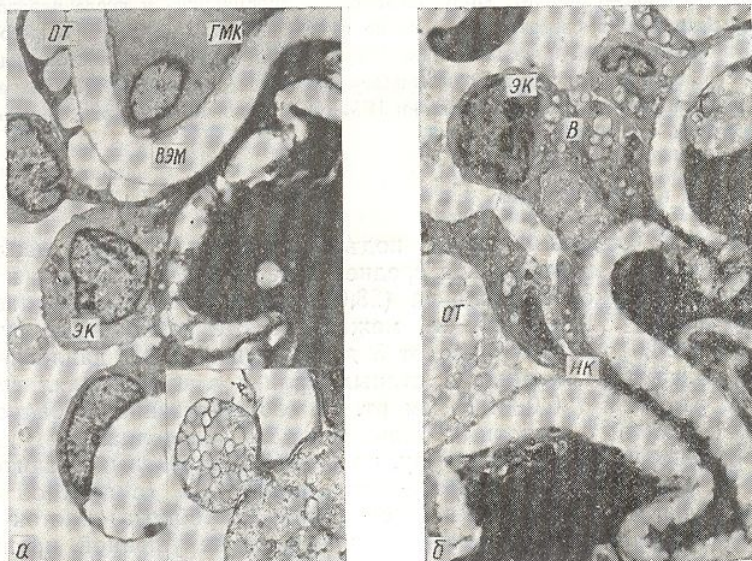


ляемая при световой микроскопии, не всегда однозначна в функциональном отношении. В одних случаях наблюдается гидратация цитоплазмы, набухание митохондрий, расширение канальцев эндоплазматической сети (ЭС), увеличение в объеме пластинчатого комплекса, эухроматизация ядра, что свидетельствует об усилении функциональной активности ЭК (рис. 1, б). В других случаях, (чаще у старых животных) вакуолизация клеток нередко была результатом парциального



Эндотелий бедренных артерий старых кроликов после введения ангиотензина II: а — через 30 мин (ЭК — эндотелиальная клетка, ВЭМ — внутренняя эластическая мембрана, в складке которой сжата ЭК, ОТ — отек субэндотелия, фрагмент в правом нижнем углу фотографии — образование макропузырей на поверхности ЭК). Ув. 9570 и 12240; б — через 1 сут (НК — некроз клетки, сжатой в складке ВЭМ; ОТ — отек субэндотелия; В — вакуолизация ЭК). Ув. 8580.

отека цитоплазмы, резкого расширения канальцев ЭС и перинуклеарного пространства с разрушением внутриклеточных мембран и лизисом некоторых клеток. Доля оптически плотных ЭК у молодых кроликов не изменялась по сравнению с ранним сроком (через 30 мин после введения вазоактивного вещества), что может указывать на необратимость изменений, возникших в сжатых ЭК. У старых кроликов, напротив, доля таких клеток уменьшалась. Оказалось, что доля клеток,

зжатых в складках клетки, которые в той или иной до спазма, подвергались светлыми. В этих клетках в области контакта с белками плазмы эндотелия были также б

Представленные результаты функциональной выстилки бедренной артерии отличаются от таковой у старых животных повреждения или нарушения проницаемости. Это особенно в условиях острого увеличения вазоконстрикции такие компрессии и ишемии, разрушающих факторы погибают. В связи с этим функциональной выстилки с контактами поврежденными

В настоящее время тонус сосудов, выявляемый мышцами [6, 8], изменение вазоактивных и дилатации артерий [1, 1] в значительной мере способствует продуцированию релаксирующего расслабляющего способствовать увеличению сосудов к вазоактивному спазму. Следует, однако, отметить, что с возрастом изменения чувствительности Известно, что с возрастом судистой системы и с одной стороны симпатико-адреналиновой может иметь прогрессивное изменение арахидоновой кислоты рецепторов [7].

