

лики и Свердловской области // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2015.- № 4.- С. 22-29.

4. Баранова Н.С., Баранов А.В., Подречнева И.Ю. Использование инбридинга при разведении заводских семейств костромской породы // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2016. - № 6 (55). - С. 51-55, - 2020.- №1 (22).-С. 8-10.

5. Недашковский И.С., Сермягин А.А.

Оценка влияния уровня инбридинга на молочную продуктивность и воспроизводительные качества коров голштинизированной популяции черно-пестрой породы // Молочное и мясное скотоводство. 2018.-№7.-С.17-22.

6. Меркурьева, Е.К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных // Е.К. Меркурьева.- М.: 1970.- 424 с.

УДК 611.12:612.178:612.67

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.122

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ СЕРДЦА КРЫСЫ ПРИ СТАРЕНИИ (ПО ДАННЫМ ИММУНОГИСТХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ)

Чумасов Е.И. – профессор Кафедры биологии, экологии, гистологии Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины; Петрова Е.С. - ст.н.с. Лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;

Ключевые слова: старение, сердце, кровеносные сосуды, иннервация, иммуногистохимия. **Keywords:** aging, heart, blood vessels, innervation, immunohistochemistry

РЕФЕРАТ

Цель работы – исследовать проявления возрастных и патологических изменений в тканях различных отделов сердца крыс в возрасте 18-23 мес. Были использованы нейроиммуногистохимические реакции на белок PGP 9.5, тирозингидроксилазу, синаптофизин, фактор Виллебранда и окраска толудиновым синим для тучных клеток. Обнаружена корреляция между уровнем снижения интенсивности иннервации сердца и патологическими изменениями его тканей. В аортально-пульмональной области, предсердиях и желудочках выявлены деструктивные изменения нервных аппаратов, наличие лимфо-мононуклеарных инфильтратов и тучных клеток. Наряду с дегенерацией нервных аппаратов, выявлены реактивные и деструктивные изменения эндотелиоцитов артериол, обменных капилляров, частичная их гибель, увеличение числа и гипертрофия резервных синусоидных капилляров, выраженное повышение секреторной активности эндотелиоцитов и скопления пигментного материала в полости подаортального конуса.

ВВЕДЕНИЕ

Сердце животных и человека в норме и при патологии исследуется в течение многих десятилетий [3, 4, 9], однако вопросы нервно-тканевых и межклеточных взаимоотношений в околосердечной об-

ласти и в миокарде остаются малоизученными. В наших предыдущих исследованиях показано, что на поздних стадиях онтогенеза крысы наблюдается снижение иннервации тканей сердца, особенно это касается симпатической иннервации [7,



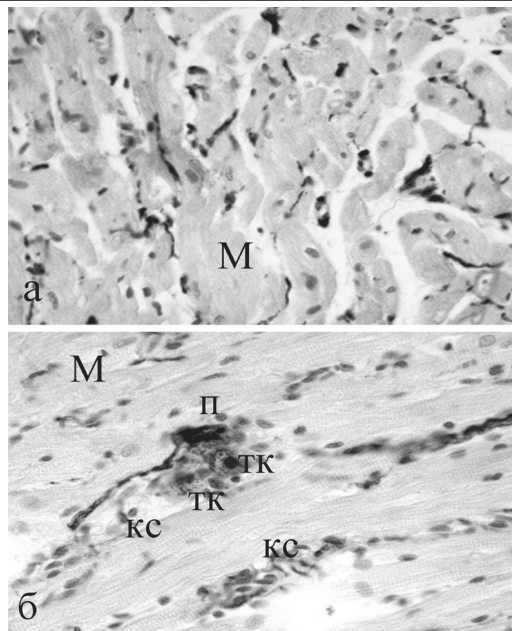


Рис.1. Изменения в сердце крысы (возраст 18-23 мес). а - дегенерирующие TH^+ терминали; б - нейродегенеративно-воспалительный очаг в ткани сердца на границе эпикарда и миокарда. М – миокард; КС - кровеносные сосуды; ТК - тучные клетки; П – глыбки пигмента. ИГХ реакция на тирозингидроксилазу, подкраска толуидиновым синим; Ув.: $\times 400$.

