

ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ МИОКАРДА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИПОТЕРМИИ

Бобров И.П.¹, Лепилов А.В.¹, Долгатов А.Ю.¹, Корсиков Н.А.¹, Гулдаева З.Н.¹,
Крючкова Н.Г.¹, Соседова М.Н.¹, Долгатова Е.С.¹, Лушникова Е.Л.², Бакарев М.А.²

¹ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, e-mail: ig.bobrov2010@yandex.ru;

²ФГБНУ «Институт молекулярной патологии и патоморфологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск

Исследование посвящено изучению морфологических особенностей сердечных тучных клеток (ТК) белых крыс Вистар при воздействии холодового фактора. Всего исследовано 50 сердец. Гипотермическое воздействие вызывали помещением клеток с крысами в холодную воду температурой +5 градусов, при этом температура окружающей среды составляла +7 градусов. При ректальной температуре +20 градусов считали, что экспериментальные животные достигали глубокой гипотермии. Крысы выводились из эксперимента на 1, 2, 7, 14-е сутки эксперимента. Обнаружено, что сразу же после гипотермии в сердце крыс ТК были крупного размера, в состоянии мерокриновой секреции и гранулоцитолитического. На 2-й день эксперимента отмечали возрастание числа ТК, они мигрировали из кровяного русла и располагались вокруг сосудов. На 7-й день число дегранулирующих форм ТК уменьшалось, они перемещались в миокард и располагались преимущественно между кардиомиоцитами. На 14-й день содержание ТК в ткани сердца приближалось к норме. Таким образом, лаброциты служат важнейшими факторами в компенсаторно-приспособительных адаптационных реакциях, обеспечивающих устойчивость миокарда к воздействию холодового фактора.

Ключевые слова: гипотермия, миокард, лаброциты, процессы адаптации.

MYOCARDIAL MAST CELLS UNDER THE INFLUENCE OF HYPOTHERMIA

Bobrov I.P.¹, Lepilov A.V.¹, Dolgatov A.Yu.¹, Korsikov N.A.¹, Guldaeva Z.N.¹,
Kryuchkova N.G.¹, Sosedova M.N.¹, Dolgatova E.S.¹, Lushnikova E.L.², Bakarev M.A.²

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Altai State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Barnaul, e-mail: ig.bobrov2010@yandex.ru;

²FSBSI Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology "Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine", Novosibirsk

The study is devoted to the study of morphological features of cardiac mast cells (MC) of white Wistar rats under the influence of cold factor. A total of fifty hearts were examined. Hypothermic exposure was caused by placing cells with rats in cold water at a temperature of five degrees, while the ambient temperature was seven degrees. At a rectal temperature of twenty degrees, it was believed that the experimental animals reached deep hypothermia. The rats were removed from the experiment immediately after the termination of the cold factor effect and on the second, seventh, and fourteenth days. It was found that immediately after hypothermia in the heart of rats, MC were large in size, in a state of merocrine secretion and granulocytolysis. On the second day of the experiment, an increase in the number of MC was noted, they migrated from the bloodstream and were located around the vessels. On the seventh day, the number of degranulating forms of MC decreased, they moved to the myocardium and were located mainly between cardiomyocytes. On the fourteenth day, the MC content in the heart tissue was approaching normal. Thus, labrocytes serve as the most important factors in compensatory and adaptive adaptive reactions that ensure the resistance of the myocardium to the effects of the cold factor.

Keywords: hypothermia, myocardium, labrocytes, adaptation processes.

Лаброциты, или тучные клетки (ТК) - многофункциональные клеточные элементы, которые играют значительную роль при таких важнейших состояниях, как стресс [1-3], репарация [4], адаптация [5] и опухолевый рост [6].

