апоптотический индекс, интима, холестериновая нагрузка, эндотелий

Введение

Диагностика, лечение и профилактика атеросклероза остаются важнейшей задачей современной медицины. Формирование атеросклеротических поражений представляет собой стадийный процесс, который сопровождается деструкцией эндотелия, базальной мембраны интимы, эластических и коллагеновых волокон, что способствует повышению проницаемости интимы, миграции и пролиферации гладкомышечных клеток (ГМК), увеличению содержания компонентов соединительнотканного экстрацеллюлярного матрикса в интимае [1, 2]. Существенный вклад в гиперплазию интимы вносит накопление протеогликанов и липидов в сосудистой стенке [3]. Нарушение целостности эндотелиального пласта (эрозии) интимы расценивается как нестабильность атеросклеротических поражений интимы [4]. Известно, что до клинических проявлений атеросклероза в интимае артерии запускается сложный патологический механизм формирования атеромы, все звенья которого до сих пор четко не выяснены. Для

изучения механизмов атеросклеротических изменений широко используется экспериментальное воспроизведение изменений сосудов, сходных с атеросклерозом человека, достигаемое путем кормления животных пищей, богатой холестерином или чистым холестерином в растворе на растительном масле [5]. Использование животных в опытах по воспроизведению экспериментального атеросклероза позволяет детально провести анализ атерогенных изменений сосудистой стенки на всех стадиях формирования данной патологии.

Целью данного исследования было раскрыть генез формирования атерогенных повреждений интимы на основании морфологического изучения изменений стенки аорты экспериментальных животных под влиянием холестериновой нагрузки и в динамике.

Материал и методы исследования

Исследования проведены на 40 нелинейных кроликах-самцах с исходной массой тела 2,2–3,2 кг, содержащихся в стандартных условиях вивария. Эксперимент выполнен в соответствии с техническим

кодексом установившейся практики «Надлежащая лабораторная практика» ТКП 125-2008 (02040)), международными рекомендациями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях от 18 марта 1986 г. и методическими рекомендациями «Правила работы с использованием экспериментальных животных» (утв. 16.06.2004 г. ректором «Белорусская медицинская академия постдипломного образования»).

Отбирали активных животных, с гладким, блестящим шерстным покровом, нормальной окраской видимых слизистых оболочек, охотно поедающих корм. Из общей партии отобранных животных были сформированы 5 равноценных групп по 8 кроликов: 1-я (контрольная) группа – интактные животные, получавшие стандартный рацион (водный режим обеспечивался свободным доступом к поилкам; основной рацион: зерно, овощи, сено, комбикорм) и четыре опытные группы, получавшие дополнительно к стандартному рациону в течение 7, 15, 30 и 60 суток холестериную диету, разработанную Н. Н. Аничковым (95% высокоочищенный холестерин (Acros Organics V.V.V.A., Бельгия) 200 мг на 1 кг массы животного, который разводили в теплом подсолнечном масле [5]). До начала эксперимента животные находились под карантинным наблюдением в течение трех недель. Накануне моделирования экспериментальной дислипидемии животные были лишены корма в течение 24 часов. По истечении срока эксперимента животных (опытных и контрольных) выводили из опыта путем внутрибрюшинного тиопенталового наркоза из расчета 1 мл 5% тиопентала натрия на 100 грамм веса животного.

Для морфологических исследований брали сегменты дуги и грудного отдела аорты. Готовились парафиновые срезы толщиной 3 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином, по Массону (трихром), суданом черным В на липиды. Для иммуноцитохимического типирования эндотелиальных клеток (ЭК) использовали поликло-

нальные антитела к фактору Виллебранда (ФВ), anti-FvW (разведение 1:400; Abcam, Великобритания), гладкомышечных клеток (ГМК) – моноклональные антитела к гладкомышечному актину человека, anti-h α -SMA (разведение 1:400; R&DSYSTEMS, США). Для выявления апоптоза ЭК TUNEL методом применяли коммерческий набор VasoTACS™ In Situ Apoptosis Detection Kit (TREVIGEN, США). Микроскопическое исследование и изготовление микрофотографий проводили с помощью микроскопа Leica DMLS с программным обеспечением и цифровой камерой JVC (Германия). Изготовленные препараты подвергались обзорной микроскопии, при которой оценивались строение стенки аорты, состояние эндотелиальной выстилки, наличие патологических изменений. Для проведения электронно-микроскопического метода исследования фрагменты аорты фиксировали в растворе, состоявшем из 3%-ного глутарового альдегида и 1%-ного параформы, после чего материал измельчали и обрабатывали 2%-ным раствором OsO₄ (четыреохлорид осмия). После промывания 0,1 М фосфатным буфером материал обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и заключали в аралдит по схеме, изложенной в руководстве Боголепова Н.Н. (1976). Материал выдерживали в термостате при 56°C до полной полимеризации аралдита и дальнейшего анализа под электронным микроскопом JEM 100C (Япония).

