

ДИНАМІКА ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН МІОКАРДА ПРИ ХРОНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЕНДОТОКСИКОЗІ

Коваль Д.Б. <https://orcid.org/0000-0002-8958-1731>

Косович А.С. <https://orcid.org/0000-0002-4931-2457>

Левенець О.О. <https://orcid.org/0000-0002-1155-5525>

Гладій О.І. <https://orcid.org/0000-0002-6932-6880>

Миколенко А.З. <https://orcid.org/0000-0002-3906-0305>

Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, Тернопіль, Україна

koval_dmybog@tdmu.edu.ua

Актуальність. Моделювання умов ендотоксикозу шляхом введення бактеріальних ліпополісахаридів на тлі токсичного пошкодження печінки обумовлена тим, що за таких умов відтворюється ситуація, яка супроводжує практично кожну хронічну патологію, в тому числі серцево-судинну. Вивільнення субстанцій, які відіграють роль у формуванні ендогенної інтоксикації, спричиняє ураження серця при відсутності серцевої патології, а при її наявності погіршує перебіг та прогноз. Однак слід з'ясувати, чи дані зміни є наслідком лише токсичного пошкодження кардіоміоцитів, чи мають інше морфологічне підґрунтя, і яка їхня динаміка.

Ціль: провести характеристику морфологічних змін міокарда при експериментальному хронічному ендотоксикозі.

Матеріали та методи. Дослідження проводили шляхом моделювання ендотоксикозу у 18 лабораторних щурів протягом 90 діб, щоденно вводили внутрішньощулунково тетрахлорметан із розрахунку 3-5 мл/кг маси, та кожного 6-го дня додаючи внутрішньоочеревинно бактеріальний ліпополісахарид дозою 0,2 мг/кг маси тіла. Тварин виводили із експерименту шляхом декапітації, після знеболювання введенням внутрішньоочеревинно тіопентал натрію в дозі 50 мг/кг, на 30, 60 та 90 добу. Контрольну групу становили 6 інтактних тварин. Для гістологічного дослідження тканину міокарда ущільнювали в парафін, а депарафінізовані зрізи фарбували гематоксиліном і еозином, досліджували на виявлення нейтральних глікозаміногліканів та кислих мукополісахаридів, забарвлюючи альціановим синім та ШІК-реакцією за стандартною методикою та досліджували під світловим мікроскопом Nikon Eclipse Ci-E.

Результати. При дослідженні на світлооптичному рівні міокарда експериментальних тварин вже через 30 діб хронічної ендогенної інтоксикації, зумовленої введенням тетрахлорметану і бактеріального ліпополісахариду, відмічено, що міокард зазнавав змін. В першу чергу це стосувалося кардіоміоцитів: стоншені клітини довкола судин та незмінені на відстані від судин. У частині із них відмічено гіперхромію ядер та явища контрактурного ушкодження і фрагментації волокон. Прояви з боку кардіоміоцитів наростали впродовж наступного терміну експерименту: через 60 діб в міокарді виявляли виражену хвилеподібну деформацію волокон з атрофічними змінами м'язових клітин. Гемодинамічні зміни характеризувалися повнокрів'ям, зросла кількість периваскулярних крововиливів. На 90 добу експерименту в тканині міокарда тварин, крім запальних проявів та дистрофічно-некротичних змін, виявляли атрофію кардіоміоцитів у поєднанні із вираженим інтерстиціальним набряком. В стромі, крім дрібновогнищового периваскулярного кардіосклерозу, визначалися фокуси розростання адипоцитів. В окремих ділянках спостерігалось розволокнення кардіоміоцитів і крововиливи.

Висновок. Інтенсивність структурних змін кардіоміоцитів та гемодинамічних розладів при хронічному ендотоксикозі залежить від тривалості інтоксикації. Характер структурних змін інтерстицію міокарда щурів за умов експериментального ендотоксикозу є дистрофічно-склеротичним та проявляється різною комбінацією набрякових та склеротичних проявів на різних етапах впливу токсикантів.

Ключові слова: ліпополісахарид, ендотоксикоз, дистрофічно-склеротичні прояви.

