

Башук В.В., Павлова Т.В., Марковская В.А., Нестеров А.В.

Старение сосудов: клиничко-морфологические параллели

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», НИУ «БелГУ», г. Белгород

Bashuk V.V., Pavlova T.V., Markovskaya V.A., Nesterov A.V.

Vascular aging: clinical and morphological parallels

Резюме

В статье представлены клиничко-морфологические особенности сердечно-сосудистой системы при старении. В результате исследования нами были показаны достоверные данные корреляции между уровнем ET-1, величиной комплекса интима-медиа и экспрессией NO-синтазы у пациентов среднего и пожилого возраста. Соотношение по толщине комплекса интима-медиа у людей, имеющих средний возраст была достоверно выше, чем у пожилого. Аналогичная динамика наблюдается как и между уровнем ET-1 и экспрессией проапоптозного фактора p53 в миокарде у пациентов среднего и пожилого возраста.

Ключевые слова: старение, сердечно-сосудистая система, патоморфология, долголетие

Summary

Clinical and morphological features of cardiovascular system at aging were presented in the article. The reliable data of correlation between ET-1, the value of intima-media complex and expression of NO-synthase in patients of middle and old age were received in result of research. The ratio of thickness of intima-media complex thickness in patients of middle age was reliably higher than in patients of old age. The same dynamics was observed between ET-1 level and expression of proapoptotic factor p53 in myocardium of patients of middle and old age.

Key words: aging, cardiovascular system, pathomorphology, longevity

Введение

Одной из наиболее важных мировых проблем, имеющих на данный момент приоритетное значение и для Российской Федерации, являются вопросы долголетия. При этом на первый план выступают вопросы, связанные с развитием ряда заболеваний, которые в значительной степени влияют на качество жизни населения. Среди ряда болезней таких как: онкологическая патология, эндокринопатии, заболевания центральной нервной системы, особое место занимает патология сердца и сосудов. Этот аспект в здравоохранении носит социальную ответственность перед обществом за сохранение здоровья индивидуума. К тому же, болезни системы кровообращения занимают лидирующую позицию среди причин инвалидности и летальности как в России, так и в мире в целом. Особое место среди них занимают: атеросклероз, артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца. Несмотря на значительное число исследований, проведенных в данном направлении, мы еще далеки от решения проблемы в целом.

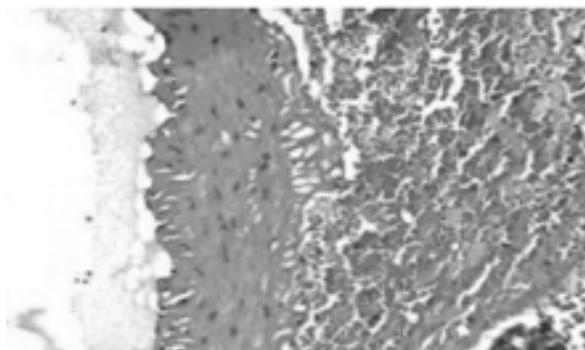
Цель исследования. На основе анализа морфогенеза кровеносных сосудов с применением инновационных

методов исследования, полученных при аутопсии людей пожилого и старческого возраста, выявить клиничко-морфологические параллели, приводящие к летальным исходам.

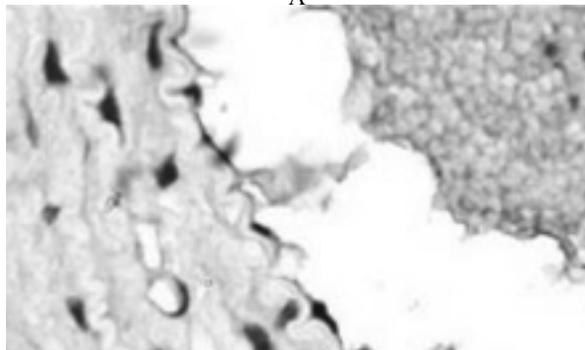
Материал и методы

Местом исследования явилось ОГБУЗ «Белгородское патологоанатомическое бюро» и кафедра патологии медицинского института ФГАОУ ВО НИУ «БелГУ»

Аутопсийный материалы был получен от умерших различных возрастных групп. Первую (25 человек) составили 10 женщин и 15 мужчин среднего возраста (40- 59 лет, у которых средняя продолжительность жизни составляла: 48,2±2,5). Вторую (30): 16 женщин и 14 мужчин пожилого возраста (60 -79; 68,7±2,2 года) при наличии у них хронической ишемической болезни (ХИБС) сердца, с длительностью сердечной недостаточности более трех лет. 10 человек (для изучения патоморфологических параметров, мужчины в возрасте 45,5±2,1, не имевшие ХИБС и умершие в результате последствий травм различного генеза) составили контрольную группу.

