

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ НА ПЛОТНОСТЬ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В МИОКАРДЕ, ПЕРИКАРДЕ И ЛЕГКОМ КРЫСЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

© И. Л. Ерохина,¹ С. В. Оковитый,² А. Н. Куликов,² А. А. Казаченко,² О. И. Емельянова¹

¹ Институт цитологии РАН и ² Военно-медицинская Академия, Санкт-Петербург;

¹ электронный адрес: heartdev@mail.cytspb.rssi.ru

Активация ренин-ангиотензиновой системы (РАС) играет критическую роль в развитии сердечной недостаточности. На модели сердечной недостаточности у крыс, индуцированной изопроterenолом (ИП), изучали популяцию многофункциональных тучных клеток (ТК) после воздействия фармакологических ингибиторов РАС. Исследовали влияние на плотность ТК лизиноприла (ЛП) и фозиноприла (ФП) — ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, а также и лозартана (ЛТ) — блокатора рецепторов ангиотензина II. ТК разной степени зрелости идентифицировали на парафиновых срезах, окрашенных альциановым голубым и сафранином. Выраженность сердечной недостаточности (СН) оценивали по функциональным показателям, полученным с помощью эхокардиографического исследования сердца, и по морфологическим критериям на гистологических препаратах. Плотность ТК (на 1 мм² среза) у животных, получавших инъекции препаратов в течение 4 нед начиная с 4-й нед после инъекций ИП, сравнивали с плотностью ТК у интактных крыс (И) и у крыс с СН, развивающейся через 8 нед после инъекций ИП без применения лечения (СН). В миокарде под действием препаратов плотность всех ТК варьирует от 3 до 4 кл./мм² и достоверно не отличается от соответствующих значений у крыс в группах И и СН. В перикарде плотность ТК как у интактных, так и у подопытных крыс в несколько раз выше, чем в миокарде. Так, у крыс в группе И она равна 35 ± 7 кл./мм². У крыс в группе СН плотность всех ТК возрастает в 1.7 раза за счет увеличения плотности незрелых клеток, окрашивающихся альциановым голубым ($P < 0.05$). Под влиянием ЛП плотность ТК увеличивается еще в 1.4 раза за счет плотности зрелых клеток, окрашивающихся сафранином ($P < 0.01$). Инъекции ФП и ЛТ не влияют на плотность и баланс клеток разной степени зрелости. В легком 96—99 % составляют альциан-положительные ТК. Плотность таких клеток у крыс в группах И, СН и СН+ФП равна 30 кл./мм² и снижается под влиянием ЛП и ЛТ до 7 кл./мм² ($P < 0.01$) и 19 кл./мм² ($P < 0.05$) соответственно. Функциональные параметры сердца сопоставимы с данными морфологического анализа. Улучшение функции миокарда отмечается только у крыс с СН, получавших ФП и ЛТ. ТК в качестве элементов «каневои» РАС в миокарде, перикарде и легком у крыс с СН на воздействие ингибиторов РАС реагируют в различной степени. В перикарде инъекции ЛП стимулируют созревание резидентных ТК, а также пополнение популяции за счет незрелых клеток, мигрирующих извне, что позволяет предположить интенсификацию секреторной активности этих клеток. Напротив, в легких инъекции ЛП, как и ЛТ подавляют популяцию ТК.

Ключевые слова: тучные клетки, миокард, перикард, легкие, сердечная недостаточность, ренин-ангиотензиновая система, крысы.

Принятые сокращения: Анг — ангиотензин, И — интактные крысы, ИП — изопроterenол, ЛП — лизиноприл, ЛТ — лозартан, РАС — ренин-ангиотензиновая система, СН — крысы с сердечной недостаточностью, не получавшие препаратов, СН+ЛП, СН+ФП и СН+ЛТ — крысы с СН, получавшие препараты, ТК — тучная клетка, ФП — фозиноприл.

