

© В.К. Хугаева, 2014
УДК 616-16

В.К. Хугаева

Микрососуды и тучные клетки в динамике экспериментальных гипертензий

УРАМН НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

В динамике экспериментальной почечной и гормональной гипертензии у крыс прослежено изменение таких параметров как артериальное давление (АД), ангиогенез на уровне микрососудов брыжейки тонкой кишки, численность тучных клеток (ТК), окружающих микрососуды. При одинаковом увеличении АД имелись качественные и количественные различия ангиогенеза в микрососудах брыжейки при почечной и гормональной гипертензии. Общим было наибольшее новообразование ветвей в микрососудах с наименьшим диаметром (12–19 мкм) при гипертензиях по сравнению с контролем. Реакция ТК зависела от вида артериальной гипертензии. Структурные изменения микроциркуляторного русла брыжейки тонкой кишки крысы зависят не только от увеличения АД, но и отражают особенности патогенеза каждого вида гипертензии.

Ключевые слова: гипертензия почечная и гормональная, микрососуды, биомикроскопия, ангиогенез, тучные клетки, брыжейка тонкой кишки, крысы

V.K. Khugaeva

Microvessels and mast cells in the dynamics of experimental hypertension

Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

In the dynamics of the experimental renal and hormonal hypertension in rats tracked change parameters such as blood pressure (BP), angiogenesis in microvessels of mesentery in small intestine, the number of mast cells (MC) surrounding microvessels. The same increase in BP there were qualitative and quantitative differences of angiogenesis in microvessels of mesentery in renal and hormonal hypertension. Overall it was the largest new form microvessels in branches with the smallest diameter (12–19 mkm) at hypertension compared with controls. MC response depended on the type of arterial hypertension. Structural changes of microcirculatory bed of mesentery in the small intestine of the rat depend not only on increased BP, but also reflect the characteristics of the pathogenesis of hypertension.

Key words: renal and hormonal hypertension, microvessels, biomicroscopy, angiogenesis. Mast cells, mesentery of small intestine, rat

Неотъемлемым компонентом микроциркуляторного русла являются тучные клетки (ТК), которые локализуются около кровеносных микрососудов. Показано, что наибольшее число ТК располагается вдоль лимфатических микрососудов [1]. ТК обладают не только полиморфизмом, но и полифункциональностью [16], что объясняется содержанием большого числа (более 35) биологически активных веществ в гранулах ТК [2, 3, 7, 16]. Наличие связи ТК с пептидергическими нервными волокнами предполагает возможность их участия в ангиогенезе [15, 18]. Они участвуют в регуляции кровяного давления, кровотока в микрососудах, сосудистой проницаемости [6, 10, 12] и многих патологических процессов протекающих в организме, включая аллергию, воспаление, травму [6, 13]. В последние десятилетия появилось значительное число работ, посвященных роли

ТК в патологии. Например, разрыв атеросклеротической бляшки в коронарной артерии связывают с присутствием не только активированных макрофагов и Т-лимфоцитов, но и влиянием ТК [17]. ТК рассматриваются в качестве ключевого звена в адаптивных и патологических процессах [6]. Секреция ТК катехоламинов при стимуляции постганглионарных адренергических аксонов рассматривается в качестве механизма регуляции адренорецепторов гладких миоцитов бронхов и сосудов [4]. Показано, что ТК способствуют ремоделированию сосудов легких при легочной гипертензии [14]. Артериальные гипертензии сопровождаются увеличением роста сосудистой сети [9].

Цель исследования — изучение реакции тучных клеток в процессе развития в условиях биомикроскопии, что могло бы дополнить ранее проведенные исследования при артериальной гипертензии с помощью косвенного метода (лазерная доплеровская флоуметрия) [8], не позволяющего количественно оценить в динамике ТК и микрососудистое русло.

Для корреспонденции: Хугаева Валентина Каргоевна, д.м.н., главный науч. сотр. ФГБУ НИИ ОПП РАМН, 125315, Балтийская ул., 8, лаборатория хронического воспаления и микроциркуляции. E-mail: vhugaeva@mail.ru

Методика

Эксперименты выполнены на 150 беспородных белых крысах-самцах с первоначальной массой 100—150 г. Почечную экспериментальную гипертонию вызывали по методу Goldblatt (1934 г.) в модификации А.Х. Когана (1962 г.) [5]. Операцию проводили в 2 этапа под эфирным наркозом: наложение сосудосуживающей спирали на левую почечную артерию; через 15—20 сут. после первой операции проводили правостороннюю нефрэктомиию. Гормональную экспериментальную гипертонию вызывали методом Selye (1943 г.). Через 8—20 сут. после левосторонней нефрэктомии в течение 30 сут. крысам ежедневно вводили внутримышечно 0,5% масляный раствор дезоксикортикостерон-ацетата (ДОКСА) по 5—10 мг. Одновременно с ДОКСА животные получали в качестве питья 2% раствор поваренной соли.