В ходе исследования с однократным введением препарата происходило

Доля эндотелиальных клеток (ЭК) различной структуры в бедренных артериях старых и молодых кроликов (M±m), %

Особенности структуры ЭК	До введения ангиотензина II (контроль)		После введения			
	Старые кролики	Молодые кролики	Через 30 мин			
			Старые кролики	P ₁	Молодые кролики	P ₁
Нормальная структура	67,7±3,5	91,7±1,8	29,3±6,3	<0,001	38,0±3,9	<0,001
Клетки с отеком субэндотелия	6,0±0,92	2,6±0,6	54,5±6,0	<0,001	47,1±5,9	<0,001
Некротически измененная ЭК	18,3±2,9	2,5±0,8	10,6±3,1	*	8,7±2,7	<0,05
Вакуолизованные клетки	7,9±1,9	3,1±1,3	5,6±2,0	*	6,3±2,2	*

Примечание. P₁ — статистически значимые различия по отношению к результатам, полученным у животных через 30 мин после введения ангиотензина II.

Доля эндотелиальных клеток (ЭК) различной структуры в бедренных артериях старых и молодых кроликов (M±m), %

Особенности структуры ЭК	До введения ангиотензина II	
	Старые кролики	P ₁
Нормальная структура	38,4±8,7	*
Клетки с отеком субэндотелия	28,4±9,0	<0,01
Некротически измененная ЭК	8,9±1,8	*
Вакуолизованные клетки	24,4±4,3	<0,001

Полученные у контрольных животных после введения ангиотензина II.

зажатых в складках ВЭМ, среди которых находились и те клетки, которые в той или иной мере были изменены у старых животных до спазма, подвергалась аутолизу, поэтому клетки становились оптически светлыми. В этот период между некротически измененными клетками в области контактов появлялись бреши, а в интима обнаруживались белки плазмы крови. Такие нарушения барьерной функции эндотелия были также более выражены у старых животных.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что эндотелиальная выстилка бедренных артерий интактных старых кроликов отличается от таковой молодых долей ЭК разной структуры и функции. У старых животных в сумме в 4 раза больше клеток с признаками повреждения или нарушения функции (некробиоз, некроз, повышенная проницаемость). Это обстоятельство приобретает особое значение в условиях острого увеличения давления. При пролонгированной (30 мин) вазоконстрикции такие ЭК, попадая в складки ВЭМ, подвергаются компрессии и ишемии, а так как они более уязвимы к действию альтерирующих факторов по сравнению с нормальными ЭК, они быстрее гибнут. В связи с этим через 1 сут нарушается целостность эндотелиальной выстилки сосудов вследствие расхождения межклеточных контактов поврежденных клеток.

В настоящее время доказано модулирующее влияние эндотелия на тонус сосудов, выявлена эндотелийзависимая релаксация гладких мышц [6, 8], изменение и даже извращение реакций артерий на действие вазоактивных и других лекарственных веществ в случае деэндотелизации артерий [1, 11]. По-видимому, гибель части ЭК при старении в значительной мере снижает потенциальные возможности эндотелия к продуцированию релаксирующего фактора и простагличина, также обладающего расслабляющим действием на гладкие мышцы, что может способствовать увеличению с возрастом локальной чувствительности сосудов к вазоактивным веществам прессорного действия и развитию спазмов. Следует, однако, подчеркнуть, что это не единственная причина изменения чувствительности сосудов к воздействию факторов среды. Известно, что с возрастом наблюдается десимпатизация сердечно-сосудистой системы и переход на гуморальные регуляторные влияния со стороны симпатико-адреналовой системы [4]. Немаловажное значение может иметь прогрессирование атеросклероза, нарушение метаболизма арахидоновой кислоты и наконец, изменения аффинности и резерва рецепторов [7].

В ходе исследования показана фазность изменений ЭК под влиянием однократного введения АП. Сразу после 30-минутного введения препарата происходит резкое увеличение проницаемости 50 % ЭК и

молодых кроликов ($M \pm m$), % общего числа клеток

ения ангиотензина II

Через 1 сут

	Старые кролики	Через 1 сут			
		P ₁	P ₂	Молодые кролики	P ₁ P ₂
001	38,4±8,7	*	<0,001	47,4±5,9	* <0,001
001	28,4±9,0	<0,01	<0,02	13,5±2,8	<0,001 <0,001
05	8,9±1,8	*	<0,01	12,7±2,3	* <0,001
	24,4±4,3	<0,001	<0,02	26,3±5,3	<0,002 <0,001

лученным у контрольных животных соответствующей возрастной группы; P₂ — статистическое значение различия после введения ангиотензина II; звездочкой обозначены статистически незначимые различия.