Актуальність. Синдром ендотоксикозу супроводжує кожне хронічне захворювання, обтяжуючи клінічну картину хвороби та погіршуючи прогноз [2]. Він полягає в накопиченні в крові біологічно активних компонентів внаслідок зниження й детоксикації при посиленні катаболічних процесів [1, 3]. Цей синдром зумовлений багатьма механізмами і пов'язаний з дискоординацією метаболізму, що відбувається при патології різного генезу – інфекційного, токсичного, травматичного, генетичного, а також внаслідок побічного ефекту

лікарських засобів [3]. Вважають, що ендотоксикоз – це отруєння організму як кінцевими продуктами метаболізму внаслідок затримки їх елімінації та надмірного накопичення, так і проміжними продуктами при глибокому порушенні обміну [6]. Джерелами їх можуть бути вогнища запалення, зони ішемії або деструкції тканини [1, 4]. Основними причинами розвитку ендотоксикозу при патології є: наявність деструктивних процесів, при яких накопичується надлишкова кількість проміжних та кінцевих продуктів обміну,

які викликають токсичний вплив на найважливіші системи життєзабезпечення, порушення функціонального стану фізіологічних систем виведення та інактивації природних метаболітів та токсичних продуктів, а також пошкодження бар'єрних систем, що в нормі перешкоджають проникненню токсичних речовин в міжклітинний простір та клітини. В умовах патології поява та надлишкове накопичення ендогенних токсинів є результатом комплексу шкідливих впливів на організм, поєднання різних етіопатогенетичних факторів, взаємозумовлених численними нервовими гуморальними зв'язками, що володіють аутокаталітичними властивостями і мають каскадний характер розвитку [6, 8].

Ціль: провести характеристику морфологічних змін міокарда при експериментальному хронічному ендотоксикозі.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведене на 24 лабораторних щурах, яких розділили на дві групи: експериментальну (n=18) і контрольну (n=6). Всі маніпуляції з тваринами проводили із дотриманням правил, передбачених Європейською конвенцією по нагляду за використанням хребетних тварин з науковою метою (Страсбург, 1985).

У 18 щурів експериментальної групи моделювання ендотоксикоз протягом 90 діб, щоденно вводячи внутрішньошлунково тетрахлорметан (ТХМ) із розрахунку 3-5 мл/кг маси, та кожного 6-го дня додаючи внутрішньоочеревинно бактеріальний ліпополісахарид (ЛПС) дозою 0,2 мг/кг маси тіла. Тварин виводили із експерименту шляхом декапітації, після знеболювання введенням внутрішньоочеревинно тіопентал натрію в дозі

50 мг/кг, на 30, 60 та 90 добу (по 6 тварин у кожний термін). Для гістологічного дослідження тканину міокарда ущільнювали в парафін, а депарафіновані зрізи фарбували гематоксиліном і еозином, досліджували на виявлення нейтральних глікозаміногліканів та кислих мукополісахаридів, забарвлюючи альціановим синім та ШІК-реакцією за стандартною методикою та досліджували під світловим мікроскопом Nikon Eclipse Ci-E.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Моделювання умов ендотоксикозу шляхом введення ЛПС на тлі токсичного пошкодження печінки обумовлена тим, що за таких умов відтворюється ситуація, яка супроводжує практично кожну хронічну патологію, в тому числі серцево-судинну. Вивільнення субстанцій, які відіграють роль у формуванні ендогенної інтоксикації, спричиняє ураження серця при відсутності серцевої патології, а при її наявності погіршує перебіг та прогноз. Однак слід з'ясувати, чи дані зміни є наслідком лише токсичного пошкодження кардіоміоцитів чи мають інше морфологічне підґрунтя, і яка їхня динаміка. При дослідженні на світлооптичному рівні міокарда експериментальних тварин вже через 30 діб хронічної ендогенної інтоксикації, зумовленої введенням ТХМ і бактеріального ЛПС, відмічено, що міокард зазнавав змін. В першу чергу, це стосувалось кардіоміоцитів: спостерігалися стоншені клітини довкола судин та незмінні на відстані від судин. У частині із них відмічено гіперхромію ядер та явища контрактурного ушкодження і фрагментації волокон (рис. 1).

Довкола таких клітин інколи відмічали лімфогістіоцитарну інфільтрацію (рис. 2).