10]. В последние годы уделяется пристальное внимание проблеме изучения дисфункции эндотелия микроциркуляторного русла (МЦР) сердца при различных сердечно-сосудистых заболеваниях [5, 8]. При этом важная роль отводится клеточным механизмам «мультигранулярного экзоцитоза» - секреции эндотелиальными клетками различной молекулярной массы молекул белка свёртываемости крови (vWF), включая тельца Вейбеля-Палладе [13, 14]. Между тем исследования, посвященные морфологическим и функциональным, патологическим и возрастным изменениям нервных аппаратов и коронарных сосудов сердца в возрастном аспекте, немногочисленны [11], мало внимания уделяется изучению иммунных и воспалительных процессов, развивающихся в органе в возрастном аспекте [12].

Цель настоящей работы состояла в изучении изменений нервных аппаратов, состояния коронарных сосудов, наличия

воспалительных клеток в сердце старых животных с использованием иммуногистохимических методов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на крысах Вистар в возрасте 3-4 и 18–23 мес ($n=20$). Исследование было одобрено ЛЭК ИЭМ (протокол № 3 от 30 ноября 2019 г.). Сердце крыс фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида [2]. Иммуногистохимические (ИГХ) реакции проводили на парафиновых срезах. Для изучения воспалительных клеток часть срезов окрашивали толуидиновым синим, для идентификации эндотелиоцитов использовали поликлональные кроличьи антитела к фактору Виллебранда (vWF) (Dako, Дания) [1]. Для исследования парасимпатических нервных структур применяли поликлональные кроличьи антитела к белку PGP 9.5 («Spring Bioscience», США) [Коржевский, 2013]; для изучения катехоламинергических симпатических

структур - поликлональные кроличьи антитела к тирозингидроксилазе (ТН) («Abscam», Великобритания); для исследования синаптических терминалей использовали поликлональные кроличьи антитела к синаптофизину (Syn). Анализ гистологических препаратов осуществляли с помощью микроскопа «Leica DM 750» («Leica», Германия) и цифровой камеры «Leica ICC 50» («Leica», Германия).
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный гистологический анализ препаратов сердца молодых и старых крыс показал, что в тканях сердца старых животных часто наблюдаются клеточные реакции, характеризующиеся признаками реактивных, дистрофических и патологических изменений, несвойственных для сердца интактных молодых животных. В большинстве случаев у старых животных на срезах сердца, окрашенных толуидиновым синим, в рыхлой соединительной ткани между аортой, легочным стволом, краниальной поллой веной, ветвями вагосимпатических стволов в окружении жировой клетчатки обнаруживаются очаговые лейкоцитарные инфильтраты. Они состоят из лимфоцитов, моноцитов/макрофагов и тучных клеток (ТК). С по-

мощью ИГХ реакций на белок РGP 9.5 и ТН вокруг и внутри лимфо-моноцитарных инфильтратов выявлены нервные аппараты: пучки нервных волокон, периваскулярные сплетения и терминальные сети варикозных аксонов с признаками реактивных и дистрофических изменений. Обращают на себя внимание тесные взаимоотношения лейкоцитов и ТК с варикозными аксонами, представляющими собой дистантные синапсы *en passant* (рис. 1), выявляемые с помощью антител к Syn и ТН. Следующей характерной особенностью сердца старых крыс являются структурные и функциональные изменения эндотелиальных клеток. У молодых интактных животных секреторная активность белка vWF в норме регулируется путём естественного мультигранулярного экзоцитоза, и ИГХ реакция на vWF не выражена. Гипериммунореактивность к белку vWF отмечена для старых животных и свидетельствует об изменении структурного и функционального состояния капилляров МЦР и коронарного кровообращения органа (рис. 2 а, б). С помощью ИГХ реакции на vWF в коронарных сосудах старых крыс постоянно наблюдаются выраженные признаки реактивных, дистрофических и патологиче-