В сердце, в силу своих тесных взаимосвязей с эндокринной, нервной и иммунной системами и клетками микроокружения кардиомиоцитов, ТК осуществляют

ремоделирование миокарда [7]. Мобилизация эндокринной системы является важнейшим фактором активизации ТК при холодовом стрессе. Активация симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем через синтез адренотропного гормона гипофиза (АКТГ) и катехоламинов приводит к дегрануляции лаброцитов. При воздействии нервной системы по симпатическим стволам к сердечным ТК поступают нейропептиды (субстанция Р, нейротензин и кортикотропин-релизинг фактор), которые также обладают мощным дегранулирующим эффектом. Медиаторы ТК способны оказывать влияние на клетки иммунной системы и наоборот. Цитокины и хемокины ТК могут активировать и вызывать миграцию нейтрофилов, а гепарин, напротив, снижает миграцию нейтрофильных лейкоцитов; гепарин способен тормозить миграцию эффекторных Т-лимфоцитов, а цитокин ИЛ-16 является хемоаттрактантом для CD4+ Т-лимфоцитов; ФНО α стимулирует миграцию и активность макрофагов; гистамин, лейкотриен и триптаза являются митогенами для сердечных фибробластов; химаза активирует матриксные металлопротеиназы и стимулирует синтез коллагена [8; 9].

ТК сердца относят к популяции соединительнотканых ТК. В норме в сердце их немного, они представлены в основном компактными формами, дегранулирующие ТК, по разным данным, составляют от 7% до 20%. Но количество и морфофункциональная активность ТК в сердечной ткани резко возрастает при сердечной недостаточности, инфаркте миокарда, гипертонической болезни, различных вариантах кардиомиопатий, миокардитах, атеросклерозе и экспериментальной патологии миокарда [10-12]. Высказывается предположение, что ТК через активацию фибробластов осуществляют замещение некротизированных клеток миокарда соединительной тканью. В то же время есть работы, где приводятся данные о негативном влиянии сердечных ТК при сердечно-сосудистой патологии. Но, несмотря на большое количество работ, посвященных сердечным ТК в норме и при патологии миокарда, их патоморфология при воздействии на сердечную ткань экстремальных факторов окружающей среды, и в том числе холодового фактора, изучена недостаточно.

Целью исследования являлся патоморфологический анализ тучных клеток сердечной ткани белых крыс Вистар при холодовом воздействии и в постгипотермическом периоде.

Материалы и методы исследования

В работе исследована сердечная ткань 50 самцов белых крыс линии Вистар, массой тела 200-300 граммов, при воздействии глубокой гипотермии (ГИГ). ГИГ вызвали помещением клеток с крысами в воду температурой +5 градусов, температура окружающей среды при этом составляла +7 градусов. Время воздействия холодового фактора в среднем было равно 40 минутам. Считали, что животные достигали состояния глубокой гипотермии,

если у них ректальная температура составляла +20-25 градусов. Крыс выводили из эксперимента через 1, 2, 7 и 14 суток.

В качестве контроля использовали 10 крыс, которые в клетках помещались в воду с температурой +30 градусов, температура окружающей среды была +22-25 градусов, время охлаждения было то же.

Использование крыс в данном исследовании, как и в других наших экспериментах, осуществлялось в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте, и директивами - 86/609/ЕЕС. В целях гуманности и устранения влияния стресса на результаты исследования умерщвление и обезболивание проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Для целей патогистологического исследования из левого желудочка сердца экспериментального животного вырезали 3-5 кусочков, которые затем фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина в течение 24-48 часов при комнатной температуре, после чего осуществляли проводку по общепринятой методике и заливали в высокомолекулярный парафин. При помощи роторного микротомы изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм. Окрашивание ТК осуществляли при помощи набора компании Biovitrum (Санкт-Петербург). Для фотографирования использовали цифровую видеокамеру Leica EC3 (Германия) и микроскоп Leica DM 750 E200 (Германия). В программе Image Tool 3.0. на фотографиях в формате JPEG высчитывали среднее число ТК в 3 полях зрения при увеличении объектива микроскопа $\times 400$ (площадь поля зрения составляла $0,365 \text{ мм}^2$). Рассчитывали в процентах содержание компактных и дегранулирующих типов ТК. Морфометрические исследования осуществляли с помощью программного обеспечения «ВидеоТест-Морфология 5.2». Статистическая обработка осуществлялась при помощи программного пакета Statistica 10.0.

Результаты исследования и их обсуждение

В сердечной ткани крыс группы контроля ТК обнаруживали в перикарде, периваскулярной ткани и между кардиомиоцитами. Они были небольшого размера, округлой формы, расположены одиночно или небольшими группами. Число ТК в сердце составило $3,3 \pm 0,3$ в поле зрения. Площадь клеток была равна $82,5 \pm 3,6 \text{ мкм}^2$. Содержание компактных типов ТК составило $74\% \pm 5,4$, дегранулирующих форм было $26\% \pm 5,4$. Дегрануляция ТК в группе контроля осуществлялась по апокриновому типу с отделением от клетки небольших фрагментов цитоплазмы или гранул.