Апоптотический индекс ЭК аорты (АИЭК) рассчитывали при увеличении 1000 по формуле [6]:

$$\text{АИЭК, \%} = 100\% \times \left(\frac{\text{количество TUNEL-положительных ядер ЭК в поле зрения}}{\text{общее количество ядер ЭК в поле зрения}} \right)$$

Толщину интимы (Lia, мкм) измеряли при увеличении 400 используя программу ImageJ 1.47j (Rasband, W. S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, США, <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2014.).

Для статистической обработки данных использовали пакет прикладных программ Statistica v. 6.0 (StatSoft Inc., 2006, США). Результаты исследования проверя-

ли на нормальность распределения с помощью W-теста Шапиро-Уилка. Различия между выборками оценивали, используя Н-критерий Краскела-Уоллиса (более двух независимых групп), U-тест Манна-Уитни (две независимые группы). Данные представлены в виде Me [25; 75] (медиана, межквартильный интервал). Взаимосвязь между изучаемыми признаками оценивалась с применением рангового корреляционного анализа Спирмена, rs. При всех видах статистического анализа уровень значимости составлял 95% ($p < 0,05$) [7]. Все исследования проведены на базе Научно-исследовательской лаборатории ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Результаты исследования

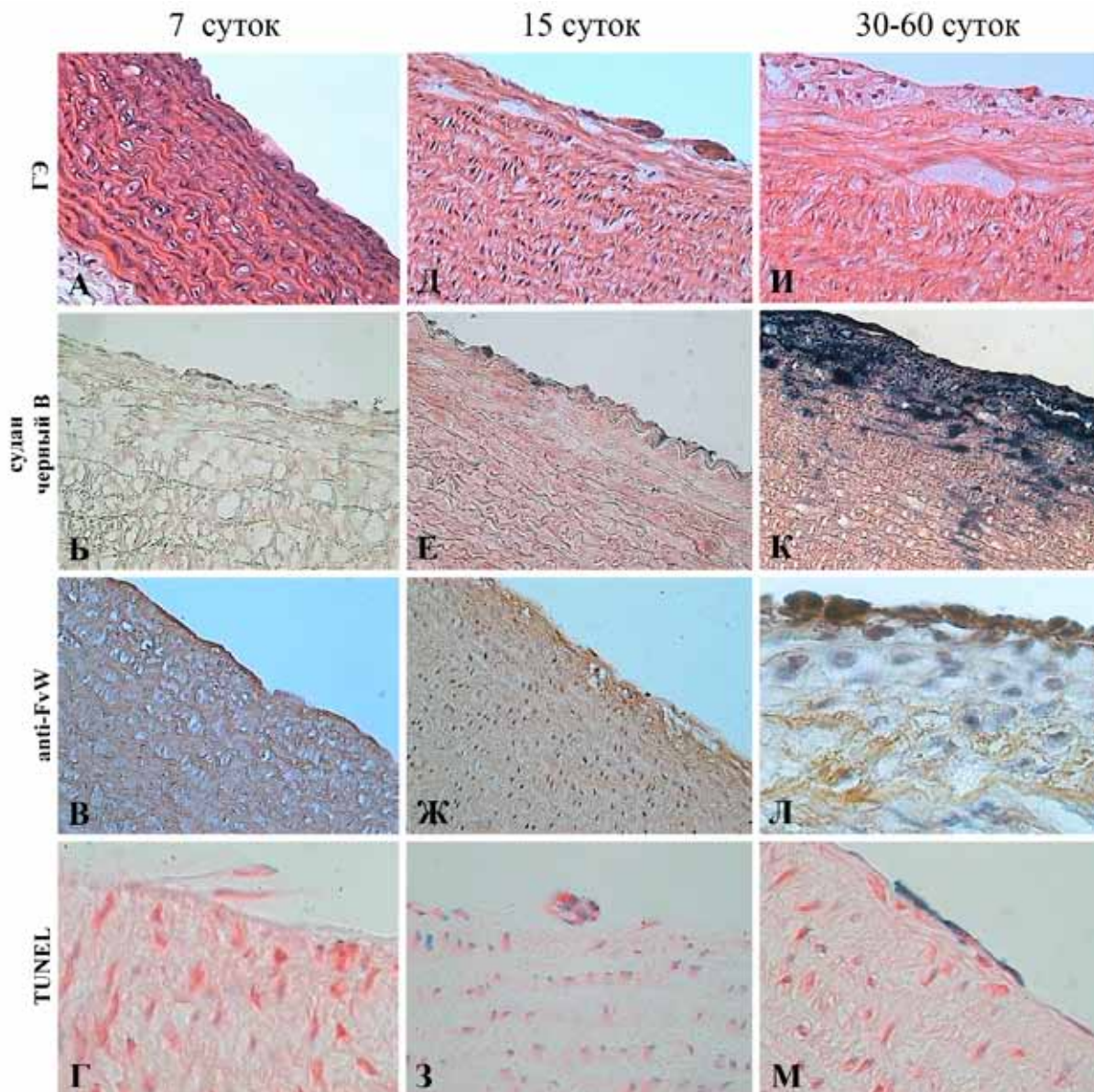
Исследование гистоструктуры стенки аорты контрольных животных показало соответствие ее строения имеющимся в литературе описаниям [5], согласно которым в норме интима аорты кроликов представлена эндотелием и субэндотелиальным слоем, в котором располагалась лишь тонкая прослойка основного вещества, содержащая единичные клетки – в среднем одну ГМК на 3-4 ЭК и один моноцит на 8-10 ЭК, и единичные фибробласты. В участках усиленного кровотока отмечалась