Патология сердечно-сосудистой системы сопровождается активацией ренин-ангиотензиновой системы (РАС), компоненты которой играют критическую роль в развитии СН (Wollert, Drexler, 1999). В ряде тканей, в том числе в сердце и легком, кроме циркулирующих компонентов «классической» РАС существуют локальные тканевые звенья РАС (Pieruzzi et al., 1995; Bader, Ganten, 2008). В качестве клеточных элементов тканевых РАС в сердце рассматриваются многофункциональные ТК, в гранулах которых присутствуют разнообразные медиаторы, в том числе компоненты РАС (Hara et al., 2004; Silver et al., 2004). В многочисленных работах показано, что ТК

вовлекаются в патогенез кардиомиопатий, инфаркта и гипертрофии миокарда, а также СН, при этом количество и активность ТК в сердце возрастают (Hara et al., 2002; Ерохина и др., 2006; Balakumar et al., 2008). В последние годы всесторонне исследуется механизм терапевтического действия на патологический миокард ингибиторов «классической» РАС применяемых при лечении болезней сердечно-сосудистой системы (Wollert, Drexler, 1999; Tao et al., 2005; Zhang et al., 2006; Weir, 2007).

Задачей настоящей работы было изучить влияние ЛП и ФП — ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, а также ЛТ — блокатора рецепторов Анг II — на

ТК локальных РАС в миокарде, перикарде и легком крыс с СН. Работа проведена на модели экспериментальной СН, вызванной инъекциями синтетического адреномиметика ИП, индуцирующего некрозы в миокарде. ТК идентифицировали цитохимически по окраске альциановым голубым и сафранином. Определяли плотность ТК и баланс клеток разной степени зрелости. Полученные данные сопоставляли с показателями эхокардиограммы и данными гистологического анализа.

Материал и методика

Эксперименты проводили на самцах крыс Вистар массой 250—270 г. Всего использовано 38 крыс. СН вызывали двукратными подкожными инъекциями ИП с интервалом 24 ч в дозе 80 мг на 1 кг массы тела. Изучали интактных крыс (И), крыс с СН, развивающейся через 8 нед после инъекций ИП, не получавших лечения (СН), и крыс, получавших ежедневно в течение 4 нед начиная с 4-й нед после второй инъекции ИП фармакологические препараты. Применяли следующие препараты: ЛП (10 мг/кг) и ФП (10 мг/кг) — ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, ЛТ (20 мг/кг) — блокатор рецепторов Анг II. Выраженность СН оценивали по морфологическим критериям на гистологических препаратах и функциональным показателям, полученным при эхокардиограмме в начале эксперимента после инъекций ИП (первая точка), через 4 нед (вторая точка) и 8 нед (третья точка) после инъекций ИП. Эхокардиограмму животным выполняли с использованием ультразвуковой системы Accuson Sequoia 512 с линейным датчиком (частота 8 МГц) на спине под комбинированным наркозом оксипутиратом натрия (35 мг на 100 г массы тела внутривентриально) и тиопенталом натрия (100 мкг на 100 г массы тела внутривентриально) для физиологического обезвреживания.

Исследование сердца выполняли по стандартным методикам: в двухмерном режиме получали парастернальное сечение по длинной и короткой осям, а также верхушечное четырехмерное сечение сердца. Измеряли размеры и объемы сердца и его камер, рассчитывали массу миокарда левого желудочка, фракцию укорочения и фракцию выброса левого желудочка, относительную толщину миокарда, величину ударного и минутного объемов кровотока, конечный систолический размер, конечный систолический объем, конечный диастолический размер и конечный диастолический объем. Кроме того, регистрировали частоту сердечных сокращений.

Миокард, перикард и легкие фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин и готовили срезы толщиной 5 мкм. Для гистологического изучения срезы окрашивали гематоксилином Майера с эозином или альциановым голубым. Для идентификации ТК срезы окрашивали в течение 30 мин при комнатной температуре смесью железных квасцов, альцианового голубого 8G и сафранина О, приготовленной на Уолполовском буфере, pH 1.42 (Röhlich, Csaba, 1972), промывали в дистиллированной воде и подкрашивали гематоксилином Майера с эозином. ТК подсчитывали в миокарде предсердий и желудочков, в перикарде и легком. Определяли плотность ТК на 1 мм², учитывая отдельно менее дифференцированные клетки с доминирующей окраской альциановым голубым, и более зрелые клетки, содержащие сафранин-положительные гранулы (Combs et al., 1965). Плотность ТК у крыс с СН,

получавших инъекции препаратов (СН+ЛП, СН+ФП и СН+ЛТ), сравнивали с плотностями ТК у животных групп И и СН. Значимость различий сравниваемых величин оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента.