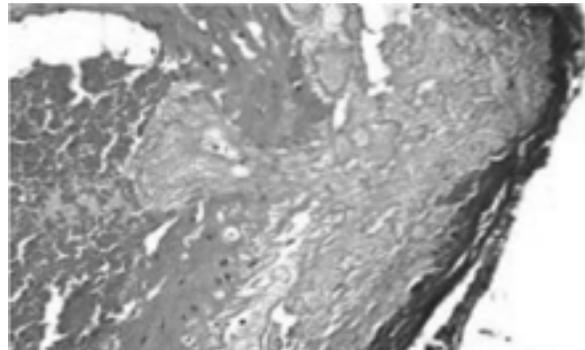


А

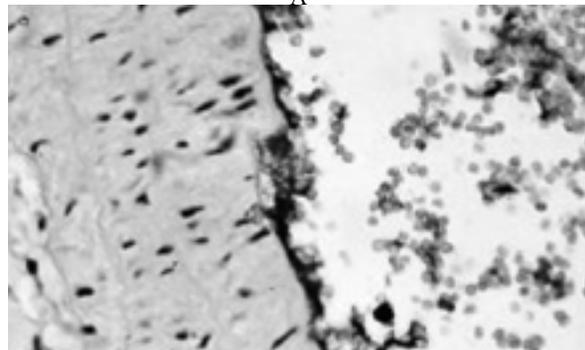


Б

Рисунок 1. Фрагмент сосуда у пациента шестидесяти пяти лет. А. Стенка сосуда не изменена. Окраска гематоксилином-эозином (x 400). Б. При иммуногистохимическом исследовании можно определить слабую экспрессию NO-синтазы. (x 400).



А



Б

Рисунок 2. Участок сосуда пациента шестидесяти семи лет. Клинический диагноз: Ишемическая болезнь сердца: атеросклероз коронарных артерий, стенокардия напряжения, функциональный класс III, хроническая сердечная недостаточность III стадии; на фоне гипертонической болезни III стадии. А. Участок с атероматозными изменениями. Окраска гематоксилином-эозином. (x 400). Б. Повышенная экспрессия NO-синтазы по сравнению с участками аорты, взятых при патанатомическом исследовании у пациентов без сердечно-сосудистой патологии.

Помимо стандартного описания на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, был выполнен анализ состояния апоптоза. Для этого были использованы первичные специфические моноклональные антитела к p53 («Novocastra», RTU-p53-DO7), bcl-2 («Novocastra», RTU-bcl-2), Ki-67 («Novocastra», RTU-Ki-67-MM1), каспазе 3 («Novocastra», 1:25 -CPP32 JHM62). Помимо этого, для исследования качества вторичных антител и визуализирующей системы был применен «Novostain Universal Detection Kit» («Novocastra», NCL-RTU-D). Дополнительную окраску ядер выполняли гематоксилином

Реакция антигенов была диагностирована согласно наличию темно- светлокориновых гранул в структурах слизистой оболочки желудка при микроскопическом исследовании в обычном световом микроскопе. Была использована полуколичественная шкала оценки интенсивности (0 – отсутствие, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – выраженная). Поле зрения учитывалось хорошим для данного анализа при присутствии в нем 60% и более положительно окрашенных клеток. Признание апоптоза и цитокинового статуса выполнено при помощи системы компьютерного анализа микроскопических изображений

(Nikon). Морфологические изображения, сопоставленной с микроскопом «Nikon Eclipse 400». Число Ki-67, Bcl-2 и каспазы-3 – иммунопозитивных ядер клеток считалось в 10 полях зрения (≥ 1000 клеток). Индекс пролиферации (ядерную метку Ki-67) и апоптоза (перинуклеарную или цитоплазматическую метку Cpp32 – каспазу-3), а также экспрессии p53 (не менее 30%) определяли как долю положительно окрашенных ядер. Описание индекса экспрессии p53 находили в результате умножения интенсивности окрашивания (1-3) на полуколичественно оцененную градацию (0-4). Также выявлялся индекс положительно окрашенных клеток, вычисленных от всего количества эпителиоцитов (≥ 1000 клеток) с делением на 5 градаций: 0 – до 5%, 1 – 5-25%, 2 – 26-50%, 3 – 51-75%, 4 – 75% и более позитивно меченых клеток.