пролиферация ЭК и утолщение интимы за счет гиперплазии эластических и коллагеновых волокон и клеток: фибробластов, ГМК. Во всех контрольных образцах аорты хорошо визуализировались эластические мембраны (ЭМ), окраска суданом черным В на липиды не выявила суданофильных веществ в цитоплазме клеток. Интенсивность окраски к ФВ определялась как умеренно и сильно выраженная, обнаруживались единичные слабоокрашенные TUNEL-позитивные ЭК.

Гистологический анализ стенки аорты кроликов через 7 суток эксперимента выявил умеренно выраженные изменения: набухание и/или гиперхромия ЭК, конденсация хроматина, миграция ГМК в субинтимальный слой, диффузно-очаговое или

распространенное формирование неинтимы (рисунок 1А, Б) с наличием единичных пенистых макрофагов. В образцах при окраске к ФВ отмечалась прерывистость эндотелиальной выстилки с участками десквамации ЭК, в которых при исследовании TUNEL методом конденсация хроматина в виде мелких глыбок выявлялась ближе к периферии ядра (рисунок 1В, Г).

Электронно-микроскопические исследования показали нарастание деструктивных процессов в клетках эндотелиального слоя интимы, разрушение ЭК аорты и разрастание вокруг очагов деструкции соединительной ткани (рисунок 2А). В ядрах интимальных клеток наблюдалось перераспределение гетерохроматина с формированием осмиофильных краевых скоплений повышенной электронной плотности, деструкция митохондрий, появление внутриклеточных липидных капель, мелких гранул гликогена. В толще коллагеновых разрастаний подэндотелиального слоя интимы отмечалось формирование ксантомных клеток, нагруженных липидными каплями и мелкими гранулами холестерина, также выявлялись объемные электронноплотные липидные включения, примыкающие к некротически измененным клеткам интимальной оболочки аорты.