образование отечной зоны в субэндотелии (острая фаза). В таком состоянии ЭК теряют прочную связь с базальной мембраной и ВЭМ и в этот период возможна десквамация, слущивание, клеток. В клинике у пожилых гипертоников обнаружено более высокое содержание в крови слущенных ЭК после метиониновой нагрузки, чем у молодых здоровых людей контрольной группы [9], что косвенно подтверждают результаты наших исследований.

В течение суток нарушенная проницаемость частично восстанавливается (фаза частичного восстановления), но у старых животных медленней рассасывается отек в интима. Для этой фазы, помимо увеличения функциональной активности 24—25 % ЭК старых и молодых кроликов, характерно появление патологических изменений в тех ЭК, которые, по-видимому, подверглись наиболее сильной компрессии и ишемии во время пролонгированной вазоконстрикции. У старых кроликов, в отличие от молодых, чаще происходит аутолиз погибших ЭК, как известно, сопровождающийся выходом лизосомальных ферментов в сосудистую стенку и развитием в ней неспецифического воспаления.

Приведенные здесь результаты количественно-морфологических исследований позволяют по-новому подойти к оценке последствий повторяющихся ангиоспазмов для изменений стенок сосудов в молодом и пожилом возрасте. Выявленные повреждения ЭК в артериях старых животных, большая площадь их распространения, замедленный характер восстановления нарушенной барьерной функции эндотелия могут объяснить причины ускоренного (по сравнению с молодыми животными) развития в артериях старых кроликов при хронической гипертензии таких патологических процессов, как утолщение, фиброз и липондоз интимы [2, 5].

Дальнейшие исследования покажут, какие возрастные функциональные особенности эндотелия лежат в основе повышенной ранимости сосудов старых животных в условиях увеличения содержания в крови вазоактивных веществ прессорного действия.

G. V. Kopylova, I. P. Kozhura

RESPONSES OF VASCULAR ENDOTHELIAL CELLS OF OLD ANIMALS TO THE INCREASE OF ANGIOTENSIN II IN BLOOD

The comparative morphological investigation of endothelium (E) of femoral arteries in old and young rabbits has revealed quantitative differences in the content of cells differing in their structure and function, and a four-fold increase in the number of cells having some signs of malfunction or injury in the E of old vs. young animals. These peculiarities, as well as different initial functional state of groups of cells, their location in the intima and degree of their compression during a 30 min vasoconstriction induced by angiotensin II ($0.5 \mu\text{g}/\text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) predetermine a different degree of injury of endothelial cells. A phasic response of endothelial cells to angiotensin II administration, as well as slow restoration of permeability and autolysis of part of the injured endothelial cells in old animals are revealed. A peculiar pattern of the endothelial injury in old animals at a sharp increase of the blood pressure may account for the causes of the accelerated formation of fibrous-muscular thickenings and lipid strips in arteries of old rabbit at chronic hypertension.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Водерников Ю. П., Вихерт А. М. Функция эндотелия и спазм коронарной артерии // Бюл. ВКНЦ. — 1987. — № 2. — С. 13—19.
2. Копылова Г. В. Возрастные морфологические особенности сердца и сосудов при гипертензии и атеросклерозе на фоне гипертензии // Возраст, гипертензия и атеросклероз (экспериментальное исследование) / Н. Н. Горев, Л. П. Черкасский. — М.: Медицина, 1988. — С. 113—145.

3. Смирнов В. Н., Репин В. С. А. Развитие заболевания в артериях.
4. Фролькис В. В., Безруков В. Наука, 1984. — 216 с.
5. Черкасский Л. П., Кожура И. зин (рефлексогенная форма) лодых и старых животных / ральная регуляция и лекарст
6. Busse R., Trogisch G., Basse lar tone // Basic. Res. Cardiol.
7. Fleisch J. H. Age-related ch Pharmacol. Ther. — 1980. — 8.
8. Furchgott R. F. Role of end Res. — 1983. — 53. — P. 557—5
9. Hladovec J., Prerovsky I. Г 1989. — 31, N 1. — P. 52—55.
10. Joris J., Majno G. Endothe thol. — 1981. — 102. — P. 346—
11. Oshiro E. M., Paiva A., Pai racellular calcium for the macol. — 1985. — 16, N 6. — P
12. Ross R. The pathogenesis 9. — P. 435—440.
13. Sato J., Shamoto M. A sin Stain Technol. — 1983. — 48,
14. Shimamoto T. Hyperreacti atherosclerosis // Ann. N. Y.