В работе использовали изопроterenол (Fluka, Швейцария), лизиноприл (Gedeon Richter, Венгрия), фозиноприл (Bristol Mayer Squibb, США), лозартан (Zentiva, Чехия), альциановый голубой 8G (Fluka, Швейцария) и сафранин О (Fisher Science Ed., США).

Результаты

Функциональные показатели эхокардиограммы. У интактных животных (И) в течение 8 нед эксперимента достоверно увеличиваются средняя масса тела, масса миокарда левого желудочка, конечные диастолические размер и объем, ударный и минутный объемы кровотока. Уменьшается частота сердечных сокращений при неизменных показателях сократимости и ремоделирования левого желудочка — фракций укорочения и выброса, а также относительной толщины миокарда. Выявленные изменения обусловлены продолжающимся ростом и развитием здоровых животных — закономерным увеличением размеров и массы сердца пропорционально возрастанию массы тела. Увеличение массы тела наблюдается и у экспериментальных животных с СН, как получавших, так и не получавших препаратов.

У животных группы СН через 4 нед после инъекций ИП (вторая точка; см. раздел «Материал и методика») по сравнению с исходными показателями (первая точка) достоверно возрастают конечные систолические размер и объем, что выражается в снижении фракций укорочения и выброса ($P < 0.05$). К 8-й нед после инъекций ИП (третья точка) по сравнению с исходными показателями увеличиваются диаметр аорты и размеры левого желудочка ($P < 0.05$). При сопоставлении с группой И отмечается больший диаметр аорты.

У животных группы СН+ЛП к началу терапии ЛП (4 нед после инъекций ИП, вторая точка) по сравнению с исходными показателями (первая точка) достоверно увеличены диаметр аорты, конечные диастолические размер и объем, конечные систолические размер и объем, размеры левых камер сердца и частота сердечных сокращений ($P < 0.05$). Меньше становится относительная толщина миокарда. Фракции укорочения и выброса ниже, чем у интактных крыс ($P < 0.05$). Через 4 нед терапии ЛП (третья точка) по сравнению с началом терапии отмечается дальнейшее увеличение конечных систолических размера и объема. Уменьшаются диаметр аорты, размер левого предсердия, относительная толщина миокарда, масса миокарда левого желудочка, фракции укорочения и выброса, частота сердечных сокращений ($P < 0.05$). При сопоставлении с показателями у интактных крыс отмечается увеличение конечных систолических размера и объема ($P < 0.05$).

У животных группы СН+ЛТ к началу терапии ЛТ (4 нед после инъекций ИП, вторая точка) динамика параметров эхокардиограммы сходна с наблюдаемой у крыс группы СН: регистрируется увеличение конечных диастолических размера и объема, но более выраженное уменьшение конечных систолических размера и объема, что приводит к снижению фракций укорочения и выброса ($P < 0.05$). Отмечаются также уменьшение относительной толщины миокарда, расширение левого желудочка и уве-

Таблица 1

Сравнительный анализ морфологических признаков повреждения миокарда в разных экспериментах

Крысы	Полнокровные вен	Дистрофия кардиомиоцитов	Отек стромы миокарда	Мелкоочаговый интрамуральный и периваскулярный фиброз
И	+	0	0	0
СН	+++	++	+/++	++
СН+ЛП	++/+++	++	+/++	++
СН+ЛТ	+++	+	++	0/+/++
СН+ФП	+++	++	++	++

Примечание. И — интактные крысы; СН — крысы с сердечной недостаточностью, не получавшие препаратов; СН+ЛП, СН+ЛТ и СН+ФП — крысы с СН, получавшие лизиноприл, лозартан и фозиноприл соответственно; 0, «+», «++» и «+++» — признак не выражен, слабо, умеренно или сильно выражен соответственно.

личение массы миокарда левого желудочка. Конечные диастолические размер и объем больше, чем у интактных крыс ($P < 0.05$). Через 4 нед терапии ЛТ (третья точка) по сравнению с началом терапии наблюдается отчетливая положительная динамика в виде уменьшения конечного систолического размера и увеличения фракций укорочения и выброса ($P < 0.05$). По сравнению с группой СН становится меньше диаметр аорты ($P < 0.05$).