Через 15 суток эксперимента микроскопически визуализировались очаги гиперплазии интимы, состоящие из тонких, рыхло расположенных коллагеновых волокон и поврежденной эндотелиальной выстилки в виде набухших ЭК с неоднородной цитоплазмой, участки с мелкоочаговой адгезией клеток крови и мелкими каплями жира, отмечалось образование конгломератов из дегенеративно измененных ЭК и с TUNEL-позитивными ядрами (рисунок 1Д, 3). На участках аорты без выраженных гистологических изменений ЭК, формировавшие практически непрерывный пласт, были несколько уплощены, с очаговой резкой гиперхромией ядер (кариопикноз). В ряде наблюдений прослеживалась повышенная миграция ГМК меди и в интиму и подэндотелиальный слой. При



Окраска гематоксилин-эозином (А, Д, И). Окраска суданом черным В (Б, Е, К). Позитивная иммуногистохимическая реакция к ФВ (В, Ж, Л). Метод TUNEL (Г, З, М). ГИ – гиперплазия интимы, М – медия. $\times 400$ (А-В, Д-Ж, И, К), $\times 1000$ (Г, З, Л, М)

Рисунок 1 – Морфологические изменения интимы аорты кроликов в разные сроки холестериневой нагрузки

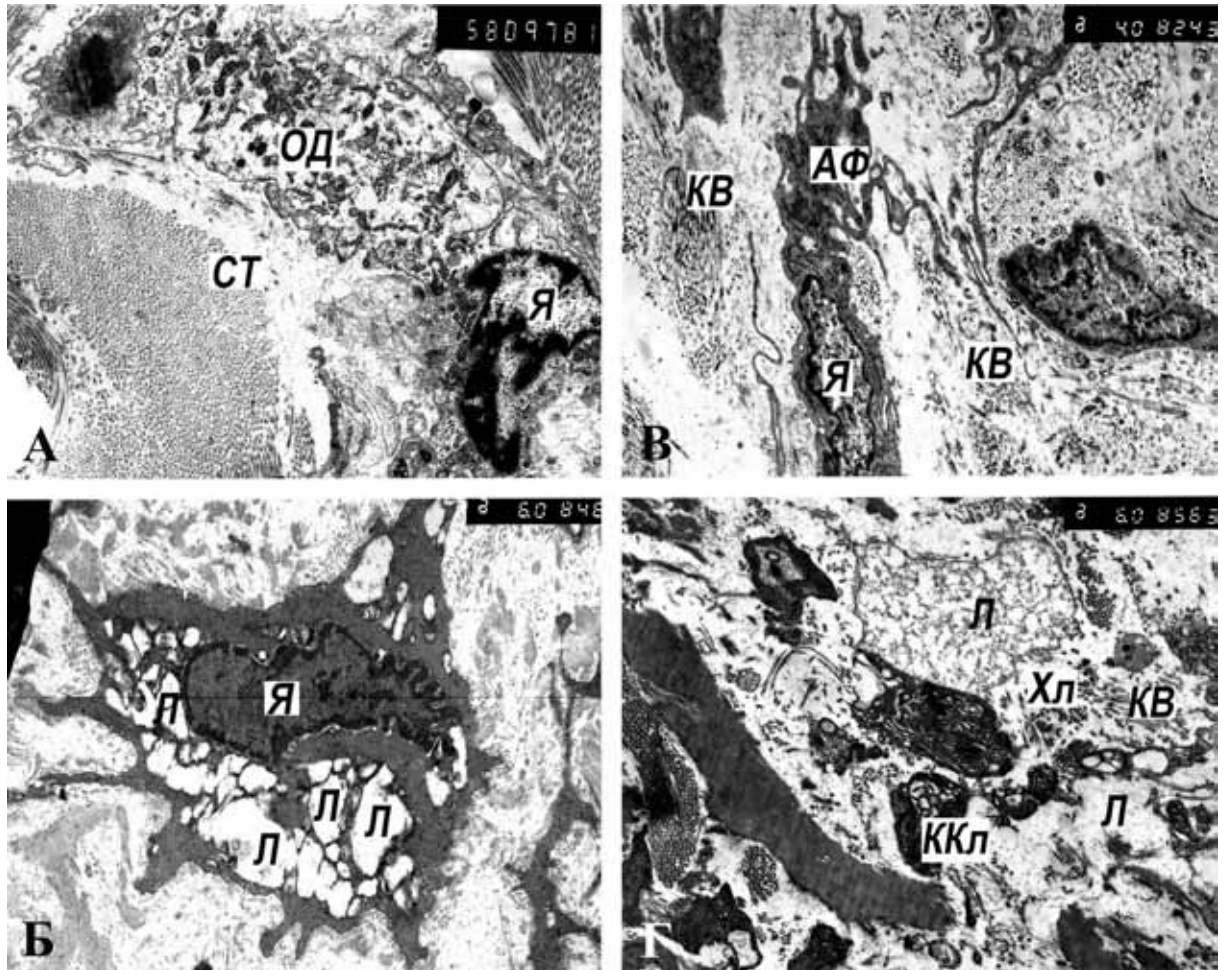
окраске суданом черным на липиды в очагах гиперплазии интимы отмечалось появление мелких капель жира (рисунок 1Е). Иммуногистохимически выявлялось диффузное окрашивание субэндотелиального слоя к ФВ (рисунок 1Ж), которое может быть обусловлено синтезом ФВ в сторону субэндотелия, где он, связываясь с коллагеном, включается в состав экстрацеллюлярного матрикса [8] и способствует прикреплению к коллагену субэндотелия адгезированных тромбоцитов [9].