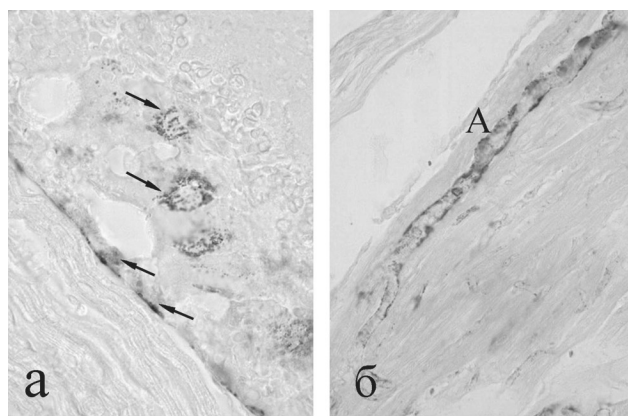


Рис 2. Иммунореактивные vWF⁺ эндотелиальные клетки из разных отделов сердца крысы в возрасте 23 мес. а – реактивные изменения эндотелиоцитов эндокарда желудочка; б – vWF-иммунореактивные эндотелиальные клетки артериолы (А) и сети неравномерно реактивных капилляров в миокарде сердца старой крысы. ИГХ реакция на vWF. Ув.: x400

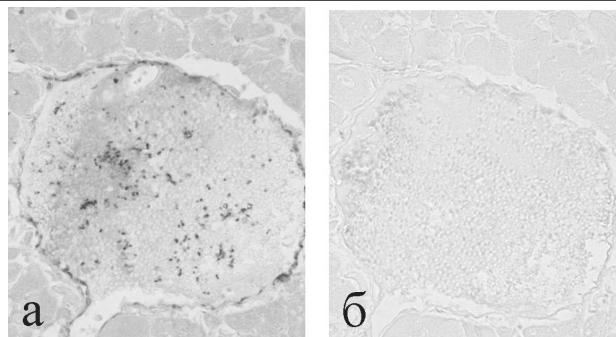


Рис. 3. Шаровидные лакуны, связанные с синусоидными капиллярами в миокарде старой крысы. ИГХ реакция на фактор Виллебранда (а), негативный контроль (б). Ув.: x100

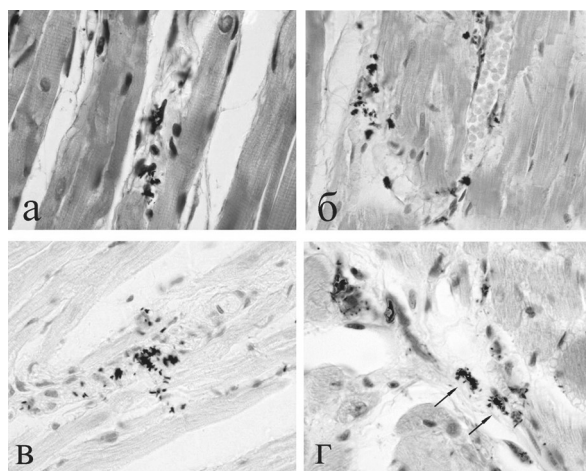


Рис. 4. Пигментные структуры в очагах, ассоциированных с коронарными сосудами, в сердце старой крысы. а – в межпредсердной перегородке; б, в – в миокарде правого желудочка; г – в левом желудочке. Стрелки – макрофаги, загруженные пигментом. Окраска толуидиновым синим (а, в); окраска ядерным прочным красным (б). ИГХ реакция на тирозингидроксилазу (г). Ув.: x400.

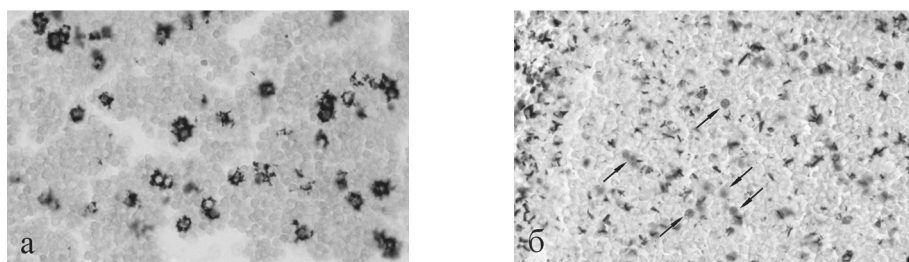


Рис. 5. Пигментные структуры в крови подаортального конуса старой крысы. а – пигментные включения в форменных элементах крови; б – палочковидные и гранулярные элементы среди плотной массы эритроцитов. Стрелки – ядра лейкоцитов. Окраска ядерным прочным красным. Ув.: x1000