На 1-й день эксперимента в сердце экспериментальных крыс ТК располагались группами или поодиночке, в основном в периваскулярной ткани. Они были крупного размера, овальной или округлой формы, бледно-фиолетового цвета (рис. 1).

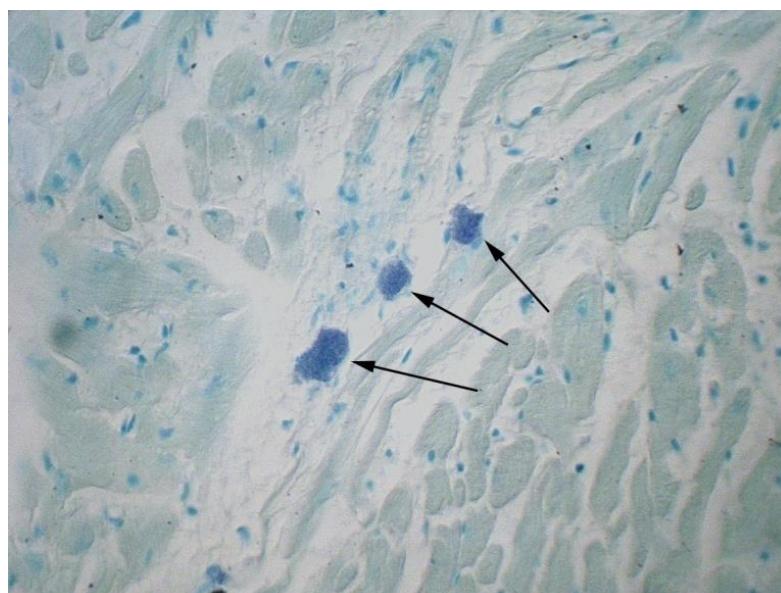


Рис. 1. Сердечная ткань крысы. На 1-й день эксперимента крупные ТК в состоянии мерокриновой секреции и опустошения располагаются в периваскулярной ткани (обозначены стрелками). Окрашивание толуидиновым голубым. Ув. х 400

Параметры лаброцитов сердечной ткани крыс

Параметры	Дни эксперимента			
	1-й день (1)	2-й день (2)	7-й день (3)	14-й день (4)
Общее число лаброцитов	3,6±0,4	5,6±0,3	3,8±0,2	2,4±0,15
Число компактных типов лаброцитов (%)	22,2±6,1	59,3±4,6	74±5,4	77,8±5,4
Число дегранулирующих типов лаброцитов (%)	77,8±6,1	40,7±4,6	26±5,4	22,2±5,4
Площадь лаброцитов (мкм ²)	126,3±4,8	108,8±3,0	94,7±3,9	90,7±3,9

Примечание: для общего числа лаброцитов: P₁₋₂ – 0,0001; P₂₋₃ – 0,00002; P₃₋₄ – 0,000003.

Для числа компактных типов лаброцитов: P₁₋₂ – 0,000009; P₂₋₃ – 0,04.

Для числа дегранулирующих типов: ТК P₁₋₂ – 0,000009; P₂₋₃ – 0,04; P₂₋₄ – 0,01.

Для площади лаброцитов: P₁₋₂ – 0,001; P₂₋₃ – 0,004.

Количество ТК в сердечной мышце равнялось 3,6±0,4, площадь клеток составила 126,3±4,8 мкм². Дегранулирующие формы ТК составили 77,8%±6,1, при этом дегрануляция

осуществлялась по мерокриновому типу с выраженными явлениями гранулоцитолита и опустошения клеток. Количество компактных форм ТК, по сравнению с контролем, уменьшилось до $22,1\% \pm 6,1$ (табл.).

На 2-й день эксперимента ТК в ткани сердца располагались группами вокруг сосудов и в меньшей мере между кардиомиоцитами, они имели фиолетовую окраску и преимущественно вытянутую форму (рис. 2).

