

УДК 577.71:616.127:611.127:076.4

А. С. Ступина, И. Н. Маньковская, О. А. Давиденко, М. Г. Бухман

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ СТРУКТУРНЫХ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЛЯРОВ МИОКАРДА В ПОЗДНЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Вопросы функциональной морфологии кровеносных капилляров привлекают пристальное внимание исследователей, начиная с классических работ Крога [19]. Морфологические данные о путях микроциркуляции представляются необходимыми для познания физиологических закономерностей кровотока, трансапиллярного обмена, а также для исследования патогенеза многочисленных заболеваний.

В ряде работ показано [5, 6, 14, 23], что среди морфологических и функциональных изменений, возникающих при старении организма, важную роль играют нарушения, происходящие в капиллярной системе различных органов и тканей, — инволюция капилляров, изменения их проницаемости, реактивности и резистентности, замедление капиллярного кровотока. Особое значение приобретает исследование структурных параметров капиллярного русла, морфологии эндотелия кровеносных капилляров в проблеме геронтогенеза сердечно-сосудистой системы и, в частности, сердечной мышцы. В то же время сведения о структурных и ультраструктурных изменениях кровеносных капилляров миокарда при старении очень скудны.

Имеются немногочисленные работы, в которых рассматриваются вопросы функциональной геометрии капиллярного русла сердца при старении. Показано [22, 26], что в миокарде старых крыс снижается количество капилляров на единицу площади мышцы и несколько уменьшается соотношение между величинами капилляров и мышечных волокон.

В литературе имеются сообщения [1, 2, 11], согласно которым в эндотелии капилляров миокарда при старении наблюдается изменение размеров и снижение числа микропиноцитозных везикул, непосредственно участвующих в обменных процессах между кровью и кардиомиоцитами, а также указывается на усложнение формы соединения эндотелиальных клеток как в артериальных, так и в венозных капиллярах.

Некоторые авторы [1, 18, 20, 24] отмечают значительное утолщение эндотелиальных клеток и базальной мембраны капилляров различных органов при старении человека и животных. Необходимость дальнейшего детального исследования этих вопросов в процессе старения обусловило задачу настоящей работы. Были изучены структурные и диффузионные параметры, особенности архитектоники капилляров, тонкое строение капиллярной стенки в сердечной мышце животных разного возраста.

Методика исследований

Исследовали капилляры миокарда 30 взрослых (6—12 месяцев) и 30 старых (24—32 месяца) белых крыс. Были использованы морфологические, гистохимические, электронномикроскопические методы исследования с применением морфометрического анализа.

Наряду с обычными гистологическими методиками (окраска гематоксилин-эозином, окраска по Ван-Гизону) использовали и специальные методы для изучения капилляров. Один из них (метод Слонимского [25]), основанный на выявлении капиллярного ложа по эритроцитам, применяли для изучения функционирующих (открытых) капилляров, другой (реакция Гомори для выявления щелочной фосфатазы в стенке капилляра [10]) — для изучения суммарного количества капилляров органа, их формы и размеров просвета.

Усадку ткани, происходящую при фиксации, обезвоживании и заключении срезов, определяли по общепринятому методу [17]. Фактор усадки составлял для метода Слонимского $1,20 \pm 0,08$, а для метода Гомори — $1,48 \pm 0,05$. В срезах подсчитано общее количество капилляров и число открытых капилляров, число мышечных волокон на площади $0,05 \text{ мм}^2$ (по 10 участков в каждом срезе). Конечное число капилляров и волокон было приведено на 1 мм^2 площади миокарда (плотность капилляров и волокон). Исходя из этих величин, вычисляли отношение между капиллярами и мышечными волокнами, а также капиллярный резерв — разность между плотностями всех и открытых капилляров.

Средний радиус волокна (R), суммарные периметры капилляров и волокон и их процентное отношение (поверхностный показатель — ПП) определяли по формулам [13]. Радиус диффузии ($D/2$) — половина расстояния между центрами ближайших капилляров — рассчитывали по Ракушан, Поупа [22], исходя из плотности открытых капилляров. Полученные цифровые данные обработаны статистически с применением критерия Стьюдента [12].