ских изменений эндотелиоцитов. Они наблюдаются не только со стороны эндотелия интимы корня аорты, крупных и средних венечных артерий эпикарда, а также эндотелия синусоидных капилляров миокарда предсердий и желудочков. В миокарде старых животных, начиная с 18 мес возраста во многих случаях обнаруживается выраженное увеличение числа гипертрофически расширенных синусоидных капилляров, образование лакун или цистерн переполненных кровью (рис. 3). Установлено, что они выстланы измененными vWF+эндотелиоцитами, находящимися в состоянии повышенной секреторной активности. О чем свидетельствует, наличие большого количества белка - vWF+иммунореактивных гранул и агглютинированных тромбоцитов в крови венозных синусоидов и в полостях лакун (рис. 3). Часто в очагах гибели капилляров миокарда, выявляются различные клеточные компоненты: продукты распада катехоламинергических нервных волокон, моноциты/макрофаги, пигментированные палочковидные и гранулярные элементы (рис. 4). При сравнительном морфологическом анализе эти пигментные структуры в очагах гибели сосудов близки по размерам описанным на световом и ЭМ уровнях [11] секреторным органеллам белка свертываемости крови vWF. Важно отметить, что описанные участки дегенерации сосудов, вызванной деструктивными, патологическими и возрастными изменениями, содержащие пигментные структуры, локализованы, как правило, в интерстиции миокарда. Нами установлено, что в полости подаортального конуса сердца, в створках клапанов и в других отделах сердца у животных в процессе старения накапливается масса пигментных гранул, палочковидных телец и тромбов. Загруженные ими многочисленные макрофаги наблюдаются постоянно в крови полости подаортального конуса старых животных. Вопрос о наличии и источниках образования пигмента в тканях сердца животных и человека дискусионен. Основываясь на данных литературы, можно предположить, что опи-

санные нами в интерстиции миокарда пигментные структуры являются продуктом дегенерации эндотелиоцитов. У старых крыс массовые скопления этих пигментных структур наблюдались в подаортальном конусе (рис. 5). На основании полученных результатов авторы предполагают, что по мере старения животного в разных отделах сердца (под эндокардом, в интерстиции миокарда, в полостях венозных сосудов и артериального конуса сердца животных) кроме известных атерогенных продуктов (ЛПВП и ЛПНП, ионов Ca²⁺, кристаллов холинестеров) с возрастом постоянно накапливаются также пигментированные образования в виде зернистости и палочковидных структур, что может быть связано с дистрофическими изменениями эндотелия сосудов при старении.

ВЫВОДЫ

Настоящее исследование, проведенное с помощью нейроиммуногистохимических методов выявления белка PGP 9.5, тирозингидроксилазы, синаптофизина, фактора Виллебранда и окраски толуидиновым, показало корреляцию между уровнем снижения интенсивности иннервации сердца и патологическими изменениями его тканей. В аортально-пульмональной области, предсердиях и желудочках выявлены деструктивные изменения нервных аппаратов, наличие лимфо-моноклеарных инфильтратов и тучных клеток. Наряду с дегенерацией нервных аппаратов, выявлены реактивные и деструктивные изменения эндотелиоцитов артериол, обменных капилляров, частичная их гибель, увеличение числа резервных синусоидных капилляров, выраженное повышение секреторной активности эндотелиоцитов и поступление белка vWF в кровь. В полости подаортального конуса и створках клапанов животных в процессе старения накапливаются пигментные палочковидные и зернистые структуры, микротромбы и макрофаги.