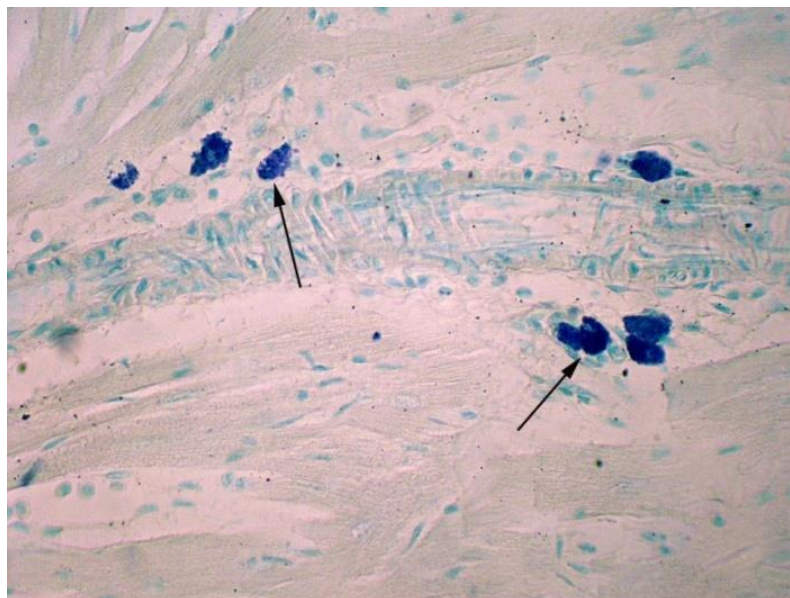


Рис. 2. Сердечная ткань крысы. ТК находятся в адвентиции сосуда, через 2 суток после воздействия ГИГ (обозначены стрелками). Окрашивание толуидиновым голубым. Ув. x 400

Содержание ТК в миокарде увеличивалась в 1,55 раза, площадь их уменьшалась до $108,8 \pm 3,0$ мкм². Количество клеток, имеющих компактное строение, возрастало в 2,7 раза, число дегранулирующих уменьшалось в 1,9 раза (табл.), при этом преобладали явления апокриновой секреции.

На 7-й день эксперимента отмечали уменьшение числа ТК вокруг сосудов и возрастание их количества между кардиомиоцитами. На данном сроке эксперимента преобладали клетки удлиненного вида (рис. 3).

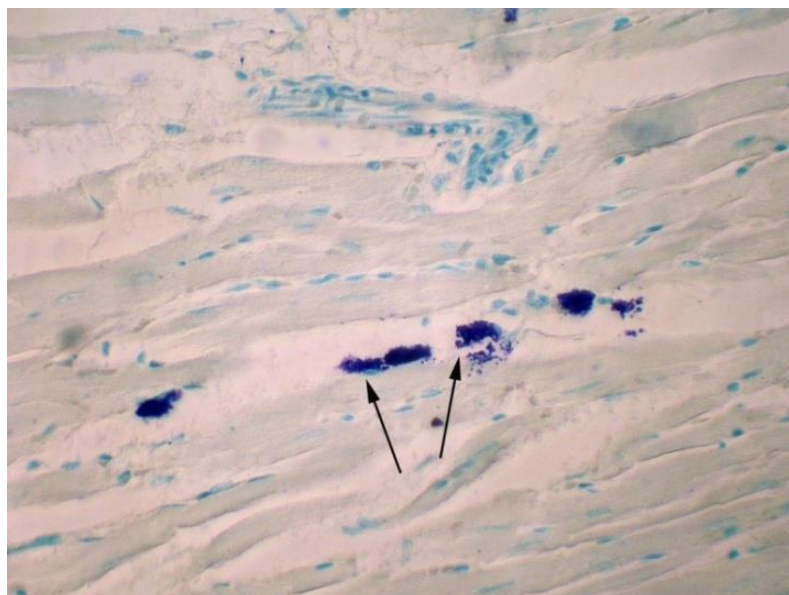


Рис. 3. Сердечная ткань крысы. Отмечается миграция ТК из периваскулярных пространств в миокард через 7 суток после воздействия ГИГ (обозначены стрелками).

Окрашивание толуидиновым голубым. Ув. х 400

Число ТК уменьшалось в 1,5 раза, и их площадь становилась меньше ($94,7 \pm 3,9$ μm^2). Число клеток в состоянии дегрануляции снижалось в 1,6 раза, а содержание ТК компактного строения увеличивалось в 1,25 раза (таблица). Дегрануляция преимущественно проходила по апокриновому типу.