Артериальное давление (АД) измеряли бескровным способом по методу Н.С. Короткова без наркоза на хвосте крысы с помощью пьезодатчика нашей модификации [11]. Инвазивное измерение АД осуществляли в левой общей сонной артерии и в основной хвостовой артерии с целью сравнения с результатами, полученными при измерении бескровным методом. Прижизненное изучение микрососудов и тучных клеток брыжейки тонкой кишки крысы проводили методом биомикроскопии [12] в острых опытах с использованием уретанового наркоза в дозе 1,6 г/кг массы животного. Тучные клетки в прижизненных условиях выявляли при окраске 0,05% раствором толуидинового синего и на гистологических препаратах брыжейки после окончания опыта по методу Фалька (1965 г.). Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 5.5. Парные межгрупповые и внутригрупповые сравнения средних определяли по критериям Уилкоксона.

Результаты и обсуждение

Артериальное давление у контрольных животных, измеренное бескровным способом без наркоза, составляло $95,0 \pm 3,6$ мм рт.ст., у крыс с гипертонией $130,0 \pm 5,6$ мм рт.ст. ($p < 0,01$). Легкий эфирный наркоз не влияет на уровень АД в контрольной группе ($95,0 \pm 7,1$ мм рт.ст.), а у крыс с гипертонией ($115,0 \pm 4,9$ мм рт.ст.) снижает АД на 12% ($p < 0,05$). Уретановый наркоз снижал АД в контрольной группе на 24%. При кровавом способе измерения АД в хвостовой артерии в условиях уретанового наркоза получены результаты не отличающиеся от данных, полученных при измерении АД бескровным методом. В связи с изложенным, АД измеряли в дальнейшем без наркоза, бескровным методом на хвосте крысы без обогрева.

В ранние сроки (7 сут.) при почечной гипертонии отмечен подъем АД на 48%, при гормональной гипертонии — на 42%. В дальнейшем на этом уровне оно сохранялось на протяжении эксперимента.

Сравнение морфологических изменений микроциркуляторного русла брыжейки, возникших в процессе развития экспериментальных гипертоний, с контрольными наблюдениями показало следующее: по данным гистологических препаратов в контроле в поле зрения микроскопа при увеличении $\times 1000$ насчитывается в среднем $0,7 \pm 0,2$ артериоллярных микрососудов, при почечной гипертонии $1,5 \pm 0,3$ ($p > 0,05$), при гормональной $2,3 \pm 0,4$ ($p < 0,05$) микрососуда диаметром около 20 мкм. Такая же закономерность отмечена для микрососудов с диаметром около 200 мкм. В контроле насчитывалось $2,3 \pm 0,4$ сосуда в поле зрения микроскопа при увеличении 25х, при почечной гипертонии — $3,5 \pm 0,6$ ($p > 0,05$), при гормональной — $14,1 \pm 0,8$ ($p < 0,001$). Только при гормональной гипертонии развитие микрососудистой сети было больше выражено по сравнению с сосудами контрольных животных.

Естественно, возникает вопрос, за счет каких звеньев сосудистого русла происходит его увеличение.

В связи с поставленной целью прижизненно определяли степень разветвленности артериол диаметром от 12 до 45 мкм, которые разделили на 4 группы в зависимости от величины диаметра (табл. 1). Результаты исследования показали, что у контрольных крыс от артериол ответвляется от 5 до 11 ветвей меньшего диаметра, при почечной гипертонии 7—15 и при гормональной 10—12 ветвей. В контрольных опытах число ответвлений возрастало с увеличением диаметра микрососудов от 12 до 30 мкм и далее сохранялось максимальное значение. При почечной гипертонии наибольшая разветвленность отмечена в сосудах меньшего диаметра (12—25 мкм). При гормональной гипертонии имела место одинаковая разветвленность в исследуемых сосудах различного диаметра, но значимое отличие и увеличение по сравнению с контролем имели только микрососуды с наименьшим диаметром (12—19 мкм).