Ин-т геронтологии АМН СССР

УДК 612.115—092+599.323.4—001.1
Г. А. Лобань-Череда, Т. В. I

Коагуляционная сп и антиагрегационна у крыс, подвергши

Важную роль в генез патологических эмоций, ги Стрессовое воздейств липидов клеточных м вышению свертывающ мов регуляции агрег вток из сосудист агрегации тромбоц простациклина в на гемостаза, как невоз сы, происходящие п шение микроциркул нарной гемодинами гемокоагуляционных сосудистой стенки, иммобилизационно

Методика

Исследования проведен подвергали иммобилиз в течение 3 ч [9], оста да под гексеналовым (цитрата натрия в соо

Физиол. журн., 1990,

3. Смирнов В. Н., Репин В. С. Атеросклероз: клеточные проявления и механизмы развития заболевания в артериях человека // Бюл. ВКНЦ.— 1985.— № 2.— С. 13—31.
4. Фролькис В. В., Безруков В. В., Шевчук В. Г. Кровообращение и старение.— Л.: Наука, 1984.— 216 с.
5. Черкасский Л. П., Кожура И. П., Копылова Г. В. Влияние нейрогенной гипертензии (рефлексогенная форма) на развитие экспериментального атеросклероза у молодых и старых животных // Геронтология и гериатрия: ежегодник. Нейрогуморальная регуляция и лекарственная терапия в старости.— Киев, 1986.— С. 111—115.
6. Busse R., Trogisch G., Bassenge E. The role of endothelium in the control of vascular tone // Basic. Res. Cardiol.— 1985.— 80, N 5.— P. 475—490.
7. Fleisch J. H. Age-related changes in the sensitivity of blood vessels to drugs // Pharmacol. Ther.— 1980.— 8.— P. 477—487.
8. Furchgott R. F. Role of endothelium in responses to vascular smooth muscle // Circ. Res.— 1983.— 53.— P. 557—573.
9. Hladovec J., Prerovsky I. Поражение эндотелия при гипертензии // Cor et Vasa.— 1989.— 31, N 1.— P. 52—55.
10. Joris J., Majno G. Endothelial changes induced by arterial spasm // Amer. J. Pathol.— 1981.— 102.— P. 346—358.
11. Oshiro E. M., Paiva A., Paiva T. Endothelium-dependent inhibition of the use of extracellular calcium for the arterial response to vasoconstrictor agents // Gen. Pharmacol.— 1985.— 16, N 6.— P. 567—572.
12. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis // Mech. Ageing and Develop.— 1979.— 9.— P. 435—440.
13. Sato J., Shamoto M. A simple rapid polychrome stain for epoxy-embedded tissue // Stain Technol.— 1983.— 48, N 5.— P. 22—24.
14. Shimamoto T. Hyperreactive arterial endothelial cells: a clue for the treatment of atherosclerosis // Ann. N. Y. Acad. Sci.— 1976.— 275.— P. 266—285.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 09.06.89

УДК 612.115—092+599.323.4—001.1/3

Г. А. Лобань-Череда, Т. В. Новосельцева

Коагуляционная способность крови и антиагрегационная активность сосудистой стенки у крыс, подвергшихся иммобилизационному стрессу

Важную роль в генезе сердечно-сосудистых заболеваний играют отрицательные эмоции, гиподинамия и другие факторы риска [3, 10, 11]. Стрессовое воздействие приводит к активации перекисного окисления липидов клеточных мембран [5], что в свою очередь способствует повышению свертывающей способности крови [6, 7]. Одним из механизмов регуляции агрегатного состояния крови является выделение в кровоток из сосудистой стенки сильного естественного ингибитора агрегации тромбоцитов — простациклина [19]. Без учета действия простациклина в настоящее время нельзя рассматривать механизмы гемостаза, как невозможно и объяснить многие патологические процессы, происходящие при участии тромбоцитов: тромбообразование, нарушение микроциркуляторного гемостаза, изменение системной и регионарной гемодинамики и др. Цель нашей работы — изучение механизма гемокоагуляционных сдвигов, изменения антиагрегационной активности сосудистой стенки, нарушений системы микроциркуляции у крыс после иммобилизационного стресса.