У животных группы СН+ФП к началу терапии ФП (4 нед после инъекций ИП, вторая точка) изменения параметров эхокардиограммы аналогичны регистрируемым у крыс группы СН: достоверно увеличены конечные систолические размер и объем, конечные диастолические размер и объем, снижены фракции укорочения и выброса. При сравнении с группой И отмечаются более высокие значения конечного диастолического размера, частоты сердечных сокращений и размера левого желудочка ($P < 0.05$). Через 4 нед терапии ФП (третья точка) по сравнению с началом терапии увеличиваются фракции укорочения и выброса ($P < 0.05$). При сопоставлении с контрольными группами (И и СН) значимых различий выявлено не было.

Анализ гистологических препаратов. У интактных крыс в миокарде и легком морфологические изменения не выявляются (табл. 1). У крыс с СН, не получавших препаратов (СН), через 8 нед после инъекций ИП в миокарде видны дистрофические повреждения кардиомиоцитов и умеренный мелкоочаговый интрамуральный и периваскулярный фиброз. Морфологические изменения в легком, как и в миокарде, свидетельствуют о развитии после инъекций ИП хронической СН без признаков декомпенсации функции миокарда.

В миокарде крыс с СН, получавших ЛП (СН+ЛП), как и у животных группы СН, видны признаки дистрофии кардиомиоцитов и умеренного мелкоочагового кардиосклероза. У всех животных наблюдается умеренно выраженный или значительный отек легких, что является признаком декомпенсации сердечной деятельности. У крыс подопытной группы СН+ЛТ дистрофия кардиомиоцитов выражена слабо, склероз миокарда у 20 % животных отсутствует, у 60 и 20 % соответственно слабо и умеренно выражен. Степень повреждения легких также варьирует у отдельных животных. Морфологические признаки СН выражены в разной степени у отдельных животных: у 40 % СН отсутствует, у 40 % выявляются признаки прогрессирующей СН, а у 20 % наличие отека легких указывает на декомпенсацию сердечной деятельности. У крыс подопытной группы СН+ФП в миокарде отмечаются умеренная дистрофия кардиомиоцитов и прогрессирующий интрамуральный фиброз. По сравнению с действием ЛП и ЛТ у животных более выражена хроническая СН, хотя и без признаков прогрессирования и декомпенсации. В легких отчетные изменения минимальны.

Итак, в группах животных с различными схемами лечения результаты патоморфологического исследования неоднородны. Основные различия наблюдаются в малом круге кровообращения. Изменения в миокарде у крыс с СН, получавших и не получавших препаратов, в основном аналогичны и отражают степень поражения сердечной мышцы (табл. 1). Данные гистологического анализа, показавшие у всех животных с СН наличие в той или иной степени декомпенсации сердечной деятельности, сопоставимы с данными эхокардиограммы. Улучшение функциональных показателей (сократимости) было выявлено только на фоне терапии ФП и ЛТ.

Плотность тучных клеток. 1. Миокард. У интактных крыс плотность ТК в миокарде составляет 4.2 ± 2.3 кл./мм². В миокарде крыс с СН, получавших и не получавших лечения, плотность ТК варьирует от 2.7 до 3.9 кл./мм² и не отличается достоверно от ее значений у интактных крыс. У крыс в группах И, СН, СН+ЛП и СН+ЛТ преобладают зрелые сафранин-положительные клетки (от 74 до 93 %). В опытах СН+ФП зрелых клеток достоверно меньше, чем в опытах с ЛП и ЛТ ($P < 0.01$), и баланс клеток разной степени зрелости сдвигается в пользу менее дифференцированных альциан-положительных клеток, которые составляют 69 %.

2. Перикард. Плотность ТК в фиброзном слое перикарда во всех вариантах экспериментов в несколько раз выше, чем в миокарде. Так, у интактных крыс она составляет 35 ± 7 кл./мм², из них 69 % — зрелые клетки. У крыс с СН, не получавших препаратов (СН), плотность всех ТК на фоне значительной индивидуальной вариабельности возрастает до 59 ± 17 кл./мм² ($P < 0.05$) при увеличении в 2.4 раза плотности незрелых клеток ($P < 0.05$; табл. 2). По сравнению с группой СН у крыс с СН, получавших лечение, плотность всех ТК в перикарде достоверно возрастает только после введения ЛП (в 1.4 раза; $P < 0.05$). ЛП стимулирует миграцию в перикард незрелых клеток и последующее их созревание, при этом в 2 раза возрастает плотность зрелых клеток ($P < 0.01$), которая достигает 84 %. Напротив, введение ФП, другого ингибитора ангиотензинпревращающего фермента, как и введение ЛТ, не влияет на плотность ТК и баланс клеток разной степени зрелости; доля зрелых клеток в этих опытах составляет около 50 %. В перикарде крыс группы СН+ЛП плотность как всех ТК, так и зрелых клеток достоверно меньше, чем в опыте СН+ЛП ($P < 0.01$).

3) Легкие. В отличие от миокарда и перикарда в легком преобладают альциан-положительные ТК (97—100 %), тогда как зрелые сафранин-положительные клетки единичны. У крыс группы СН плотность ТК в легком не отличается от нормы и составляет около 30 кл./мм². Плотность этих клеток резко снижается под воздействием ЛП (в 4 раза; $P < 0.01$) и в меньшей степени — под влиянием ЛТ (в 1.6 раза; $P < 0.05$). После лечения ФП в легком, как и в перикарде, суммарная плотность ТК и соотношение клеток разной степени зрелости не отличаются

Т а б л и ц а 2

Плотность (среднее значение \pm SEM) незрелых альбиан-положительных и зрелых сафранин-положительных тучных клеток в перикарде в разных экспериментах

Крысы	Плотность незрелых клеток	Плотность зрелых клеток
И	11 \pm 6	24 \pm 8
СН	27 \pm 17 ^a	32 \pm 17
СН+ЛП	13 \pm 7	69 \pm 13 ^b
СН+ЛТ	22 \pm 16	25 \pm 11
СН+ФП	23 \pm 15	27 \pm 16

^a Отличие от И при $P < 0.05$. ^b Отличие от СН при $P < 0.01$. Остальные обозначения, как в табл. 1.

от соответствующих значений у крыс с СН, не получавших препаратов.

Таким образом, на хроническую СН, индуцированную ИП (агонистом β -адренорецепторов), активно реагирует только популяция перикардиальных ТК. Ингибиторы РАС влияют на плотность не только перикардиальных, но и легочных ТК. После воздействия ЛП в перикарде наблюдается четко выраженная активация ТК. Напротив, в легком ЛП и ЛТ подавляют популяцию ТК. Увеличение плотности ТК в перикарде после воздействия ЛП сочетается с плохими показателями сердечной деятельности по результатам эхокардиограммы, а также с наличием у всех животных умеренного или сильного отека легких по данным гистологического анализа, что является признаком декомпенсации сердечной деятельности. Напротив, после лечения ЛТ, который не увеличивает плотность ТК в перикарде, отек легких, указывающий на декомпенсацию функции миокарда, наблюдался только у 20 % животных. Изменения в легких, связанные с отеком, были минимальными у контрольных крыс с СН и у крыс, получавших ФП. Однако после лечения ФП в большей степени, чем после применения ЛП и ЛТ, была выражена хроническая СН без декомпенсации функции сердца.

Обсуждение

По данным настоящей работы, через 8 нед после инъекций ИП по функциональным и гистологическим показателям у крыс развивается хроническая СН без признаков декомпенсации функции миокарда. На СН активно реагирует только популяция ТК перикарда, в фиброзный слой которого мигрируют незрелые ТК, что приводит к увеличению плотности ТК. В отличие от экспериментального инфаркта миокарда, при котором наблюдается активация ТК в миокарде (Engels et al., 1995; Ерохина и др., 2006), при СН, индуцированной ИП, достоверных изменений плотности ТК, локализованных в миокарде, выявить не удается (Ерохина и др., 2008; данные настоящей работы). Следует отметить, что, несмотря на морфологическое сходство повреждения миокарда при использовании этих моделей, механизм появления некрозов различный. При инфаркте миокарда некрозы носят очаговый характер и возникают вследствие ишемии, а под действием ИП некрозы диффузные и появляются в результате быстрой перегрузки клеток кальцием, а также из-за несоответ-

ствия между кислородным запросом миокарда и доставкой кислорода. Как и в миокарде, плотность ТК в легком при индукции СН по сравнению с нормой не изменяется.

На воздействие ингибиторов РАС, как и на индукцию СН, популяция ТК, локализованных в миокарде, перикарде и легком у крыс с СН, реагирует в различной степени. Применяемые фармакологические препараты не изменяют количество ТК в миокарде и вместе с тем значительно влияют на количество ТК в перикарде и легком. Наиболее сильное воздействие оказывает ЛП (но не ФП!), который стимулирует приток в перикард незрелых ТК и последующее их созревание, что приводит к значительному увеличению плотности ТК за счет зрелых клеток. Это предполагает усиление секреторной функции ТК. ЛП, а также ЛТ оказывают противоположное действие на популяцию ТК, присутствующих в легких. Пока неясно, какие факторы под действием ЛП стимулируют приток незрелых клеток в перикард и последующее их созревание и, напротив, уменьшают их количество в легком. Следует отметить, что, по данным литературы, в легочном эндотелии высока экспрессия ангиотензинпревращающего фермента, который блокируется ЛП.

Есть основание предполагать, что изменения плотности ТК под влиянием ЛП вторичны. Этот препарат, по-видимому, в использованной в эксперименте дозе чрезмерно снижает артериальное давление у подопытных животных, что приводит к падению перфузии многих органов, в том числе и почек. В условиях чрезмерного снижения перфузии почек выведение высокогидрофильного ЛП нарушается и он начинает накапливаться в организме, что в свою очередь потенцирует дальнейшее падение артериального давления и перфузии органов и тканей. Приток ТК в перикард на фоне терапии ЛП может объясняться вторичной активацией РАС, что является ответом организма на постоянно падающее артериальное давление и сердечную деятельность. Но, по-видимому, это одновременно усугубляет и гемодинамические явления СН. Вместе с тем высокие дозы ЛП в этом случае значимо подавляют фиброз в миокарде, что соответствует данным, полученным ранее на модели спонтанно-гипертензивных крыс (Brilla et al., 1996) и при сердечной недостаточности (Weber et al., 1991).

Следует отметить, что ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента и блокаторы рецепторов Анг II, применяемые в терапевтических целях, направлены в основном на блокирование «классической» РАС (Unger, 2008), с активацией которой в основном связывают развитие заболеваний сердечно-сосудистой системы. Поступающий из почек ренин расщепляет образующийся в печени ангиотензиноген до Анг I, который при участии ангиотензинпревращающего фермента дает начало Анг II, главному эффекторному белку РАС. Анг II действует на рецепторы гладкомышечных клеток, увеличивая тонус сосудов (Wollert, Drexler, 1999). Вместе с тем показано, что Анг II может синтезироваться альтернативными путями с участием локальных тканевых РАС, активность которых заметно возрастает при патологии (Pieruzzi et al., 1995; Li et al., 2002; Paul et al., 2006; Bader, Ganten, 2008). В сердце крыс степень активации локальной РАС пропорциональна тяжести СН (Pieruzzi et al., 1995). Получены убедительные данные в пользу того, что многофункциональные гранулярные ТК, присутствующие в тканях, действуют как элементы локальных РАС. Показано наличие в гранулах ТК сердца и легкого таких компонентов РАС, как ренин и Анг II (Hara et al., 2004; Silver et al., 2004; Vee-

garpan et al., 2008). В патологических условиях происходит дегрануляция ТК, что приводит к освобождению значительных количеств ренина, который инициирует локальное образование Анг II в сердце (Mackins et al., 2006).

Альтернативный путь превращения Анг I в Анг II осуществляется, как полагают, с помощью химазы, активность которой возрастает при различных патологиях миокарда (Doggrell, Wanstall, 2004). Исследование клеточной локализации химазы методом электронной иммуноцитохимии показало присутствие химаза-подобного иммунореактивного материала в клетках эндотелия и соединительной ткани, включая ТК (Urata et al., 1993). При СН у собак по сравнению с нормой в левом желудочке увеличивается число положительных на химазу ТК; при этом химаза не чувствительна к ингибиторам ангиотензинпревращающего фермента и чувствительна к ингибиторам химазы, воздействие которых значительно уменьшает плотность ТК и уровень Анг II в сердце (Matsumoto et al., 2003). Таким образом, синтез Анг II продолжается альтернативными путями с участием химазы ТК. В большинстве тканей локальная система РАС с участием ТК через ренин—химазу—Анг II усиливает действие циркулирующего Анг II «классической» РАС и влияет на патофизиологию сердечно-сосудистых болезней. Выделяемый при дегрануляции ТК ренин запускает систему локального образования Анг II, который, взаимодействуя с рецептором к Анг II (AT₁) на окончаниях симпатических нервов, приводит к чрезмерному освобождению норэпинефрина и ухудшению функции миокарда.

Химаза активирует также трансформирующий фактор роста β , главный стимулятор фиброза миокарда (Doggrell, Wanstall, 2004; Miyazaki et al., 2006). Ингибиторы химазы снижают уровень трансформирующего фактора роста β и предотвращают фиброз и дисфункцию после инфаркта миокарда у крыс (Kanemitsu et al., 2006). Показанное нами значительное возрастание плотности ТК в перикарде крыс при СН приводит к увеличению концентрации химазы и способствует развитию фиброза в миокарде, который в той или иной степени выражен у крыс с СН, как получавших, так и не получавших препаратов.

Известно, что перикард вовлекается в патофизиологию сердечно-сосудистой системы. Уже через 1 сут после индукции СН в перикарде начинает увеличиваться плотность ТК, и динамика поведения этих клеток соответствует тяжести СН по функциональным показателям (Ерохина и др., 2008). По данным настоящей работы, через 8 нед после индукции СН у крыс плотность ТК в перикарде по сравнению с нормой значительно возрастает. Можно предполагать, что при прогрессировании СН клетки мигрируют в перикард, а их увеличенная паракринная функция направлена на улучшение сократительной активности миокарда (например, за счет увеличения продукции Анг II). Так, в ответ на дисфункцию сердечно-сосудистой системы в перикардиальной жидкости возрастает концентрация вазоактивных соединений, таких как натрийуретические пептиды и Анг II, баланс между которыми играет важную роль в регуляции функции сердца (Kishimoto et al., 2002). В перикардиальной жидкости человека при патологии сердца активность ангиотензинпревращающего фермента в 10 раз выше, чем в сыворотке (Gomes et al., 2008). Высокая активность этого фермента в перикардиальной жидкости может быть связана с высокой плотностью ТК в фиброзном слое перикарда. Эти данные являются важным доказательством роли перикарда в регуляции кардиоваскулярного гомеостаза.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 08-04-00528).

Список литературы

- Ерохина И. Л., Мартынова М. Г., Моисеева О. М., Емельянова О. И. 2006. Активация тучных клеток при экспериментальном инфаркте миокарда у 3-недельных крысят. Цитология. 48 (8): 661—664.
- Ерохина И. Л., Оковитый С. В., Куликов А. Н., Казаченко А. А., Мартынова М. Г., Моисеева О. М., Шуленин С. Н., Емельянова О. И. 2008. Плотность тучных клеток в миокарде и перикарде крыс при сердечной недостаточности, индуцированной изопроterenолом. Цитология. 50 (2): 113—117.
- Bader M., Ganten D. 2008. Update on tissue renin-angiotensin systems. J. Mol. Med. 86 : 615—621.
- Balakumar P., Singh A. P., Ganti S. S., Krishan P., Ramasamy S., Singh M. 2008. Resident cardiac mast cells: are they the major culprit in the pathogenesis of cardiac hypertrophy? Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 102 : 5—9.
- Brilla C. G., Matsubara L., Weber K. T. 1996. Advanced hypertensive heart disease in spontaneously hypertensive rats. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis. Hypertension. 28 : 269—275.
- Combs J. W., Lagunoff D., Benditt E. P. 1965. Differentiation and proliferation of embryonic mast cells of the rat. J. Cell Biol. 25 : 577—592.
- Doggrell S. A., Wanstall J. C. 2004. Vascular chymase: pathophysiological role and therapeutic potential of inhibition. Cardiovasc. Res. 61 : 653—662.
- Engels W., Reiters P. H., Daemen M. J., Smits J. F., van der Vusse G. J. 1995. Transmural changes in mast cell density in rat heart after infarct induction in vivo. J. Pathol. 177 : 423—429.
- Gomes R. A., Teodoro L. G., Lopes I. C., Bersanetti P. A., Carmona A. K., Hial V. 2008. Angiotensin-converting enzyme in pericardial fluid: comparative study with serum activity. Arq. Bras. Cardiol. 91 : 156—161, 172—178.
- Hara M., Ono K., Hwang M. W., Iwasaki A., Okada M., Nakatani K., Sasayama S., Matsumori A. 2002. Evidence for a role of mast cells in the evolution to congestive heart failure. J. Exp. Med. 195 : 375—381.
- Hara M., Ono K., Wada H., