

Особливості ремоделювання посмугованих м'язів задніх кінцівок щурів репродуктивного віку за умов експериментальної гіперурикемії та її поєднання з гіперхолестеролемією

Юрик І.І.* , Боднар Я.Я., Юрик Я.І., Волошин В.Д.

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України,
Україна

*E-mail: iyuryk@ukr.net

Ключові слова:

- посмуговані м'язи
- ремоделювання
- гіперурикемія
- гіперхолестеролемія

Анотація

Дослідження проведено з метою вивчення особливостей ремоделювання посмугованих м'язів стегнової, колінної та гомілкової ділянок задніх кінцівок щурів репродуктивного віку за умов експериментальної гіперурикемії та її поєднання з гіперхолестеролемією. Встановлено, що ремоделювання м'язових волокон на всіх термінах експерименту проявлялося втратою посмугованості, гомогенізацією, розпадом саркоплазми з міоцитолізом та контрактурними змінами. Субмікроскопічно відмічено дегенеративно-деструктивні зміни мітохондрій, вакуолізація цитоплазми, пікноз нуклеолазми ендотеліоцитів гемокапілярів. Найбільш суттєвого ремоделювання зазнають посмуговані м'язи тварин репродуктивного віку в гомілковій ділянці. Структурні зміни скелетних м'язів при поляризаційній мікроскопії за умов гіперурикемії характеризується контрактурним пошкодженням міофібрил I і II ступенів, спорадично III ступеня та цитолізом. При поєднанні гіперурикемії з гіперхолестеролемією у 75 % тварин спостерігаються III–IV типи контрактурного ураження міофібрил.

Вступ

У патогенезі серцево-судинних захворювань серед метаболічних факторів ризику суттєва увага, окрім ліпідемії надається порушенням пуринового обміну, а саме гіперурикемії. Гіперурикемія активує медіатори запалення, фактори транскрипції і тим самим зумовлює проліферацію гладком'язових клітин. Водночас літературних джерелах недостатньо уваги приділено порівняльній характеристиці особливостей структурних змін судинного русла та скелетної мускулатури при наявності високого рівня сечової кислоти та гіперхолестеролемії при серцево-судинних захворюваннях, атеросклеротичному ураженні артерій нижніх кінцівок. За даними епідеміологічних досліджень загальна поширеність захворювань периферичних артерій становить 3-10 %, а серед хворих віком понад 70 років – 15-20 % [8, 9]. Зважаючи на актуальність цієї патології метою нашого дослідження стало з'ясування особливостей ремоделювання м'язів і гемомікроциркуляторного русла за умов гіперурикемії (ГУ) та її поєднання з гіперхолестеролемією (ГХ).

Матеріали і методи

Дослідження проведені на 24 білих щурах. Експериментальна група складалася з 8 тварин десятимісячного віку вагою 230-250 грам з біохімічно підтвердженою ГУ та 8 білих щурів такого ж віку з біохімічно підтвердженою ГУ та ГХ. Контрольну групу склали 10-місячні щури у кількості 8 тварин, які перебували на звичайній дієті. ГУ відтворювали за методикою А.В. Синяченко в модифікації Я.Я. Боднар *та ін.* [10, 11]. Моделювання ГХ поведено шляхом згодовування холестеролу в дозі 0,5 г/кг з підігрітою рослинною олією і з використанням мерказолілу в дозі 10 мг/кг [3, 5, 6]. Суміш вводили за допомогою зонда внутрішньошлунково.

Утримання щурів та всі експерименти виконані відповідно до положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Гельсинської декларації Всесвітньої медичної асоціації (2000), наказу МОЗ України # 281 від 01.11.2000 р.

Виведення лабораторних щурів з експерименту здійснювали шляхом кровопускання після інтраочеревинного введення тіопенталу натрію з розрахунку 50 мг/кг маси тіла через 15,30 та 45 діб дослідження.