На данном этапе эксперимента при электронно-микроскопическом исследовании в эндотелиальном и подэндотелиальном слоях интимы аорты обнаруживалось появление объемных липидных капель, которые заполняли не только межклеточное пространство между малодифференцированными интимальными и эндотелиальными клетками, но и откладывались в их цитоплазме (рисунок 2Б).

На 30 сутки эксперимента определялась очаговая гиперплазия интимы за счет

волокнутого компонента, в котором преобладали коллагеновые волокна; эластические волокна отмечались в меньшем количестве. В ряде наблюдений равномерная полоса гиперплазированной интимы была сформирована по всей площади микропрепарата, наблюдались повышенная пролиферация и миграция ГМК в субинтимальный слой, очаговая гипертрофия ГМК, вакуолизация их цитоплазмы, регистрировались крупные клетки с неоднородной, чаще пенистой, цитоплазмой и небольшим, эксцентрично расположенным, ядром. В участках эрозий интимы (зоны десквамации ЭК) была харак-

терна адгезия тромбоцитов, лимфоцитов. Диффузно в неоинтимае визуализировались вне- и внутриклеточно суданофильные глыбки, липидные пятна и полосы. Появлялись очаги бляшкоподобных утолщений внутренней оболочки аорт, поверхностная часть которых содержала большое количество гематогенных клеток (лимфоциты, моноцитарные макрофаги, нейтрофилы), среди них выявлялись как пикнотичные, так и с конденсированным хроматином по периферии TUNEL-позитивные ядра макрофагов. ЭК над скоплениями пенистых клеток и бляшкоподобными утолщениями – набухшие или гиперхромные,



АФ – активированный фибробласт, КВ – коллагеновые волокна, ККл – ксантомная клетка, Л – липидные капли, ОД – очаг деструкции, СТ – соединительная ткань, Хл – холестерин. Я – ядро. ×4000 (В); 5800 (А); 6000 (Б, Г)

Рисунок 2 – Ультраструктура (электронно-микроскопическое исследование) интимы аорты кроликов в разные сроки холестериновой нагрузки. Разрастания соединительной ткани вокруг очагов деструкции, 7е сутки (А), липидные отложения в цитоплазме интимальных клеток аорты, 15е сутки (Б), активированный фибробласт в интимае аорты, 30е сутки (В), деструктивные изменения в интимае, 60-е сутки (Г)

при иммуногистохимическом анализе – усиленная экспрессия ФВ в цитоплазме ЭК (рисунок 1Л).

Электронно-микроскопическими исследованиями установлено, что липидно-белковая инфильтрация интимы аорты усиливалась – отмечалась тотальная липидная вакуолизация клеток эндотелия и неоинтимальных ГМК, липидные капли заполняли большую часть цитоплазматического пространства клеток, оттесняя внутриклеточные органеллы к периферии. В толще соединительнотканых волокон (коллагеновых разрастаний) обнаруживалась повышенная пролиферативная активность фибробластов (рисунок 2В), которые стимулировали разрушение пенистых клеток и разрастание в интима молодой соединительной ткани.