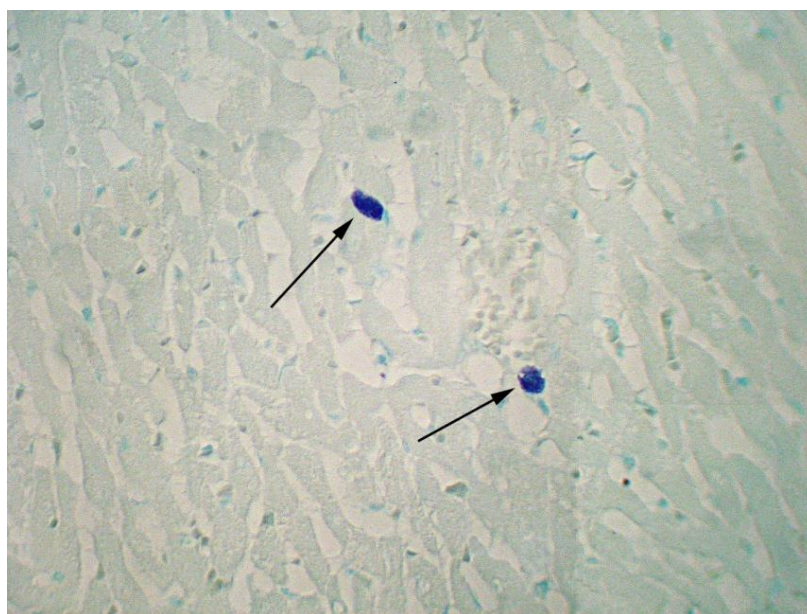


Рис. 4. Сердечная ткань крысы. Небольшие ТК определяются между кардиомиоцитами через 14 суток после воздействия ГИГ (обозначены стрелками).

Окрашивание толуидиновым голубым. Ув. х 400

На 14-й день проведения эксперимента ТК были расположены поодиночке и

группами, в основном между кардиомиоцитами. Они были небольшого размера и округлой формы (рис. 4).

Число ТК на данном сроке проведения эксперимента снижалось в 1,6 раза. Площадь клеток равнялась $90,7 \pm 3,9$ мкм². В состоянии дегрануляции было $22,2\% \pm 5,4$ клеток, при этом дегрануляция осуществлялась по апокриновому типу. Компактные формы ТК составляли $77,8\% \pm 5,4$ (табл.).

Таким образом, морфофункциональная активность сердечных ТК экспериментальных животных значительно изменялась под действием однократной ГИГ. После воздействия холодого фактора ТК находились в состоянии активной мерокриновой секреции, с проявлениями тотальной дегрануляции и гранулолизиса, что являлось следствием гипоксии, возникшей по причине спазма сосудов и активации симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем, так как АКТГ и катехоламины являются мощными дегрануляторами лаброцитов.

На 2-й день эксперимента в ткани сердца происходило возрастание числа ТК, и большинство из них отмечали в периваскулярной ткани. Это может свидетельствовать о процессах миграции молодых форм лаброцитов из кровяного русла в миокард. Следует отметить, что в предыдущих наших исследованиях содержание ТК в печени и легких после воздействия однократной ГИГ значительно возрастало только на 7-е сутки эксперимента [13-15]. Из этого можно заключить, что тучноклеточная популяция сердца является более чувствительной при мобилизации эндокринной системы и воздействии дегранулирующих факторов, в частности нейропептидов симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем. Через 7 дней лаброциты перемещались из периваскулярной ткани в миокард, и на 14-й день их содержание оказывалось близким к нормальному.

Динамические изменения, происходящие в популяции сердечных лаброцитов, обнаруженные в эксперименте, по нашему мнению, были связаны с процессами срочной адаптации, которые проявлялись гипертрофией ТК, активной мерокриновой секрецией, гранулолизисом на раннем этапе эксперимента и активным перемещением юных форм клеток из кровяного русла впоследствии. Высокая активность тучноклеточной популяции и раннее увеличение числа лаброцитов в миокарде может служить важным фактором, который способствует препятствию развитию тромбоза сосудов микроциркуляторного русла вследствие активной секреции гепарина.

Заключение

Таким образом, лаброциты служат важнейшими факторами в компенсаторно-приспособительных адаптационных реакциях, обеспечивающих устойчивость миокарда к воздействию холодого фактора. Сердечные ТК препятствуют блокаде

микроциркуляторного русла и регулируют процессы регенерации кардиомиоцитов при воздействии ГИГ.