Методика

Исследования проведены на 22 крысах (11 самцах, 11 самках), половину из которых подвергали иммобилизационному стрессу фиксацией спинкой к операционному столу в течение 3 ч [9], остальные — служили контрольной группой. Кровь забирали из сердца под гексеналовым (50 мг/кг массы) наркозом, стабилизировали 3,8 %-ным раствором цитрата натрия в соотношении 1:10. С целью изучения коагуляционной способности

крови у крыс записывали тромбоэластограмму [8], определяли время рекальцификации плазмы крови [13], тромбоиновое время [20], фибринолитическую активность плазмы [17], влияние эритроцитов исследуемых животных на эти показатели. В пробах крови определяли наличие фибриногена В [14]. О состоянии микроциркуляторного гемостаза судили по числу тромбоцитов, показателям агрегатограммы [4], антиагрегационным свойствам сосудистой стенки [1]. Изучали также скорость кровотока, диаметр микрососудов брыжейки, электрофоретическую подвижность эритроцитов [12]. Антиокислительные свойства крови исследовали, определяя перекисную резистентность эритроцитов [16], накопление малонового диальдегида в мембранах эритроцитов в ходе их трехчасовой инкубации [2], содержание супероксиддисмутазы [18].

Результаты и их обсуждение

Нами установлено, что иммобилизационный стресс оказывает существенное влияние на коагуляционную способность крови. Так, у животных, подвергшихся стрессу, время рекальцификации плазмы составило $95,4 \pm 6,53$ с ($P < 0,01$), тогда как у интактных животных оно было $129,1 \pm 7,41$ с (табл. 1). Полученные результаты свидетельствуют о повышении тромбопластической активности плазмы крови крыс после стрессового воздействия. Тромбопластическая активность эритроцитов, наоборот, снизилась на 33,6 % ($P < 0,05$), что возможно, связано с выходом фосфолипидов эритроцитарных мембран во время стресса в плазму, в результате чего тромбопластическая активность последней возросла. Антигепариновые свойства плазмы, о которых мы судили по тромбоиновому времени, при стрессе возрастали, а эритроцитов — не изменялись. Иммобилизационный стресс вызывал тенденцию к снижению фибринолитической активности плазмы и эритроцитов, но эти изменения не были достоверными. Тромбоэластографическое исследование крови показало уменьшение времени реакции, увеличение угловой константы и максимальной амплитуды после иммобилизационного стресса, что свидетельствует о повышении скорости формирования фибрина.

При изучении микроциркуляторного гемостаза обнаружена тенденция к уменьшению числа тромбоцитов после стресса. На агрегатограммах стрессированных животных снижение оптической плотности плазмы в процессе агрегации тромбоцитов на 45,6 % ($P < 0,05$) превысило его значение у интактных крыс, угол агрегации увеличился на 18,3 % ($P < 0,05$), отмечена тенденция к уменьшению времени агрегации. Полученные результаты могут свидетельствовать о внутрисосудистом свертывании крови, происходящем во время стресса. При этом потребляется большое количество тромбоцитов, что и приводит к их уменьшению. Происходит не только количественное изменение тромбоцитов, но изменяются и их качественные агрегационные свойства. В микрососудах брыжейки мы наблюдали агрегаты форменных элементов крови, снижение скорости кровотока, вплоть до его остановки. О внутрисосудистом свертывании крови свидетельствует также тот факт, что у животных после стресса возрастало содержание фибриногена В.

Аорта интактных крыс и подвергнутых стрессовому воздействию обладает выраженной антиагрегационной активностью, причем под влиянием стресса она неодинаково изменялась у животных различного пола (табл. 2). У самцов наблюдали повышение антиагрегационной активности. Так, угол агрегации тромбоцитов после инкубации сегмента аорты стрессированного животного снижался на 98 % ($P < 0,05$) по сравнению с таковым контрольных животных, время агрегации уменьшалось на 42 % ($P < 0,05$). У самок после иммобилизации наблюдалась тенденция к снижению антиагрегационной активности аорты.