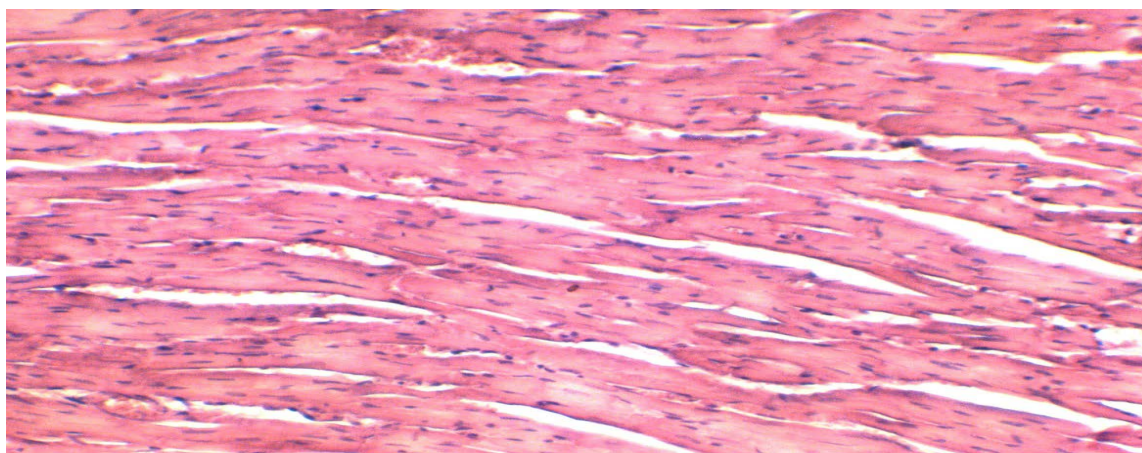


Рис. 1. Стромальний набряк, дезорганізація та фрагментація волокон, поодинокі крововиливи в міокарді щура через 30 діб впливу тетрахлоретану та ліпополісахариду. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

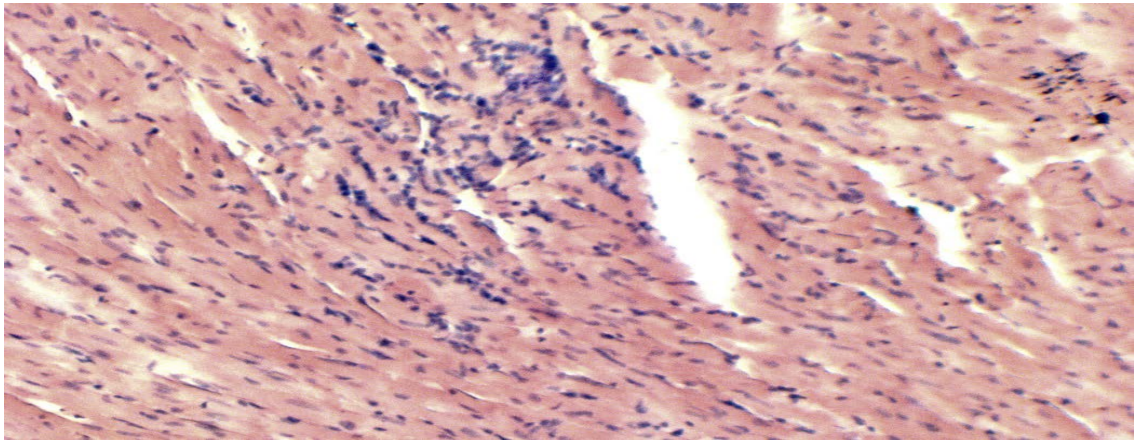


Рис. 2. Лімфо-гістіоцитарна інфільтрація та розриви волокон міокарда щура через 30 діб впливу тетрахлоретану та ліпополісахариду. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 120$