Через 60 суток эксперимента в интима аорты регистрировались отдельные пенистые макрофаги или их скопления. На значительном протяжении микропрепаратов в ряде наблюдений – гиперплазия интимы или увеличение площади «бляшки», состоящих из двух-трех слоев пенистых макрофагов, фибробластов, лимфоцитов, разграниченных прослойками рыхло упакованных тонких коллагеновых волокон. Очагово наблюдалось выраженное разрыхление и отек субинтимального слоя. В глубине бляшек соединительнотканые волокна подвергались дегенеративным изменениям: становились утолщенными, часто сливались между собой, образуя гомогенные участки, местами в состоянии фрагментации и лизиса (рисунок 1И). На поверхности гиперплазированной интимы аорт наряду с неизменными ЭК визуализировались несколько уплощённые, резко кариохромные, очагово-набухшие, округлые ЭК. Отмечалась их гибель (часть ЭК наряду с TUNEL-позитивным ядром имела позитивно окрашенную цитоплазму, что могло свидетельствовать о поздней стадии апоптоза и переходе ее в некроз) и десквамация, формировались эрозии (рисунок 1М). Для ядер ГМК интимы была характерна конденсация хроматина по апоптотическому

типу, вакуолизация или неоднородность (пенистость) цитоплазмы. На границе субинтимального слоя с медией прослеживалась частая локализация плотной прослойки ГМК. При окраске суданом черным В в цитоплазме пенистых макрофагов интимы, а также вне клеток – скопления крупноглыбчатых липидных масс (рисунок 1К).

Электронно-микроскопические исследования. В межклеточном пространстве интимы, в клетках эндотелия и подэндотелиального слоя выявлялись обширные очаги липидных отложений разной электронной плотности. В их толще – апоптотически измененные клетки интимы, пучки коллагеновых волокон, гранулы холестерина. Разрастание молодой соединительной ткани интимы, в которой отмечались деструктивно измененные плазматические и ксантомные клетки, а также распадающиеся липидные массы и жиробелковые комплексы, формирующие детрит (рисунок 2Г).

Проведенные нами исследования апоптоза клеток сосудистой стенки на фоне холестериновой диеты [10] показали, что структурные изменения в аортах кроликов были связаны с интенсивным и распространенным апоптозом ГМК, пенистых макрофагов и менее выраженным апоптозом ЭК. Морфометрические исследования определили: при атерогенной диете у кроликов индуцировался апоптоз ЭК во все сроки эксперимента с разной степенью проявления (таблица). При этом апоптоз ЭК сопровождался гиперплазией интимы аорт экспериментальных животных. Достоверное увеличение ($p < 0,05$) АИэк и Lia было отмечено на 7, 15, 30 и 60 сутки эксперимента по сравнению с контролем. В экспериментальных группах (15, 30 и 60 сутки) выявлено достоверное увеличение ($p < 0,05$) Lia относительно экспериментальной группы, получавшей атерогенную диету в течение 7 суток. 15-е сутки характеризовались наиболее выраженным увеличением ($p = 0,001$) АИэк по сравнению с контрольной группой. При сравнении АИэк в экспериментальных группах достоверной разницы не

Таблица – Количественный анализ TUNEL-позитивных ЭК и гиперплазии интимы аорты в различные сроки холестериновой нагрузки (Ме [25; 75]).

Показатель	Контроль	7 суток	15 суток	30 суток	60 суток	U-критерий Манна-Уитни, p<0,05
	1	2	3	4	5	
Lia, мкм	4,33 [3,32;5,59]	6,38 [4,38;8,47]	9,78 [7,64;12,75]	9,39 [6,01;17,93]	9,35 [7,23;12,69]	P ₁₋₂ ; P ₁₋₃ ; P ₁₋₄ ; P ₁₋₅ ; P ₂₋₃ ; P ₂₋₄ ; P ₂₋₅
АИэк, %	26,14 [20,06;28,35]	40,30 [35,29;51,56]	62,34 [49,73;83,97]	43,34 [38,09;56,04]	48,01 [38,66;53,50]	P ₁₋₂ ; P ₁₋₃ ; P ₁₋₄ ; P ₁₋₅

обнаружено. Выявлено наличие прямой корреляции между сроком эксперимента и размером Lia ($r_s=0,68$, $p<0,001$), размером Lia и увеличением АИэк ($r_s=0,42$, $p=0,006$).