Для электронномикроскопического исследования использовали кусочки миокарда, предварительно фиксированные в 5%-ном растворе глутаральдегида и в дальнейшем фиксированные в 1%-ном растворе четырехоксида осмия; ткань заключали в эпоксидную смолу (ЭПОН-812); срезы изготовляли на ультрамикротоме LKB-8801 А, контрастировали уранил-ацетатом и просматривали в электронном микроскопе высокого разрешения типа JEM-100 В.

Результаты исследований

При гистологическом исследовании капилляров миокарда выявлена неравномерность их кровенаполнения у старых животных: встречались как умеренно, так и значительно расширенные капилляры, капилляры с узким просветом. Диаметры капилляров в миокарде старых крыс колебались от 3,8 до 10 мкм . У взрослых крыс диапазон колебаний был меньшим (от 4,0 до 7,0 мкм). В то же время средние значения радиусов капилляров r у взрослых и старых крыс мало отличались друг от друга (см. таблицу, $p > 0,05$). Капилляры миокарда располагаются параллельно мышечным волокнам, однако у старых животных более выражена извилистость капилляров, а число капиллярных анастомозов, расположенных под углом к мышечным волокнам, снижается.

На уровне световой микроскопии показано, что количество интрафасцикулярной соединительной ткани миокарда мало изменяется при старении, но возрастает содержание интерфасцикулярных прослоек, особенно периваскулярно вблизи эпи- и эндокарда, что совпадает с наблюдениями других авторов [26]. Установлено, что при старении происходят существенные изменения структурных и диффузионных показателей капиллярного русла сердечной мышцы. В миокарде старых крыс достоверно уменьшается плотность капилляров (в том числе открытых), что сопровождается соответствующим удлинением радиуса диффузии (см. таблицу). Капиллярный резерв миокарда при старении имеет тенденцию к снижению (см. таблицу, $p > 0,05$). У старых животных достоверно увеличиваются размеры мышечных волокон сердца (снижение плотности волокон и возрастание среднего радиуса волокна). Соотношение между числом капилляров и волокон при старении остается неизменным (см. таблицу, $p > 0,05$), однако ПП в миокарде старых животных снижается (см. таблицу, $p < 0,01$).

При электронномикроскопическом исследовании сердца взрослых и старых крыс отмечено однотипное строение стенки капилляров миокарда, которая состоит из плотно контактирующих эндотелиальных клеток,

расположенных монослоем и образующих внутреннюю выстилку капилляра, и наружного базального слоя.

У взрослых животных плазмолемма эндотелиальных клеток равномерной толщины на всем протяжении и формирует большое количество шаровидных или колбовидных микропиноцитозных везикул в цитоплазме со стороны базальной и люминальной поверхности; в матриксе цитоплазмы эндотелиальных клеток также содержатся свободно расположенные микропиноцитозные везикулы и небольшое число окаймленных пузырьков. На люминальной поверхности эндотелиальной клетки встречаются выросты и микроворсинки, обращенные в просвет капилляра, у места стыка двух эндотелиальных клеток плазмолемма, как правило, образует маргинальные складки. Периферические участки эндотелиальных клеток истончены, в области перикариона цитоплазма утолщена и достигает 1,2—4,0 мкм. Каждая эндотелиальная клетка имеет одно ядро округлой или чаще овальной формы, гетерохроматин расположен по периферии ядра, в ядре определяется одно, реже два ядрышка (рис. 1). В области перикариона цитоплазма эндотелиальных клеток содержит небольшое число органоидов. Гладкая эндоплазматическая сеть развита слабо и состоит из трубочек небольшой длины и равномерной толщины, а также удлинённых пузырьков. На мембранах шероховатого ретикулума четко контурированы электронноплотные гранулы РНП; часть рибосом собрана в тетрады и свободно располагается в цитоплазме. Пластинчатый комплекс расположен в цитоплазме вблизи ядра и представлен плотно упакованными изогнутыми трубочками, крупными вакуолями и мелкими пузырьками. Митохондрии эндотелиальных клеток взрослых животных овальной или округлой формы, диаметр их обычно равен 0,3—0,4 мкм, количество крист невелико, матрикс митохондрий умеренной плотности (рис. 1). Эндотелиальные клетки окружены сплошным базальным слоем,