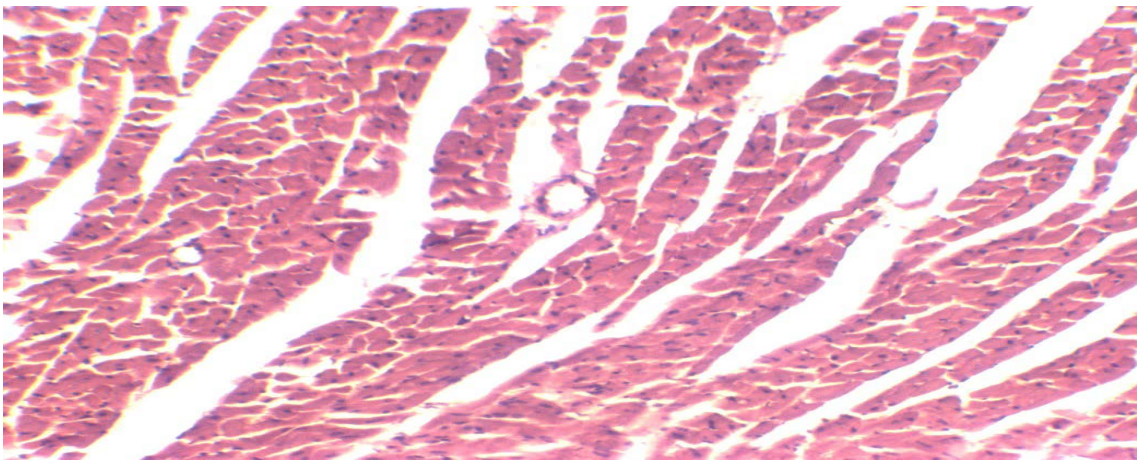


Рис. 3. Виражений інтерстиціальний набряк стромы та периваскулярного простору, пошкодження ендотеліальної вистілки судин в щура через 60 діб впливу тетрахлоретану та ліпополісахариду. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$

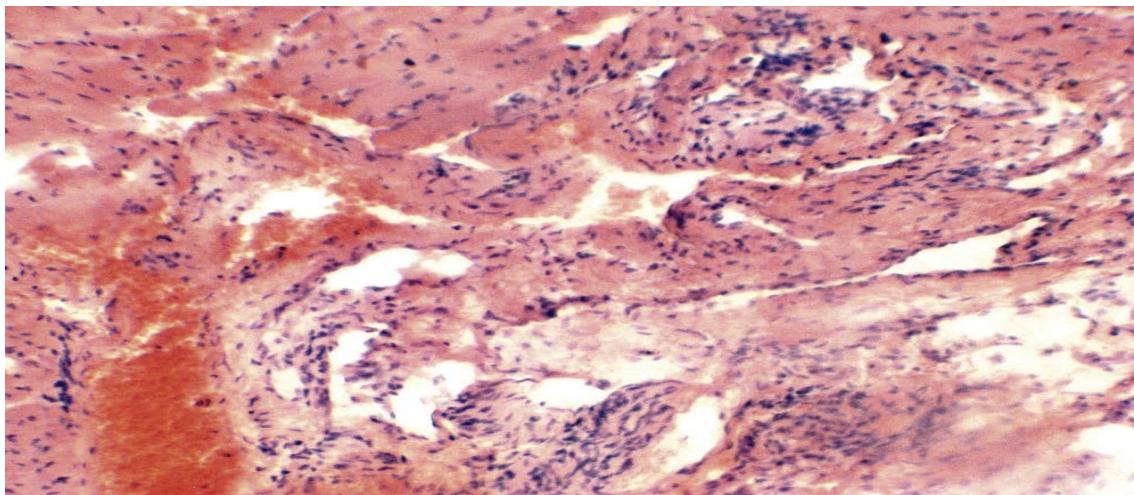


Рис. 4. Лімфо-гістіоцитарна інфільтрація, значні розриви волокон та крововиливи міокарда щура через 90 діб впливу тетрахлоретану та ліпополісахариду. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 120$

Помітним був набряк стромы, вираженіший у периваскулярних ділянках. Також зазначено значні гемодинамічні розлади у вигляді повнокрів'я,

спазму артеріол з еритродіapedезом, стазу зі сладж-феноменом еритроцитів в мікроциркуляторному руслі. Крім цього, за структурою кардіоміоцити

були гетерогенні: у розташованих периваскулярно виявляли ознаки атрофії, а розташованих на віддалі від судин - гіпертрофію. У стромі міокарда виявлявся помірний набряк і фокуси невеликої запальної інфільтрації переважно лімфогістiocитарного характеру і розташовувались ближче до ендокарду. Відмічено посилене фіброзоутворення довкола судин, візуальне збільшення інтерстицію в основному у вигляді тонких рихло розташованих волокон.

Зміни гемодинаміки проявлялись спазмом артерій, повнокрів'ям, стазом і помірним периваскулярним набряком.

Прояви ушкодження кардіоміоцитів наросли впродовж наступного терміну експерименту: через 60 діб в міокарді виявляли виражену хвилеподібну деформацію волокон з атрофічними змінами м'язових клітин.

Ознаки цитолізу, фрагментації та вираженої реактивної круглоклітинної інфільтрації стромі у вогнищі ушкодження свідчить про посилення гострого ушкодження кардіоміоцитів зі збільшенням тривалості експериментальної моделі, причому кількість змінених ділянок була візуально збільшеною порівняно з попереднім терміном. Більш вираженим, порівняно з попереднім терміном, був інтерстиційний набряк і гіперхромія ядер, також прогресували склеротичні зміни, більшою мірою периваскулярно (рис. 3).