Таким образом, как показали проведенные исследования, наиболее ранним и специфичным признаком структурных повреждений аорты кроликов в первые 7 суток приема атерогенной диеты является активация ЭК с последующими деструктивными изменениями в них (набухание или гиперхромия ядер, конденсация хроматина), усиленным апоптозом ЭК, их десквамацией, что может способствовать повышенной миграции ГМК и макрофа-

гов, отложению атерогенных липопротеинов в стенке сосуда и образованию очаговой гиперплазии интимы. На более поздних сроках (15-е сутки эксперимента) – зональное образование конгломератов ЭК на люминальной поверхности сосуда; дегенеративные изменения соединительнотканых волокон (фрагментация и лизис), скопление пенистых макрофагов в области сформированной неоинтимы в отдаленные сроки эксперимента (30-60 суток). Происходящие изменения в стенке аорты кроликов на фоне холестериновой нагрузки можно представить в виде следующей схемы (рисунок 3).

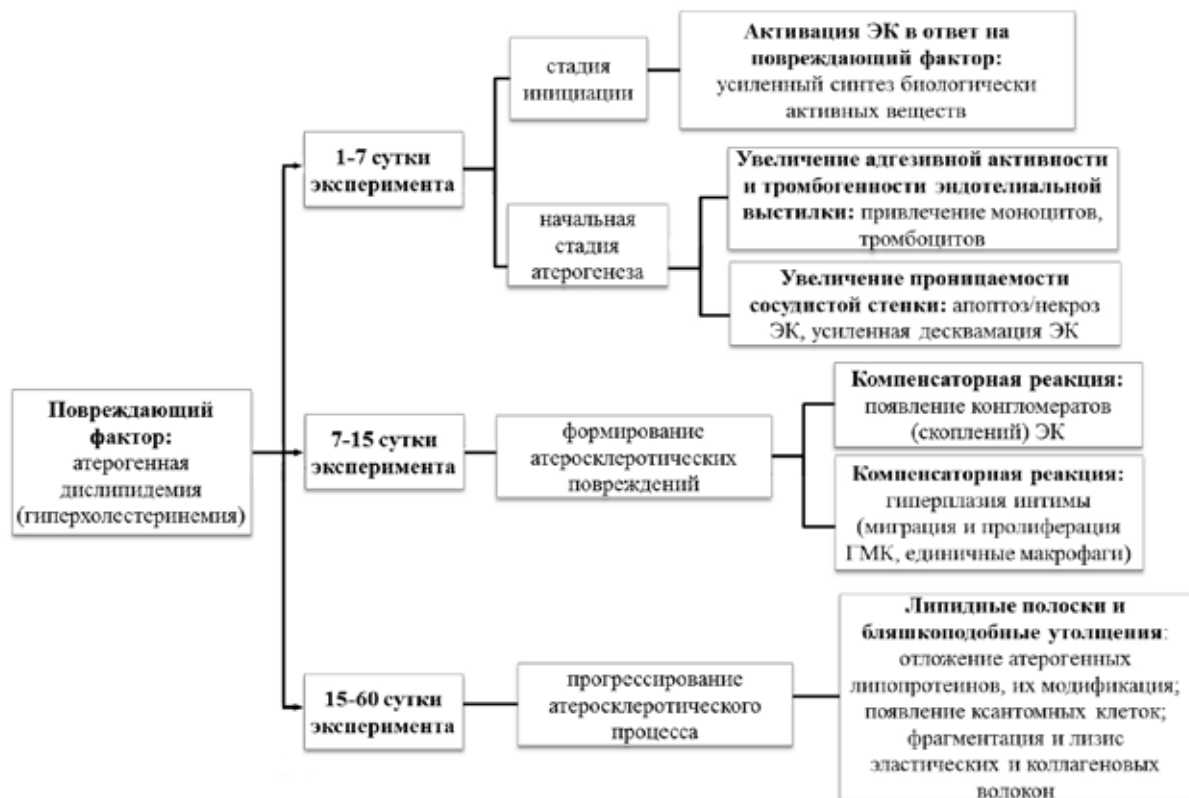


Рисунок 3 – Динамика изменений интимы аорты кроликов при экспериментальной дислипидемии