Обращает на себя внимание один факт — это снижение разветвленности более крупных сосудов (26—46 мкм) при почечной гипертонии по сравнению с контрольными результатами, что указывает на снижение васкуляризации брыжейки этими сосудами. Подобные изменения могли стать компенсаторной реакцией на наибольшее увеличение числа разветвлений в микрососудах с диаметром 20—25 мкм при почечной гипертонии.

Разветвленность артериол в контроле и при гипертензии (почечной и гормональной) в брыжейке тонкой кишки крысы, по данным биомикроскопии

Диаметр артериол, мкм	Число ответвляющихся микрососудов					
	Контроль		Гипертензия			
			Почечная		Гормональная	
	n	1	n	2	n	3
12—19 р	10	5,44 ± 1,05	10	10,33 ± 0,19 p ₁₋₂ < 0,02	10	12,22 ± 0,58 p ₁₋₃ < 0,01
20—25 р	10	7,83 ± 1,73	10	15,11 ± 0,58 p ₁₋₂ < 0,01	10	10,51 ± 1,63 p ₁₋₃ > 0,1
26—30 р	10	11,11 ± 0,36	10	9,56 ± 0,28 p ₁₋₂ < 0,02	10	11,33 ± 0,31 p ₁₋₃ > 0,1
31—45 р	10	11,14 ± 0,43	10	7,47 ± 0,58 p ₁₋₂ < 0,02	10	11,45 ± 0,32 p ₁₋₃ > 0,1

Примечание. Здесь и в табл. 2: р — значимость различий между группами (указаны цифрами); n — число измеренных сосудов

В контроле петли брыжейки тонкой кишки крысы радиальными артериями и венами разделены на прозрачные «оконца». Микрососуды располагаются преимущественно на периферии «оконца» (рис. 1), а в его центре часто встречается безсосудистая зона. Нередко встречаются целые петли брыжейки, лишённые микрососудов. При гипертензии (почечной и гормональной) во всех петлях брыжейки обнаруживали микрососуды. При почечной гипертензии микрососуды равномерно располагались по всей поверхности «оконца» (рис. 2), при гормональной — густая сеть сосудов сосредотачивалась на периферии «оконца» (рис. 3) и образовывала своеобразные скопления в виде капиллярных клубочков (рис. 4). При экспериментальных гипертензиях увеличивалась волнообразная изви-тость микрососудов.

Увеличение микрососудистой сети в брыжейке кишки при гипертензии возникает за счет включения в кровоток ранее не функционировавших микрососудов (метартериол, прекапилляров, капилляров, посткапилляров, артериоло-венулярных анастомозов) вследствие увеличения длины сосудов при их волнообразном изменении и в результате новообразования. Увеличение количества и площади микрососудистого русла является реакцией органа-депо крови, направленную на уменьшение внутрисосудистого давления и усиление транскапиллярного обмена в условиях гипертензии. Вовлечение в этот процесс микрососудов диаметром 12—25 мкм в течение первых 7 сут. повышенного уровня АД свидетельствует о быстрой изменчивости и приспособляемости к изменяющимся условиям гемодинамики терминального сосудистого русла.

Увеличение микрососудистого русла при почечной и гормональной артериальной гипертензии сопровождалось увеличением численности тучных клеток

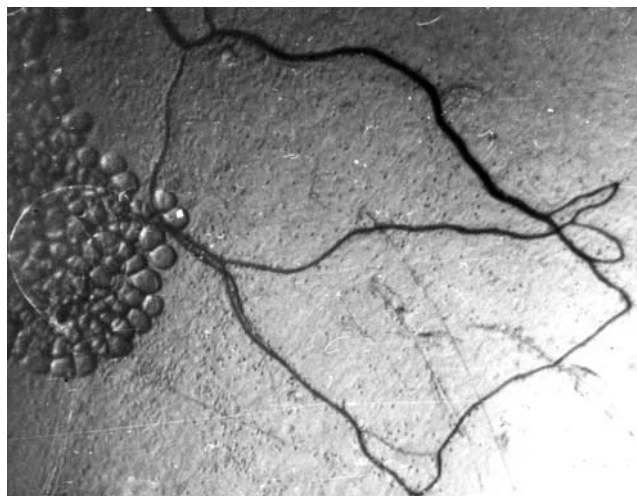


Рис. 1. Микрососудистая сеть брыжейки тонкой кишки крысы в контроле. Биомикроскопия. Увеличение: об.х2,5, ок.х3.