Список литературы

1. Харькова Ю.О., Романова Т.П., Уварова И.А. Изменения состояния тучноклеточной популяции сердца крыс под воздействием стресса // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. 2017. Т.7. №1. С. 316.
2. Харькова Ю.О., Капшук Е.А. Морфофункциональный отклик периваскулярных лаброцитов и эндотелиоцитов микрососудов сердца на стрессорное воздействие // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. 2017. Т.7. №6. С. 1165.
3. Alevizos M., Karagkouni A., Panagiotidou S., Vasiadi M., Theoharides T.S. Stress triggers coronary mast cell leading to cardiac events. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2014. Vol.112. №4. P. 309-316.
4. Аралова М.В., Атякшин Д.А., Глухов А.А., Андреев А.А., Чуян А.О., Карапетян А.Р. Тучные клетки как активный компонент репарации ран // Журнал анатомии и гистопатологии. 2018. Т.7. №2. С. 103-109.
5. Арташян О.С., Юшков Б.Г., Храмова Ю.С. Морфологические аспекты участия тучных клеток в формировании общего адаптационного синдрома // Таврический медико-биологический вестник. 2012. Т.15. №3. С. 22-25.
6. Черданцева Т.М., Бобров И.П., Авдалян А.М., Климачев В.В., Казарцев А.В., Крючкова Н.Г., Климачев И.В., Мяделец М.Н., Лепилов А.В., Лушникова Е.Л., Молодых О.П. Тучные клетки при раке почки: клинико-морфологические взаимосвязи и прогноз // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т.163. №6. С. 768-773.
7. Levick S.P., Melendez G.C., Plante E., McLarty J.L., Brower G.L., Janicki J. Cardiac mast cells: the centerpiece an adverse myocardial remodeling. *Cardiovascular Research.* 2011. Vol.89. P. 12-19.
8. Гавришева Н.А., Ткаченко С.Б. Тучные клетки сердца в норме и при патологии // Кардиология. 2003. Т.43. №6. С. 59-66.
9. Кондрашевская М.В., Тучные клетки и гепарин – ключевые звенья в адаптивных и патологических процессах // Вестник РАМН. 2010. №6. С. 49-54.
10. Мунтяну А.И., Райка М., Зота Е.Г. Иммуногистохимическое изучение роли мастоцитов и макрофагов в процессе патогенеза в атеросклеротических бляшках у пациентов с метаболическим синдромом // Архив патологии. 2016. №2. С. 19-28.
11. Somasundaram P., Ren G., Nagar H., Kraemer D., Mendoza L., Michael L.H., Mast cell

tryptase may modulate endothelial cell phenotype in healing myocardial infarcts. *J. Pathol.* 2005. Vol.205. P. 102-111.

12. Shiota N., Rysa J., Kovanen P.T., Ruskoaha H., Kokkonen J.O., Lindstegt K.A. A role cardiac mast cells in the pathogenesis of hypertensive heart disease. *J. Hypertens.* 2003. Vol. 21. P. 1823-1825.

13. Долгатов А.Ю., Бобров И.П., Лепилов А.В., Крючкова Н.Г., Алымова Е.Е., Лушникова Е.Л., Молодых О.П. Морфофункциональная характеристика тучноклеточной популяции печени белых крыс при глубокой иммерсионной гипотермии (экспериментальное исследование) // Бюллетень медицинской науки. 2018. №3. С. 24-28.

14. Бобров И.П., Лепилов А.В., Гулдаева З.Н., Долгатов А.Ю., Алымова Е.Е., Крючкова Н.Г., Лушникова Е.Л., Молодых О.П. Тучноклеточная инфильтрация легких крыс после гипотермии // Современные проблемы науки и образования. 2019. №1. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28446> (дата обращения: 02.09.2021)

15. Бобров И.П., Лепилов А.В., Гулдаева З.Н., Долгатов А.Ю., Алымова Е.Е., Соседова М.Н., Крючкова Н.Г., Орлова О.В., Лушникова Е.Л., Бакарев М.А., Молодых О.П. Морфофункциональная характеристика тучноклеточной популяции легких крыс при однократной и многократной глубокой иммерсионной гипотермии // Современные проблемы науки и образования. 2019. №2. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28749> (дата обращения: 02.08.2021).