Параметры капилляризации сердечной мышцы крыс разного возраста

Параметры		Возраст (мес)	
		6—12	24—32
Экспериментальные*	Плотность всех капилляров, кап. на мм ²	5980±17	4713±18
	Плотность открытых капилляров (N _к), кап. на мм ²	2858±41	2424±12
	Плотность волокон (N _в), вол. на мм ²	2826±38	2350±11
	Радиус капилляра (r), мкм	3,0±0,02	3,0±0,9
	N _к /N _в	1,01±0,02	1,03±0,005
Расчетные	Капиллярный резерв**, кап. на мм ²	1659±242	1164±192
	Радиус диффузии (D/2), мкм	9,3±0,14	10,1±0,04
	Средний радиус волокна (R), мкм	10,2±0,10	11,2±0,10
	ПП, %	29,74	27,63

* Приведенные экспериментальные параметры даны без поправки на сморщивание ткани; для получения истинных величин цифры плотностей капилляров и волокон надо разделить на фактор усадки, а величину r умножить на квадратный корень фактора усадки [17].

** Капиллярный резерв рассчитывался с учетом факторов усадки.

состоящим у взрослых крыс из нежнофибриллярного неклеточного компонента умеренной электронной плотности и клеточного компонента — перицитов. В капиллярах миокарда старых животных выявлены особенности эндотелиальных клеток и базального слоя. При старении отмечено уплотнение и утолщение некоторых участков плазматической мембраны, мембран микропиноцитозных пузырьков. Нередко происходило очаговое набухание и отек цитоплазмы эндотелиальных клеток со снижением ин-

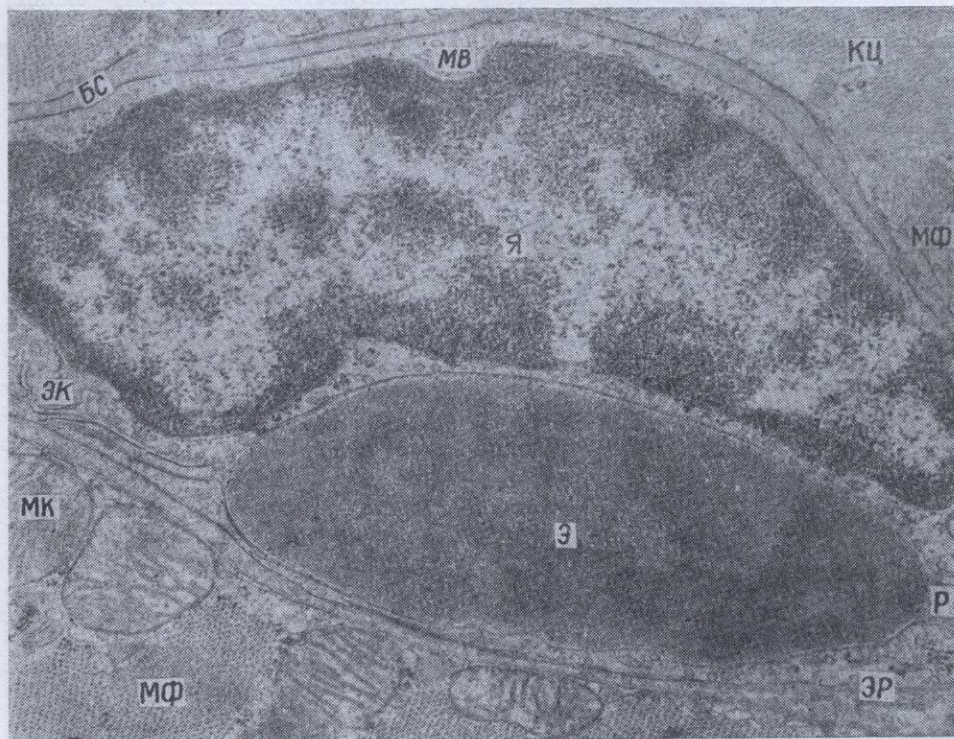


Рис. 1. Электронная микрофотография капилляра миокарда взрослого животного Ув. 12 000.

А — аутофагосома, БС — базальный слой, КЦ — кардиоцит, М — митохондрия эндотелиальной клетки, МВ — микропиноцитозная везикула, МК — митохондрия кардиоцита, МФ — миофибрилла, ПК — просвет капилляра, ПП — перикапиллярное пространство, Р — рибосомы, Э — эритроцит, ЭК — эндотелиальная клетка, ЭР — эндоплазматический ретикулум, Я — ядро эндотелиальной клетки.