Результаты и обсуждение

В роли биообъекта для патоморфологического изучения старения сосудов нами была выбрана аорта. При заборе ее фрагментов, выполненном при аутопсийном исследовании у пациентов без наличия в анамнезе сердечно-сосудистой патологии и заболеваний крови, имевших

Таблица 1. Корреляции между уровнями фактора некроза опухоли альфа, эндотелина-1 в сыворотке крови, степенью изменений эритроцитов, толщиной комплекса интима-медиа сонных артерий при прижизненном исследовании с посмертным исследованием экспрессии NO-синтазы в сосудах у пациентов с хронической ишемической болезнью

Группы, представленные по возрастному признаку	Сигнальные молекулы			
	TNF-а	ET-1	Размеры комплекса интима-медиа	Изменения в эритроцитах
Средний возраст	- (p=0,1186)	+ (p=0,0301)	+ (p=0,0289)	+(p=0,0255)
Пожилой возраст	- (p=0,0703)	+ (p=0,0288)	+ (p=0,0125)*	+(p=0,0304)

«+»-достоверная корреляция

«-»-отсутствие достоверной корреляции

* -p<0,05 между возрастными

Таблица 2. Корреляция между уровнями фактора некроза опухоли альфа, эндотелина-1 в сыворотке крови, степенью изменений эритроцитов, толщиной комплекса интима-медиа сонных артерий при прижизненном исследовании с посмертным исследованием экспрессии проапоптозного фактора p53 в миокарде у пациентов с хронической ишемической болезнью

Группы, представленные по возрастному признаку	Сигнальные молекулы			
	TNF-а	ET-1	Размеры комплекса интима-медиа	Изменения в эритроцитах
Средний возраст	- (p=0,1003)	+ (p=0,0406)	- (p=0,0625)	+(p=0,0312)
Пожилой возраст	- (p=0,0901)	+ (p=0,0387)	- (p=0,0712)	+(p=0,0182)*

«+»-достоверная корреляция

«-»-отсутствие достоверной корреляции

* -p<0,05 между возрастными

судебно-медицинскую историю (различного рода травмы, приведшие к летальному исходу), мы, как макро-, так и микроскопически, не выявили значительных патоморфологических изменений (рис. 1).

При проведении иммуногистохимического исследования участков аорты, полученных от пациентов с хронической сердечно недостаточностью, мы обнаруживали повышенную экспрессию NO-синтазы по сравнению с участками аорты, взятых при патанатомическом исследовании у пациентов без сердечно-сосудистой патологии (рис. 2).

Нами получена корреляция между уровнями фактора некроза опухоли, степенью изменений эритроцитов альфа, эндотелина-1 в сыворотке крови, толщиной комплекса интима-медиа сонных артерий при прижизненном исследовании с посмертным исследованием экспрессии NO-синтазы в сосудах у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, которая представлена в таблице №1.

Показано, что корреляция между составом TNF-а и экспрессией NO-синтазы у пациентов среднего возраста была 0,1186, и исследуемых пожилого возраста – 0,0703, что констатировало отсутствие достоверной корреляции. А корреляция между уровнем ET-1 и экспрессией NO-синтазы у пациентов среднего возраста составила 0,0301, в то время как пожилого – 0,0288, что свидетельствовало о достоверности данного параметра. Корреляция между толщиной комплекса интима-медиа и экспрессией NO-синтазы у пациентов среднего возраста составила 0,0289, у пациентов пожилого возраста - 0,0125, что подтверж-

дало достоверность корреляции. При этом, у пациентов среднего возраста она была значительно выше, чем у пожилых реципиентов (p<0,05). Взаимосвязь между изменениями эритроцитов и экспрессией NO-синтазы у пациентов среднего возраста была 0,0255, тогда как у пожилых людей – 0,0304, что так же свидетельствовало о достоверной корреляции. Кроме сосудов, в качестве объекта морфологического изучения старения сосудов мы взяли также миокард.