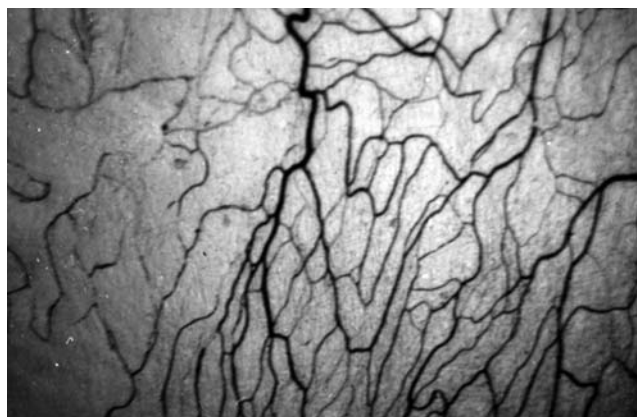


Рис. 2. Развитие микрососудистой сети брыжейки тонкой кишки крысы при почечной артериальной гипертензии. Биомикроскопия. Увеличение: об.х2,5, ок.х3.

Число тучных клеток в контроле и в динамике гипертоний (почечной и гормональной) в брыжейке тонкой кишки крысы, по данным биомикроскопии

Срок гипертонии, сут.	Число тучных клеток*					
	Контроль		Гипертония			
	n	I	Почечная		Гормональная	
n			2	n	3	
7	30	8,94 ± 0,46	15	6,41 ± 0,68 p ₁₋₂ < 0,01	30	19,24 ± 3,84 p ₁₋₃ < 0,01 p ₂₋₃ < 0,01
14			15	8,62 ± 1,27 p ₁₋₂ > 0,1	30	15,75 ± 0,61 p ₁₋₃ < 0,01 p ₂₋₃ < 0,01
60			15	10,16 ± 1,06 p ₁₋₂ > 0,1	30	16,63 ± 2,48 p ₁₋₃ < 0,01 p ₂₋₃ > 0,05
100			15	14,22 ± 1,65 p ₁₋₂ < 0,01	30	18,11 ± 2,21 p ₁₋₃ < 0,01 p ₂₋₃ > 0,05

Примечание. * — тучные клетки считали в поле зрения микроскопа при увеличении: об. х40, ок. х8; n — число просмотренных полей зрения

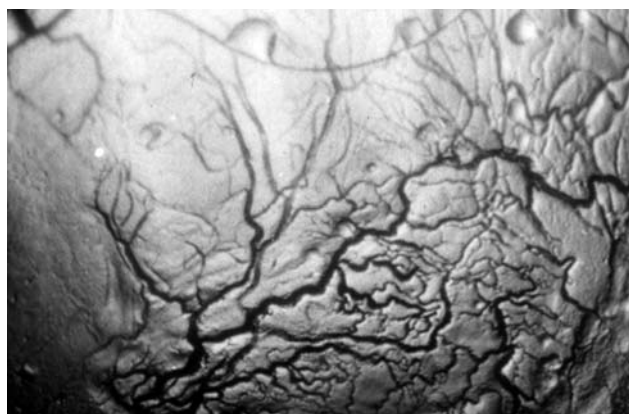


Рис. 3. Развитие микрососудистой сети брыжейки тонкой кишки крысы при гормональной (ДОКСА) артериальной гипертонии. Биомикроскопия. Увеличение: об.х2,5, ок.х3.

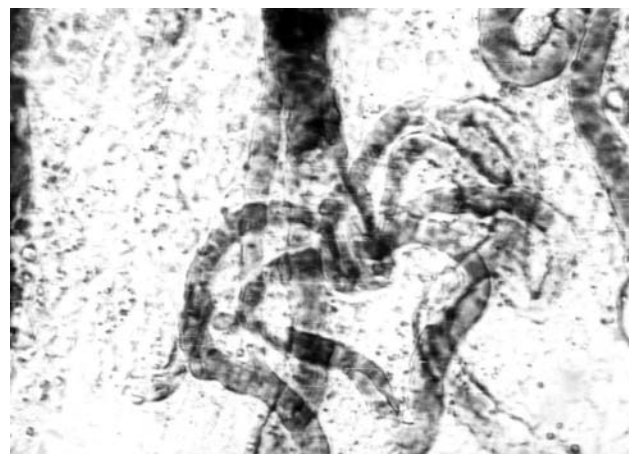


Рис. 4. Капиллярный «клубочек» в брыжейке тонкой кишки крысы при гормональной (ДОКСА) артериальной гипертонии. Биомикроскопия. Увеличение: об.х40, ок.х3.

(табл. 2). Исключением было снижение количества ТК при почечной гипертонии при сроке 7 сут. по сравнению с контрольными результатами.