Гемодинамічні зміни характеризувались повнокрів'ям, зросла кількість периваскулярних крововиливів.

На 90 добу експерименту в тканині міокарда тварин крім запальних проявів та дистрофічно-некротичних змін виявляли атрофію кардіоміоцитів у поєднанні із вираженим інтерстиціальним набряком. В стромі, крім дрібновогнищевих периваскулярних кардіосклерозу, визначались фокуси розростання адипоцитів. В окремих ділянках спостерігалось розволокнення кардіоміоцитів і крововиливи (рис. 4).

Загальними змінами при хронічному ендотоксикозі, що виявлялись через 30 діб і зберігались впродовж всього експерименту, були зміни стінки судин. Зафіксовано проліферацію та набухання ендотеліоцитів внаслідок плазматичного просякання, неоднорідне забарвлення їх цитоплазми, хвилеподібність ендотеліальної вистілки аж до пошкодження її цілісності та злушення ендотеліоцитів. Через 90 діб хронічного ендотоксикозу, крім виражено набряклих ендотеліоцитів, неодноразово відмічали потовщення гладких м'язових клітин середньої оболонки. Можемо припустити два механізми таких змін – посилення

набряку, що поширюється на усю стінку судин, або ж потовщення їх, як наслідок запальних змін. Пошкодження судинної стінки внаслідок дії токсикантів спричиняє зростання її проникності. Проте, як відомо з літератури, забезпечення тканини киснем неадекватне за умов дії ЛПС, ймовірно тому, що його транспортні системи пошкоджені за рахунок мультифакторних змін, що зумовлює ендотоксикоз.

ВИСНОВКИ

Інтенсивність структурних змін кардіоміоцитів та гемодинамічних розладів при хронічному ендотоксикозі залежить від тривалості інтоксикації. Характер структурних змін інтерстицію міокарда щурів за умов експериментального ендотоксикозу є дистрофічно-склеротичним та проявляється різною комбінацією набрякових та склеротичних проявів на різних етапах впливу токсикантів.

REFERENCES

1. Patel PN, Shah RY, Ferguson JF, Reilly MP. Human experimental endotoxemia in modeling the pathophysiology, genomics, and therapeutics of innate immunity in complex cardiometabolic diseases. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2015;35(3):525-534. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.304455
View at:
Publisher Site: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/ATVBAHA.114.304455>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25550206/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4344396/>
2. Leskelä J, Toppila I, Härma M, Palviainen T, Salminen A, Sandholm N, Pietiäinen M, Kopra E, Pais de Barros J, Lassenius MI, Kumar A, Harjutsalo V, Roslund K, Forsblom C, Loukola A, Havulinna AS, Lagrost L, Salomaa V, Groop P, Perola M, Kaprio J, Lehto M, Pussinen PJ. Genetic profile of endotoxemia reveals an association with thromboembolism and stroke. *Journal of the American Heart Association*. 2021;10(21):e022482. DOI: 10.1161/JAHA.121.022482
View at:
Publisher Site: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/JAHA.121.022482>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34668383/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8751832/>

3. Zila I, Mokra D, Kopincova J, Kolomaznik M, Javorka M, Calkovska A. Heart rate variability and inflammatory response in rats with lipopolysaccharide-induced endotoxemia. *Physiological Research*. 2015;(Suppl 5):S669-S676. DOI: 10.33549/physiolres.933226
View at:
Publisher Site: https://www.biomed.cas.cz/physiolres/2015/S5_15.htm
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26674290/>
URL: http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/64%20Suppl%205/64_S669.pdf
4. Ikram MA, Brusselle G, Ghanbari M, Goedegebure A, Ikram MK, Kavousi M, Kieboom BCT, Klaver CCW, de Knecht RJ, Luik AI, Nijsten TEC, Peeters RP, van Rooij FJA, Stricker BH, Uitterlinden AG, Vernooij MW, Voortman T. Objectives, design and main findings until 2020 from the Rotterdam Study. *European Journal of Epidemiology*. 2020;35(5):483-517. DOI: 10.1007/s10654-020-00640-5
View at:
Publisher Site: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10654-020-00640-5>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32367290/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7250962/>
5. GBD 2019 Risk Factors Collaborators. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*. 2020;396(10258):1223-1249. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30752-2
View at:
Publisher Site: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30752-2/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30752-2/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33069327/>
- PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7566194/>
6. Viran SS, Alonso A, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Delling FN, Djousse L, Elkind MSV, Ferguson JF, Fornage M, Khan SS, Kissela BM, Knutson KL, Kwan TW, Lackland DT, ... Tsao CW. Heart disease and stroke statistics – 2020 update: A report from the American Heart Association. *Circulation*. 2020;141(9):e139-e596. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000757
View at:
Publisher Site: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIR.0000000000000757>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31992061/>
7. Virzi GM, Clementi A, Brocca A, Ronco C. Endotoxin effects on cardiac and renal functions and cardiorenal syndromes. *Blood Purification*. 2017;44(4):314-326. DOI: 10.1159/000480424
View at:
Publisher Site: <https://www.karger.com/Article/FullText/480424>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29161706/>
8. Li M, Gou Y, Yu H, Ji T, Li Y, Qin L, Sun W. Mechanism of metformin on LPS-induced bacterial myocarditis. *Dose-Response*. 2019;17(2):1559325819847409. DOI: 10.1177/1559325819847409
View at:
Publisher Site: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1559325819847409>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31205455/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6537499/>