тенсивности микропиноцитоза в этих участках (рис. 2). Изменения в эндотелиальных клетках отличались гетерогенностью. Так, некоторые каналцы эндоплазматического ретикулума были расширены, обнаруживались изменения части митохондрий — набухание, гипертрофия, а также изменения некоторых митохондрий в виде очагового просветления матрикса, дискомплексации и гомогенизации крист, уплотнения мембран. В цитоплазме увеличивалось количество первичных лизосом, появлялись остаточные тельца и миелоноподобные структуры (рис. 3).

В капиллярах миокарда старых животных выявлено расширение межклеточных контактов. Наиболее постоянным и выраженным признаком процесса старения в стенке капилляров миокарда являлись изменения неклеточного компонента базального слоя, проявляющиеся его расширением (утолщением), а также уплотнением. В неклеточном компо-

ненте базального слоя появлялись волокнистые структуры; происходило увеличение его толщины (до 700 Å), а некоторые участки неклеточного компонента базального слоя были еще более увеличены в размерах.

Обсуждение результатов исследований

При излучении морфологических и диффузионных показателей капиллярного русла миокарда было показано, что при старении происходит удлинение путей диффузии веществ (в частности, кислорода) между

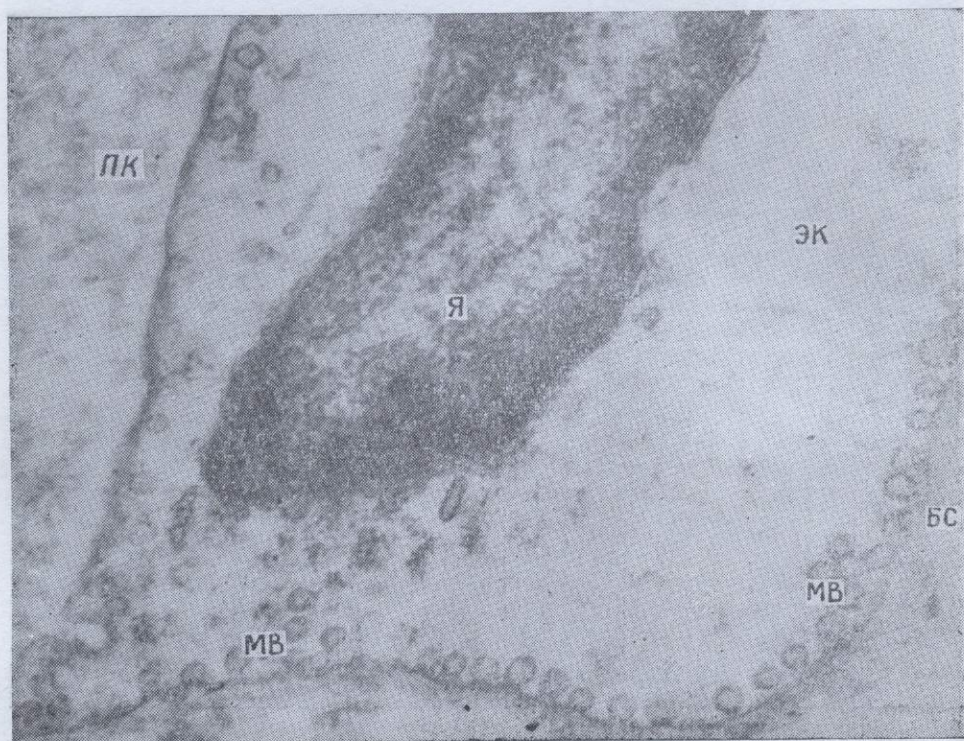


Рис. 2. Ультраструктура капилляра миокарда старого животного. Отек цитоплазмы эндотелиальной клетки. На люминальной поверхности эндотелиальной клетки единичные микропиноцитозные везикулы, очаговое уплотнение и утолщение плазмолеммы. Ув. 24 000.

кровью капилляров и мышечными клетками. Это удлинение происходит, с одной стороны, за счет уменьшения плотности капилляров и возрастания радиусов диффузии, а с другой стороны,— за счет увеличения размеров мышечных волокон. Соотношение между числом капилляров и волокон на единицу площади миокарда при старении мало изменяется, однако величина поверхностного показателя, которая учитывает величины радиусов капилляров и волокон и более точно отражает степень кровоснабжения ткани [13], в миокарде старых животных значительно снижается. Уменьшается при старении и капиллярный резерв сердечной мышцы, снижение которого можно трактовать как ограничение компенсаторных возможностей увеличения кровотока, а следовательно, и более значительного выхода кислорода на единицу объема миокарда.