Заключение

1. На начальных стадиях формирования атерогенных повреждений (1-7е сутки) в интима аорты кроликов происходит активация ЭК, которая проявляется повышением интенсивности окраски к ФВ, дистрофическими изменениями, апоптозом, зональной десквамацией ЭК, способствуя изменению барьерной функции эндотелиальной выстилки; наблюдается повышенная миграция ГМК, появление единичных пенистых макрофагов, что инициирует образование гиперплазии интимы. Гиперплазия интимы более 6,38 [4,38; 8,47] мкм может служить информативным морфологическим критерием дисфункции эндотелия на ранних стадиях атерогенных нарушений у кроликов.
2. На более поздних сроках (7-15е сутки) патологические изменения в интима аорты кроликов носят компенсаторный характер и проявляются, прежде всего, в образовании конгломератов, состоящих из дегенеративно измененных ЭК на поверхности утолщений интимы; отмеченное диффузное окрашивание субэндотелиального слоя к ФВ может свидетельствовать об увеличении тромбогенного потенциала. При наиболее интенсивном апоптозе ЭК прослеживается тенденция к увеличению гиперплазированной интимы.
3. В отдаленные сроки эксперимента (30-60е сутки) при прогрессировании атеросклеротического процесса отмечены снижение АИэк, обусловленное переходом клеток из поздней стадии апоптоза в некроз, деструктивные изменения соединительно-тканых волокон (фрагментация и лизис), экстрацеллюлярное отложение липидов, формирование липидных пятен, полосок и бляшкоподобных утолщений в стенке сосудов.

Библиографический список

1. Tsamis, A. Elastin and collagen fibre microstructure of the human aorta in ageing and disease: a review / A. Tsamis, J.T. Krawiec, D.A. Vorp // J. R. Soc. Interface. – 2013. – Vol. 10. – P. 1-22.
2. Collagens in human atherosclerosis. Immunohistochemical analysis using collagen type-specific antibodies / S. Katsuda [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 1992. – Vol. 12. – P. 494-502.
3. Nakashima, Y. Early atherosclerosis in humans: role of diffuse intimal thickening and extracellular matrix proteoglycans / Y. Nakashima, T.N. Wight, K. Sueishi. // Cardiovascular Research – 2008. – Vol. 79. – P. 14-23.
4. Владимирская, Т. Э. Роль апоптоза макрофагов и эндотелиоцитов в дестабилизации атеросклеротических поражений коронарных артерий / Т.Э. Владимирская, И.А. Швед // Здоровоохранение. – 2013. – №1. – С. 14-17.
5. Анестиади, В. Х. Морфогенез атеросклероза / В.Х. Анестиади, В.А. Нагорнев // Кишинев, 1982. – 323 с.
6. Increased Intimal Apoptosis in Coronary Atherosclerotic Vessel Segments Lacking Compensatory Enlargement / H.M. Ali [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2001. – Vol. 38. – P. 1333-1339.
7. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва // М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
8. Система гемостаза и артериальная гипертензия / Т.Е. Цимбалова [и др.] // Русский медицинский сервер. – 2001. – №8. – С. 6-9.
9. Measurement of von Willebrand factor as the marker of endothelial dysfunction in vascular diseases / B. Horvath [et al.] // Exp Clin Cardiol. – 2004. – Vol. 9, N 1. – P. 31-34.
10. Морфологические изменения и апоптоз клеток аорты кроликов в различные сроки экспериментальной дислипидемии / С.Г. Криворот [и др.] // Фундаментальные науки - медицине: материалы Междунар. науч. конф., Минск, 17 мая 2013 г.: в 2 ч. – Минск, 2013. – Ч. 1. – С. 376-380.

S.G. Kryvorot, T.E. Vladimirskaia, I.A. Shved, S.A. Novakovskaya
HISTOLOGICAL, HISTOCHEMICAL, ULTRASTRUCTURAL
AND MORPHOMETRIC ANALYSIS OF INTIMA IN RABBIT
AORTA DURING CHOLESTEROL LOADING

The results of experimental studies of the cholesterol loading effect on the atherogenic lesions intima formation in rabbit aorta are presented in the article. Endothelial cell activation, apoptosis and increased desquamation were discovered at the stage of initiation and early stages (1-7 days) of experimental atherogenesis; compensatory reaction (endothelial cells (EC) conglomerates, tendency to intimal hyperplasia increase was traced during the most intense apoptosis EC) was observed on 7-15 days of atherosclerotic lesions formation; decrease of EC apoptotic index due to the transition of the late stage of apoptosis to necrosis was determined after 30-60 days of experiment.

Key words: *apoptotic index, intima, cholesterol loading, endothelium*

Поступила 28.12.14