Возможной причиной дегрануляции ТК при почечной гипертонии является реакция на стресс, который вызвали две перенесенные животными операции (наложение спирали на почечную артерию и удаление противоположной почки).

Быстрое и длительное увеличение числа ТК при гормональной гипертонии могло быть обусловлено влиянием ДОКСА, который является синтетическим аналогом кортикоидов.

Тучные клетки и кора надпочечников, имея общее происхождение (мезодермальный зародышевый листок), составляют единую систему реагирования. При этом ТК, по-видимому, являются тем промежуточным звеном, посредством которого реализуется влияние кортикоидов на мезэнхиму.

Таким образом, можно констатировать, что при увеличении АД при почечной и гормональной экспериментальной гипертонии рост сосудистой сети в ткани брыжейки тонкой кишки крысы связан преимущественно с микрососудами с диаметром 12—19 мкм. Сосуды разного диаметра по-разному участвуют в этом процессе при почечной гипертонии и одинаково при гормональной гипертонии. Реакция ТК аналогично была различной в зависимости от срока почечной гипертонии и абсолютно стандартной при гормональной гипертонии. Реакция ТК носит дифференцированный характер в зависимости от патогенеза артериальной гипертонии, что необходимо учитывать при коррекции возникающих при гипертонии изменений.

Список литературы

1. **Ардасенов А.В., Хугаева В.К., Александров П.Н.** Микроциркуляторное русло кожи в условиях воспаления и коррекции методом лимфостимуляции. — М.: Научный мир, 2004. — 148 с.
2. **Быков В.А.** Секреторные механизмы и секреторные продукты // Морфология. — 1999. — 115 (2). — С. 64–72.
3. **Быков В.А.** Развитие и гетерогенность тучных клеток // Морфология. — 2000. — 117 (2). — С. 86–92.
4. **Елисеева Е.В.** Регуляция функционального состояния тучных клеток медиастинальной плевры препаратами адренергического действия // Морфология. — 2001. — 120 (3). — С. 75–80.
5. **Коган А.Х.** Воспроизведение экспериментальной гипертонии у крыс стенозированием почечных артерий // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1962. — 6 (3). — С. 79–80.
6. **Кондашевская М.В.** Тучные клетки и гепарин — ключевые звенья в адаптивных и патологических процессах // Вестник РАМН. — 2010. — 6. — С. 49–54.
7. **Омельяненко Н.П., Слуцкий Л.И.** Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия). — М.: Известия, 2009.
8. **Федорович А.А.** Функциональное состояние регуляторных механизмов микроциркуляторного кровотока в норме и при артериальной гипертонии по данным лазерной доплеровской флоуметрии // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2010. — Т. 9, №1 (33). — С. 49–60.
9. **Хугаева В.К.** Микроциркуляторное русло в условиях почечной и гормональной гипертонии: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 1976.
10. **Хугаева В.К., Ардасенов А.В.** Влияние ультрафиолетового облучения на микроциркуляторное русло кожи // Патогенез. — 2003. — 1 (2). — С. 57–61.
11. **Хугаева В.К., Чернух А.М., Александров П.Н.** Пьезоэлектрический метод регистрации артериального давления у крыс в норме и при гипертонии // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1974. — 18 (3). — С. 75–76.
12. **Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В.** Микроциркуляция. — М.: Медицина, 1984.
13. **He S.H.** Key role of mast cells and their major secretory products in inflammatory bowel disease // World J. Gastroenterology. — 2004. — 10 (3). — P. 309–318.
14. **Hoffman J., Yin J., Kukucka M.** et al. Mast cells promote lung vascular remodeling in pulmonary hypertension // Eur. Respir. J. — 2011. — 37 (6). — P. 1400–1410.
15. **Keith J.M., Jin J., Saban R.** Nerve-mast cells interaction in normal guinea pig urinary bladder // J. Comp. Neurol. — 1995. — 363 (1). — P. 28–30.
16. **Kovanen P.T.** Mast cells in atherogenesis: actions and reactions // Curr. Atheroscler. Rep. — 2009. — 11 (3). — P. 214–219.
17. **Linstedt K.A., Leskinen M.J., Kovanen P.T.** Proteolysis of pericellular matrix: novel element determining cell survival and death in the pathogenesis of plaque erosion and purpura // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2004. — 24 (8). — P. 1350–1358.
18. **Nienartowicz A., Sobaniec-Kotowska M.E., Jarosca-Cyrta E., Lemancewics D.** Mast cells in neoangiogenesis // Med. Sci. Monit. — 2006. — 12 (3). — P. 53–56.

Поступила 16.04.14