Наши данные косвенно подтверждают положение о том, что при нормальных условиях в работающем сердце взрослых крыс открытыми являются лишь около 60% всех капилляров [16, 21].

Отмеченные в процессе старения изменения параметров капилляризации миокарда — уменьшение плотности капилляров и ПП, увеличение радиуса диффузии и среднего радиуса мышечного волокна — приводят к уменьшению поверхности диффузии и градиентов парциального давления кислорода между кровью и мышечной тканью, что ухудшает условия диффузии кислорода из крови капилляров в клетки миокарда.

Эти изменения, а также выявленное у старых животных снижение капиллярного резерва и количества капиллярных анастомозов характе-

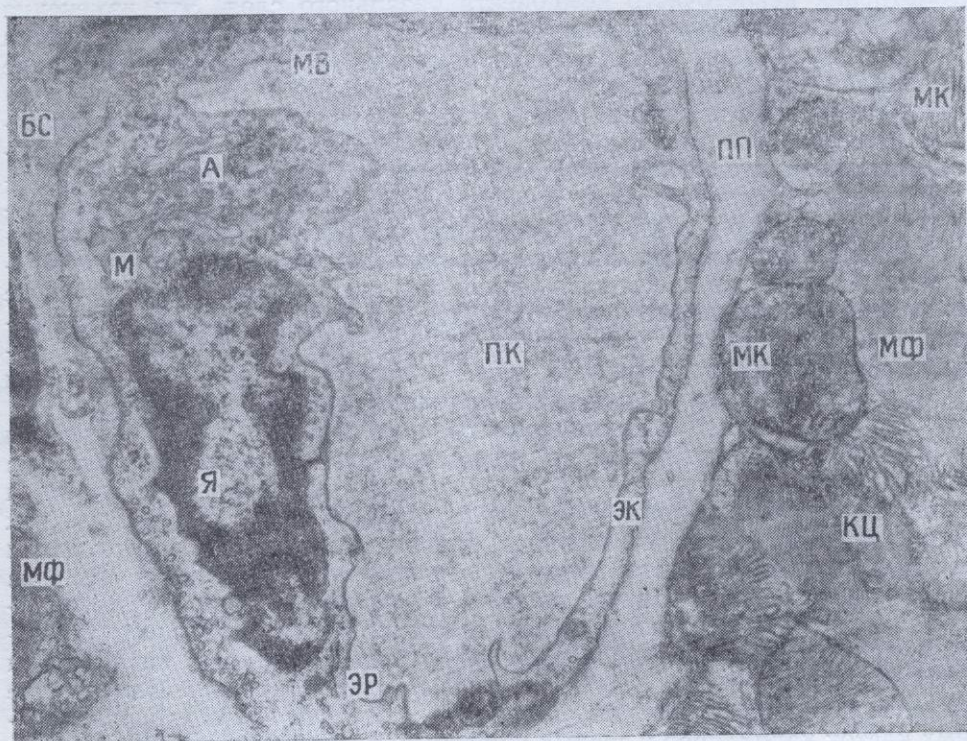


Рис. 3. Электронная микрофотография капилляра миокарда старого животного.

В перикарионе эндотелиальной клетки аутофагосома, митохондрия с единичными кристами, на люминальной поверхности эндотелиальной клетки мало микропиноцитозных везикул, перикапиллярное пространство расширено. Ув. 11 000.

ризуют уменьшение возможности как анатомической, так и динамической адаптации кровеносных капилляров, заключающейся в обеспечении адекватной заданному уровню метаболизма миокарда доставки кислорода [4, 5]. Однако морфологически в миокарде старых животных отмечаются такие особенности строения капиллярной системы, которые, очевидно, имеют компенсаторное значение. Так, появление извилистости капилляров, возрастание степени капиллярной дилатации свидетельствуют о развитии приспособлений для увеличения емкости сосудистого бассейна сердца [7], хотя, с другой стороны, диффузионные показатели капилляра большей длины ухудшаются.