Для гістологічного та поляризаційного досліджень м'які тканини висікали із судинно-нервовими пучками товщиною до 0,5 см із стегнової, колінної та гомілкової ділянок задніх кінцівок. Фіксацію, ущільнення парафіном та виготовлення гістологічних зрізів здійснювали за стандартними методиками. Депарафізовані зрізи фарбували гематоксиліном і еозином, фукселіном Харта, пікрофуксином за методом ван Гізон, залізним гематоксиліном за методом Гейденгайна. Препарати вивчали в мікроскопі Granum. Зображення з мікроскопу виводили на монітор комп'ютера за допомогою відеокамери VISION Color CCD Camera і програми InterVideoWinDVR. Мікроскопічно-поляризаційне дослідження препаратів проводили в тринокулярному мікроскопі з камерою програмної обробки зображень і поляризації (SEO). Зрізи для електронномікроскопічного дослідження готували за стандартними прописами [1]. Напівтонкі зрізи товщиною 1–2 мкм виготовляли на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція) та забарвлювали метиленовим синім. Ультратонкі зрізи контрастували цитратом свинцю за методом Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

Результати та обговорення

При дослідженні скелетної мускулатури тварин репродуктивного віку, які перебували на гіперурикемічній дієті, встановлено, що ремоделювання м'язових волокон мало односпрямований та прогресивний характер і проявлялося набуханням, гомогенізацією, розпадом саркоплазми з міоцитолізом та контрактурними змінами. Дистрофічні зміни і десквамація ендотеліоцитів поєднувалися з їх локальною проліферацією. Проліферували гладкі міоцити та колагенові волокна медії із позитивною реакцією при забарвленні альціановим синім та реактивом Шиффа. Особливістю ремоделювання судин стали більш виразні прояви гіпереластозу артерій стегнової і колінної ділянок. Еластичні волокна окрім потовщення, набували здатності до мультиплікації та фрагментації. Периваскулярна строма, перимізій та ендомізій представлені потовщеними колагеновими волокнами, які нерідко зливалися у гомогенні конгломерати із накопиченням глікозаміногліканів. Наявна лімфоцитарна та поліморфноклітинна перивазальна інфільтрація. У більшості випадків описані прояви ремоделювання спостерігалися у місцях розгалужень або відходження артеріальних гілок.

При гістологічному дослідженні м'язів задніх кінцівок тварин цієї групи характерною ознакою була наявність круглоклітинних запальних інфільтратів навколо ділянок міоцитолізу. Ущільнена та гомогенна саркоплазма розпадалася на зерна та грудки різного розміру. Подекуди така воскоподібна дегенерація переходила у дисковидний розпад. Одночасно із дегенеративно-некробіотичними змінами в усіх спостереженнях виявлена також атрофія м'язових волокон.

Поляризаційна мікроскопія засвідчила наявність обох типів пошкодження міофібрил, але частота та глибина ураження різнилися залежно від локалізації. Так м'язи стегнової ділянки виявилися менше пошкодженими. Найчастіше відмічались пошкодження контрактурного типу I–II стадій, рідше – III стадії. Міоцитоліз в гомілковій ділянці був виявлений у 2 тварин (25 %) із 8 досліджуваних. М'язові волокна з вищеписаними контрактурними змінами, завжди виглядають прямими, в той час як сусідні волокна з нормальною будовою майже в усіх випадках мають звивистий вигляд. В 4 спостереженнях в

цій групі виявлений дисковидний розпад м'язових волокон. Потовщені, гомогенні та оксифільні, вони розпадаються на окремі фрагменти з утворенням клітинних гранул та проліферацією фібробластів. Достатньо активним в цей термін було колагеноутворення.

Світлооптичне і поляризаційне дослідження м'язів та гемомікроциркуляторного русла задніх кінцівок щурів за умов поєднання експериментальних гіперурикемії та гіперхолестеролемії виявило якісно та кількісно глибші зміни. Найвираженіші структурні зміни м'язів у поляризаційному світлі у тварин РВ виявлено у гомілковій ділянці, де були присутні контрактурні зміни I–II стадій у всіх щурів та у більшості тварин спостерігали пошкодження III–IV стадій із внутрішньоклітинним міоцитолізом. М'язи стегнової ділянки були менше пошкодженими. Найчастіше відмічалися пошкодження контрактурного типу II–III стадій. Міоцитоліз в гомілковій ділянці був виявлений у 7 щурів (87,5 %) із 8 досліджуваних.