Полученные результаты, по-видимому, можно объяснить повышением синтеза простагличина в сосудистой стенке у самцов после стрессового воздействия. Увеличение выработки простагличина — мощного эндогенного ингибитора агрегации, — вероятно, не дает возможности

Таблица 1. Влияние иммобилизации на микроциркуляцию

Показатели	
Время рекальцификации плазмы без добавления эритроцитов	$M \pm m$ P
с добавлением эритроцитов	M_1 M_2 $\Delta M \pm m$ P
Время свертывания плазмы (без добавления эритроцитов)	$M \pm m$ P
с добавлением эритроцитов	M_1 M_2 $\Delta M \pm m$ P
Время лизиса эритроцитов (фибринолитическая активность) без добавления эритроцитов	$M \pm m$ P
с добавлением эритроцитов	M_1 M_2 $\Delta M \pm m$ P
Содержание фибриногена В	$M \pm m$ P
Время коагуляции, мин:	$M \pm m$ P
Угловая константа, град:	$M \pm m$ P
Максимальная амплитуда,	$M \pm m$ P
Число тромбоцитов (из $\times 10^9$)	$M \pm m$ P
Время агрегации, мин:	$M \pm m$ P
Угол агрегации, град:	$M \pm m$ P
Снижение оптической плотности	$M \pm m$ P

Примечание. M_1 — контрольный, M_2 — опытный показатели значениями M_1 и M_2 .

усилиться этому процессу.

Антиокислительные свойства также существенно гемолиз красных кровяных телец при остром стрессе, состоя-

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 2

Таблица 1. Влияние иммобилизационного стресса на показатели коагуляционного и микроциркуляторного гемостаза у крыс

Показатель	Интakтные жи- вотные	Стрессированные животные
Коагуляционный гемостаз		
Время рекальцификации плазмы, с: без добавления эритроцитов		
$M \pm m$	$129,1 \pm 7,41$	$95,4 \pm 6,53$
P		$< 0,01$
с добавлением эритроцитов		
M_1	129,1	95,4
M_2	50,7	43,3
$\Delta M \pm m$	$78,4 \pm 7,49$	$52,1 \pm 7,73$
P		$< 0,05$
Время свертывания плазмы (тромбиновое время), с: без добавления эритроцитов		
$M \pm m$	$29,9 \pm 0,55$	$26,4 \pm 0,73$
P		$< 0,01$
с добавлением эритроцитов		
M_1	30,0	30,0
$M \pm m$	$19,9 \pm 0,96$	$19,4 \pm 0,82$
P		$> 0,05$
Время лизиса эуглобулинового сгустка плазмы (фибринолитическая активность), мин: без добавления эритроцитов		
$M \pm m$	$638,5 \pm 129,80$	$848,0 \pm 135,83$
P		$> 0,05$
с добавлением эритроцитов		
M_1	638,5	848,0
M_2	642,5	930,0
$\Delta M \pm m$	$4,0 \pm 77,31$	$82,0 \pm 148,29$
P		$> 0,05$
Содержание фибриногена B, усл. ед.		
$M \pm m$	$2,6 \pm 0,37$	$3,6 \pm 0,16$
P		$< 0,05$
Время коагуляции, мин:		
$M \pm m$	$1,3 \pm 0,08$	$1,0 \pm 0,06$
P		$< 0,01$
Угловая константа, град:		
$M \pm m$	$26,9 \pm 1,57$	$40,5 \pm 1,88$
P		$< 0,001$
Максимальная амплитуда, мм:		
$M \pm m$	$15,8 \pm 0,81$	$21,9 \pm 1,39$
P		$< 0,01$
Микроциркуляторный гемостаз		
Число тромбоцитов (из расчета на 1 л крови), $\times 10^9$		
$M \pm m$	$192,4 \pm 13,42$	$169,9 \pm 11,60$
P		$> 0,05$
Время агрегации, мин:		
$M \pm m$	$12,3 \pm 1,55$	$9,4 \pm 0,95$
P		$> 0,05$
Угол агрегации, град:		
$M \pm m$	$53,1 \pm 3,25$	$62,8 \pm 2,22$
P		$< 0,05$
Снижение оптической плотности, %:		
$M \pm m$	$10,3 \pm 1,28$	$15,0 \pm 1,78$
P		$< 0,05$

Примечание. M_1 — контрольный показатель (плазма и физиологический раствор); M_2 — опытный показатель (плазма и эритроциты); ΔM — разница между средними значениями M_1 и M_2 .

усилится этому процессу и ослабляет агрегационные свойства тромбоцитов.

Антиокислительная активность эритроцитов крыс после стресса также существенным образом изменяется (табл. 3). Так, перекисный гемолиз красных клеток крови крыс, подвергшихся иммобилизационному стрессу, составил $15,8 \% \pm 1,02 \%$ ($P < 0,05$), тогда как у кон-