Проведенное изучение ультраструктурной организации капилляров миокарда в процессе старения организма выявило изменения в эндотелиальных клетках и базальном слое, которые имели гетерогенный характер и являлись неспецифическими признаками при физиологическом старении клеток различных органов. Так, обнаруженные нами при старении изменения органелл эндотелиальных клеток в виде просветлений

и набухания матрикса митохондрий, разрушения их внутренней мембраны, дискомплексации крист, расширения межкристных промежутков митохондрий, увеличения числа вторичных лизосом, электронноплотных включений, а также уплотнения плазмолеммы наблюдались при старении нейронов, кардиоцитов, эпителиальных клеток [8, 11, 15]. В процессе старения нами отмечен ряд ультраструктурных перестроек капилляров миокарда, выражающихся в отеке цитоплазмы эндотелиальных клеток, уменьшении числа микропиноцитозных везикул, расширении и уплотнении неклеточного компонента базального слоя. Эти изменения свидетельствуют об ухудшении условий трансэндотелиального транспорта и трансапиллярного обмена, что, по-видимому, обуславливает снижение проницаемости капилляров.

Выраженные изменения мембранных структур эндотелиальных клеток (очаговое уплотнение плазматической мембраны и мембран микропиноцитозных пузырьков, нарушение целостности мембраны митохондрий), просветление матрикса цитоплазмы некоторых клеток можно отнести, по-видимому, к неспецифическим ультраструктурным перестройкам капилляров, наблюдающимся при гипоксии различного происхождения [3, 9]. В то же время выявленные при старении ультраструктурные особенности капилляров — гипертрофия части митохондрий, расширение канальцев эндоплазматического ретикулума и пластинчатого аппарата, инвагинация ядерных мембран — свидетельствуют о напряжении внутриклеточных структур и носят приспособительный характер.

Таким образом, при исследовании морфологии и ультраструктуры капилляров сердечной мышцы животных разного возраста выявлена однотипность структуры капиллярной стенки и принципа архитектоники капилляров. Такие гистологические и диффузионные особенности, как уменьшение количества капилляров, приходящегося на единицу площади мышцы, неравномерность диаметра капилляров, увеличение радиуса диффузии и среднего радиуса волокна, увеличение волокнистой соединительной ткани по ходу капилляров, снижение числа поперечных анастомозов свидетельствуют об ухудшении условий доставки кислорода и питательных веществ в клетки миокарда при старении. Отмеченные изменения усугубляются нарушениями ультраструктуры эндотелиальных клеток капилляров у старых животных: расширением и уплотнением базального слоя, увеличением количества клеточных элементов в нем, очаговым утолщением плазматической мембраны и мембраны микропиноцитозных вакуолей, дистрофическими изменениями мембран митохондрий. Наряду с этим следует отметить, что при старении возникают перестройки архитектоники капиллярного русла и тонкой структуры стенки капилляров, свидетельствующие о развитии компенсаторно-приспособительных механизмов, направленных на повышение уровня доставки и утилизации кислорода, на тканевом и субклеточном уровне — извитой ход капилляров, расширение канальцев эндоплазматического ретикулума и пластинчатого комплекса, гипертрофия части митохондрий.

Литература

1. Афанасьев Ю. И., Горячкина В. Л. Ультраструктурная и цитохимическая организация миокарда старых крыс. — Морфоадаптация мышц в норме и патологии (сборник научных работ). Саратов, 1975, с. 30—36.
2. Володько Я. Т. Некоторые специфические возрастные изменения эндотелия капилляров миокарда. — В кн.: Современные проблемы геронтологии и гериатрии. Тбилиси, 1977, с. 242—244.
3. Зербино Д. Д. Общие закономерности ультраструктурной трансформации капилляров при гипоксии. — Ультраструктура микроциркуляторных путей в патологии (материалы Республ. конференции). Львов, 1974, с. 174—175.