Article history:
Received: 03.11.2022
Revision requested: 17.11.2022
Revision received: 28.11.2022
Accepted: 27.12.2022
Published: 30.12.2022

DYNAMICS OF PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES OF THE MYOCARDIUM IN CHRONIC EXPERIMENTAL ENDOTOXICOSIS

Koval D.B., Kosovych A.S., Levenets O.O., Hladiy O.I., Mykolenko A.Z.

Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine

koval_dmybog@tdmu.edu.ua

Relevance. Modeling the conditions of endotoxemia by introducing bacterial lipopolysaccharide against the background of toxic liver damage is due to the fact that under such conditions the situation that accompanies almost every chronic pathology, including cardiovascular, is reproduced. The release of substances that play a role in the formation of endogenous intoxication causes heart damage in the absence of cardiac pathology, and in its presence worsens the course and prognosis. However, it should be found out whether these changes are the result of only toxic damage to cardiomyocytes or have another morphological basis and what their dynamics are.

Objective: to characterize the morphological changes of the myocardium in experimental chronic endotoxemia.

Materials and methods. The research was carried out by modeling endotoxycosis in 18 laboratory animals for 90 days by daily intragastric injection of tetrachloromethane at the rate of 3-5 ml/kg of body weight and every 6th day by intraperitoneally adding bacterial lipopolysaccharide at a dose of 0.2 mg/kg of body weight. Animals were removed from the experiment by decapitation at 30, 60, and 90 days. Animals were removed from the experiment by decapitation after anesthesia with intraperitoneal administration of sodium thiopental at a dose of 50 mg/kg. The control group consisted of 6 intact animals. For histological examination, myocardial tissue was condensed in paraffin, and deparaffinized sections were stained with hematoxylin and eosin, examined for the detection of neutral glycosaminoglycans and acidic mucopolysaccharides, stained with Alcian blue and PAS-reaction according to standard methods, and examined under a Nikon Eclipse Ci-E light microscope.

Results. During researching the myocardium at the light-optical level of experimental animals, after 30 days of chronic endogenous intoxication caused by injection of tetrachloromethane and bacterial LPS, it undergoes changes, first of all, it concerned cardiomyocytes: we observe thinned cells around the vessels and unchanged ones at a distance from the vessels. In some of them, hyperchromia of the nuclei and phenomena of contractile damage and fiber fragmentation were noted. Manifestations from the CMC increased during the next period of the experiment: after 60 days, expressed wave-like deformation of fibers with atrophic changes in muscle cells was detected in the myocardium. Hemodynamic changes were characterized by hyperemia, the number of perivascular hemorrhages increased. On the 90th day of the experiment, in addition to inflammatory manifestations and dystrophic-necrotic changes, cardiomyocyte atrophy in combination with expressed interstitial edema was detected in the myocardial tissue of animals. In the stroma, in addition to small foci of perivascular cardiosclerosis, foci of adipocyte growth were determined. Cardiomyocyte defibrillation and hemorrhages were observed in some areas

Conclusion. The intensity of structural changes in cardiomyocytes and hemodynamic disorders in chronic endotoxycosis depends on the duration of intoxication and the character of structural changes. The interstitium of the myocardium of rats under experimental endotoxycosis conditions is dystrophic-sclerotic and is manifested by a different combination of edematous and sclerotic manifestations at different stages of exposure to toxicants.

Keywords: lipopolysaccharide, endotoxycosis, dystrophic-sclerotic manifestations.