Аналіз субмікроскопічних змін показав поглиблення деструктивних процесів на всіх термінах дослідження цієї серії з пригніченням проявів компенсації та регенерації. Локалізація максимальних проявів ураження не змінювалася. За глибиною ураження вони переважали зміни, відмічені нами раніше і характеризувалися максимальним зниженням пропускної здатності гемомікроциркуляторного русла. Виражені деструктивні зміни спостерігалися у м'язових волокнах і в ендотелії гемокапілярів. Базальна мембрана гемокапілярів погано контурувалася. Ядра ендотеліоцитів характеризувалися множинними нерівностями нуклеолеми і крайовим розташуванням хроматину. На місці зруйнованих органел були вакуолі. Часто спостерігався каріорексис. На люменальній поверхні ендотеліоцитів мікрворсин дуже мало. В навколосудинних просторах – проліферація колагенових волокон. За умов ГУ та її поєднання з ГХ розвивається неадекватне кровопостачання викликає пошкодження структури м'язового компонента у вигляді контрактурних та цитолітичних змін, що знайшло своє відображення у працях багатьох дослідників [2, 4, 7, 9].

Висновки

1. Структурні зміни скелетних м'язів при поляризаційній мікроскопії за умов гіперурикемії характеризується контрактурним пошкодженням міофібрил I і II ступенів, спорадично III ступеня та цитолізом.
2. При поєднанні гіперурикемії з гіперхолестеролемією у 75 % тварин спостерігаються III–IV типи контрактурного ураження міофібрил.

Література

- [1] Bahriy MM, Dibrova VA, Popadynets OH, Hryshchuk MI. Metodyky morfolohichnykh doslidzhen. Vinnitsya: Nova Knyha; 2016. 328 s.
- [2] Klymenko VM, Baldin IA. Revaskulyarizatsiya nyzhnikh kintsivok pry krytychniy ishemiyi. Materialy KHKHPII zyzdu khirurhiv Ukrainy; 2015, zhovtnya 21-23; Kyiv. 2015.
- [3] Krepkova LV. Ispolzovaniye modeli giperlipidemii i ateroskleroza u krysv v toksikologicheskoy eksperimente. Biomeditsina. 2011; 3: 103-6.
- [4] Nikulnykov PI, Bytsay AN, Yatsenko AI. Mezhdystsyplinarnyi podkhod k lecheniyu patsiyentov s okklyuzionno-stenoticheskim porazheniem arterialnykh sosudov nizhnikh konechnostey. Materialy XXIII zyzdu khirurhiv Ukrainy; 2015, zhovtnya 21-23; Kyiv. 2015.
- [5] Piskun RP, Hrynychak NM. Osoblyvosti mikromorfometrychnykh zmin struktur sertsya pry eksperymentalnomu aterosklerozi ta yoho hennoyi korektsiyi. Visnyk problem biolohiyi ta medytsyny. 2011; 2 (3): 147-50.
- [6] Polyakov LM, Lushnykova EL, Nepomnyashchykh LM, Ruskykh HS, Byushkina NK, Klynnikova MH. ta in. Pokaznyky metabolizmu lipidiv ta bilkovoho skladu lipoproteyiniv plazmy krovei hipotyreooidnykh shchuriv pry eksperymentalniy hiperkholesternemiyi. Fundamentalni doslidzhennya. 2014; 10: 342-5.

- [7] Cherniak VA. Surgery of critical ischemia of the lower extremities. Heart and blood vessels. 2013; 1: 54-63.
- [8] Gardner AW, Parker DE, Montgomery PS, Khurana A, Ritti-Dias RM, Blevins SM. Gender differences in daily ambulatory activity patterns in patients with intermittent claudication. J. Vasc. Surg. 2010 Nov; 52 (5): 1204-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2010.05.115> [PMid:20692790 PMCid:PMC2974800]
- [9] Hirsch AT, Duval S. The global pandemic of peripheral artery disease. Lancet. 2013 Oct 19; 382 (9901): 1312-4. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61576-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61576-7)
- [10] Sinyachenko AV, Ignatenko GA, Subbotina EA Endothelial vascular dysfunction and treatment of patients with gout. Ukrainian therapeutic journal. 2007; 4: 18-22.
- [11] Боднар ЯЯ, Крипка ОІ, Юрик П. ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України». Спосіб моделювання гіперурикемії. Патент України № 97949 UA, G09B23 / 28 A61K35 / 14. 10.03.2015.