4. Иванова С. Ф. Морфологический аспект в регуляции мышечного кровотока.— В кн.: Регуляция кровообращения в скелетных мышцах. Рига, «Зинатне», 1973, с. 27—32.
5. Каниболоцкая В. П. Про стан периферичного кровообігу у осіб старого віку за даними капіляроскопії і осцилографії.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1966, 12, II 3, с. 370—376.
6. Коркушко О. В., Иванов Л. А., Саркисов К. Г. Влияние гипоксии на внешнее дыхание газообмен и капиллярное кровообращение в пожилом и старческом возрасте.— В кн.: Дыхание, газообмен и гипоксические состояния в пожилом и старческом возрасте. Киев, 1975, с. 136—148.
7. Куприянов В. В. Пути микроциркуляции. Кишинев, 1969, 260 с.
8. Манина А. А. Ультраструктурные основы деятельности мозга. Л., «Медицина», 1976, 184 с.
9. Мельман Е. П., Шевчук М. Г. Кровеносное русло сердца и его потенциальные резервы. М., «Медицина», 1976, 239 с.
10. Пирс Э. Гистохимия, М., Изд-во ИЛ, 1962, 962 с.
11. Ступина А. С. Возрастные особенности функциональной морфологии миокарда в условиях развития гиперфункции сердца.— Функциональная морфология. Харьков, 1975, вып. 12, с. 116—119.
12. Урбах В. Ю. Биометрические методы. М., «Наука», 1964, 415 с.
13. Шошенко К. А. Кровеносные капилляры. Новосибирск, «Наука», 1975, 374 с.
14. Bürger M. Altern und Krankheit als Problem der Biomorphose. Leipzig, 1960, 270 S.
15. Franks L. M. Ageing in differentiated cells.— Gerontologia, 1974, 20, N 1, p. 51—62.
16. Henquell L., Honig C. R. Intercapillary distances and capillary reserve in right and left ventricles: significance for control of tissue pO_2 .— Microvasc. Res., 1976, 12 N 1, p. 35—41.
17. Heroux P., Pierre J. St. Effect of cold acclimation on vascularization of ears, heart, liver and muscles of white rats.— Amer. J. Physiol., 1957, 188, N 1, p. 163—168.
18. Krebs W., David H. Beitrag zu elektronenmikroskopischen und funktionellen Altersveränderungen der Kapillaren.— Dtsch. gesundheits Wesen., 1962, 17, s. 1845—1849.
19. Krogh A. The rate of diffusion of gases through animal tissues with some remarks of coefficient of invasion. J. Physiol. (L.), 1919, 52, N 6, p. 391—408.
20. Lenenberger P. M. Ultrastructure of the ageing retinal vascular system with special reference to quantitative changes of capillary basement membranes.— Gerontologia, 1973, 19, p. 1—15.
21. Martini J., Honig C. R. Direct measurement of intercapillary distance in beating rat heart in situ under various conditions of O_2 supply.— Microvasc. Res., 1969, 1, N 3, p. 244—256.
22. Rakušan K., Poupa O. Capillaries and muscle fibers in the heart of old rats.— Gerontologia, 1964, 9, p. 107—112.
23. Ries W. Das Altern des Kapillarsystems.— Dtsch. Gesundheitswesen, 1961, 13, S. 580—
24. Siperstein M. D., Unger R. H., Madison L. L. Studies of muscle capillary basement membranes in normal subjects, diabetic and prediabetic patients.— J. Clin. Invest., 1968, 47, p. 1973—1999.
25. Stonimski P. Über die Darstellung winziger Blutgefäße mittels der Benzidinprobe.— Z. med., 1927, 44, S. 1—8.
26. Tomanek R. J. Effects of age and exercise on the extent of the myocardial capillary bed.— Anat. Rec., 1970, 167, N 1, p. 55—62.

Отдел гипоксических состояний Института физиологии
им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев.
Лаборатория морфологии и цитологии
Института геронтологии АМН СССР, Киев.

Поступила в редакцию
10.VI 1977 г.

A. S. Stupina, I. N. Man'kovskaja, O. A. Davidenko, M. G. Bukhman

FUNCTIONAL SIGNIFICANCE OF THE STRUCTURAL AND ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN MYOCARDIUM BLOOD CAPILLARIES IN LATE ONTOGENESIS

Summary

Myocardium-capillaries of adult and senile rats are studied by the histological and electron-microscopic methods. The morphometric analysis of the material is applied. In old animals the following changes in the diffusion indexes of the myocardium capillary bed are found: a decrease in the density of capillaries, the value of surface index, an increase in the diffusion radius. Using electron-microscopy different changes in the endothelium and basal layer are noticed: an enlargement and induration of the basal layer, decrease in intensity of micropinocytosis. Parallel with the dystrophic changes in mitochondria the compensatory reconstructions in organoids of the endothelial cells are observed.