При исследовании аутопсийного материала фрагментов аорты от реципиентов без сердечно-сосудистой патологии в анамнезе и заболеваний крови, мы не выявили сколь либо существенных патологических процессов, тогда как у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца нами было выявлено нарушение строения ядер кардиомиоцитов. Здесь же при иммуногистохимическом исследовании, нами выявлена значительная экспрессия проапоптозного маркера p53. Выполнена корреляция между степенью изменений эритроцитов, уровнями фактора некроза опухоли альфа, эндотелина-1 в сыворотке крови, величиной комплекса интима-медиа сонных артерий при прижизненном исследовании пациентов с посмертным исследованием экспрессии проапоптозного фактора p53 в миокарде с хронической ишемической болезнью сердца (табл. 2).

Нами было показано, что соотношение между уровнем TNF-а и экспрессией проапоптозного фактора p53 в миокарде у пациентов среднего возраста составила 0,1003, у людей пожилого возраста – 0,0901, что свидетельствовало в пользу отсутствия достоверной корреляции.

ляции. Она же между уровнем ET-1 и экспрессией проапоптозного фактора p53 в сердце у пациентов среднего возраста была 0,0406, а у людей – 0,0387, что было фактом достоверности. Корреляция между величиной комплекса интима-медиа и экспрессией проапоптозного фактора p53 в миокарде у людей среднего возраста составила 0,0625, а пациентов пожилого – 0,0712, что демонстрировало отсутствие достоверности. Соотношение между изменениями в эритроцитах и экспрессией проапоптозного фактора p53 у людей среднего возраста составила 0,0312, а у пациентов пожилого – 0,0182, что так же говорило в пользу достоверных величин. К тому же корреляция у людей среднего возраста была достоверно больше, чем у пациентов пожилого ($p < 0,05$).

Заключение

Таким образом в результате исследования клинико-морфологической особенностей сердечно-сосудистой

системы при процессах старения, нами были показаны достоверные данные корреляции между уровнем ET-1, величиной комплекса интима-медиа и экспрессией NO-синтазы у пациентов среднего и пожилого возраста. Соотношение по толщине комплекса интима-медиа у людей, имеющих средний возраст была достоверно выше, чем у пожилого. Аналогичная динамика наблюдается как и между уровнем ET-1 и экспрессией проапоптозного фактора p53 в миокарде у пациентов среднего и пожилого возраста. ■

Баишук В.В., Павлова Т.В., Марковская В.А., Нестеров А.В., ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», НИУ «БелГУ», г. Белгород, e-mail:pavlova@bsu.edu.ru

Литература:

1. Процаев К.И., Ильницкий А.Н., Павлова Т.В., Павлова Л.А., Совенко Г.Н. и др. Локальные и системные нейроиммуно-эндокринные сдвиги под влиянием поллютантов в контексте преждевременного старения: анализ состояния проблемы. *Фундаментальные исследования* 2011; 6: 150-153.
2. Павлова Т.В., Позднякова Н.М., Процаев К.И. Содержание кислорода в эритроцитах крови пожилых больных с полиморбидной патологией. *Российский семейный врач* 2011; 4(15): 94.
3. Коробанов Ю. Ю. Гендерные особенности жесткости сосудов при артериальной гипертензии у больных пожилого возраста. *Университетская наука: взгляд в будущее* 2018
4. Процаев К.И. Введение в семейную гериатрию. *Новополюк* 2008.
5. Кишкун А.А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции: руководство для врачей. Москва: ГЭОТАР-Медиа 2008.
6. Хавинсон В.Х. Пептидная регуляция. Санкт-Петербург: Наука 2009.
7. Amarenco P. High-density lipoprotein-cholesterol and risk of stroke and carotid atherosclerosis: a systematic review. *Atherosclerosis* 2008; 2(196): 489-496.
8. Muravyov A.V., Tikhomirova I.A., Maimistova A.A. Crosstalk between adenylyl cyclase signaling pathway and Ca²⁺ regulatory mechanism under red blood cell microrheological changes. *Clin. Hemorheol. Microcirc* 2010; 2-4(45): 337-345.
9. Яхонтов Д. А. и др. Мультифокальный атеросклероз у больных ишемической болезнью сердца различных возрастных групп. *Клинико-гемодинамические параллели. Сибирское медицинское обозрение* 2018; 2