PATHOLOGICAL CHANGES IN THE RAT HEART TISSUES DURING AGING (ACCORDING TO IMMUNO-

HISTOCHEMICAL STUDIES). E. Chumasov, E. Petrova

ABSTRACT

The aim of the work is to study age-related and pathological changes in the tissues of different parts of the heart of rats aged 18-23 months. Neuroimmunohistochemical reactions for PGP 9.5 protein, tyrosine hydroxylase, synaptophysin, von Willebrand factor and staining with toluidine blue for mast cells were used. A correlation was found between the level of decrease in the intensity of the innervation of the heart and pathological changes in the tissues of the heart. Destructive changes in the nervous apparatus, the presence of lymphomononuclear infiltrates and mast cells were revealed in the aortic-pulmonary region, atria and ventricles. Along with the degeneration of the nervous apparatus, reactive and destructive changes in arteriole and capillary endothelial cells, as well as their death, an increase in the number of reserve sinusoidal capillaries, an increase in the secretory activity of endotheliocytes, and pigment accumulation in the cavity of the subaortic cone were revealed.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Коржевский Д.Э. Фактор Виллебранда эндотелиоцитов кровеносных сосудов и его использование в иммуноморфологических исследованиях / Д.Э. Коржевский, О.В. Кирик, Е.Г. Сухорукова // Мед. академ. журн. – 2017. – Т. 17. – №1. – С. 34-40.
2. Коржевский Д.Э. Преимущества и недостатки цинк-этанол-формальдегида как фиксатора для иммуноцитохимических исследований и конфокальной лазерной микроскопии / Д.Э. Коржевский, Е.Г. Сухорукова, Е.Г. Гилерович, Е.С. Петрова, О.В. Кирик, И.П. Григорьев // Морфология. – 2013. – Т. 143. – № 2. – С. 81-85.
3. Куприянов В. В. Нервный аппарат сосудов малого круга кровообращения / В.В. Куприянов // Л.: Медгиз, 1959. – 191с.
4. Ноздрачев А.Д. Периферическая нервная система / А.Д. Ноздрачев, Е.И. Чумасов. СПб.: Наука. – 1999. – 280с.
5. Петрищев Н.Н. Дисфункция эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции / Н.Н. Петрищев -

2007. – СПб.: ИИЦ ВМА. – 269с.
6. Хавинсон В.Х. Эпигенетические аспекты пептидной регуляции пролиферации эндотелия сосудов при его старении / В.Х. Хавинсон, С.И. Тарновская, Н.С. Линькова, Е.О. Гутоп, Е.В. Елашкина // Успехи геронтологии. – 2014. – Т. 27. – № 1. – С. 108-114.
7. Чумасов Е.И. Иммуногистохимия периферической нервной системы / Е.И. Чумасов, Е.А. Колос, Е.С. Петрова, Д.Э. Коржевский. СПб.: СпецЛит. – 2020.
8. Шабров А.В. Роль и методы оценки эндотелиальной дисфункции в практической медицине / А.В. Шабров, А.Г. Апресян, А.Л. Добкес, С.Ю. Ермолов, Т.В. Ермолова, С.Г. Манасян, С.В. Сердюков // Мед. академ. журн. – 2017. – Т. 17. – № 1. – С. 7-23.
9. Швалев В.Н. Морфологические основы иннервации сердца / В.Н. Швалев, А.А. Сосун, Г. Гуски Г. М.: Наука. – 1992. – 368 с.
10. Chumasov E.I. Investigation of nerve apparatus and mast cells in the heart of old rats / E.I. Chumasov, E.S. Petrova, E.A. Kolos, D.E. Korzhevskii // Adv. Geront. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 29–36. doi: 10.1134/S2079057021010355
11. Levick S.P. Sympathetic nervous system modulation of inflammation and remodeling in the hypertensive heart / S.P. Levick, D.B. Murray, J.S. Janicki, G.L. Brower // Hypertension. – 2010. – Vol. 55. – №2. – P. 270-276. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.142042.
12. Mjaatvedt C.H. Normal distribution of melanocytes in the mouse heart / C.H. Mjaatvedt, C.B. Kern, R.A. Norris, S. Fairey, C.L. Cave // Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell. Evol. Biol. – 2005. – Vol. 285. – №2. – P. 748-757. doi: 10.1002/ar.a.20210.
13. Valentijn K.M. Multigranular exocytosis of Weibel-Palade bodies in vascular endothelial cells / K.M. Valentijn, L.F. Van Driel, M.J. Mourik // Blood. – 2010. – Vol. 116. – № 10. – P. 1807–1816. doi: 10.1182/blood-2010-03-274209
14. Valentijn K.M. Functional architecture of Weibel-Pallade bodies / K.M. Valentijn, J.E. Sadler, J.A. Valentijn, J. Voorberg, J. Eikenboom // Blood. – 2011. – Vol. 117. – № 19. – P. 5033–5043. doi: 10.1182/blood-2010-09-267492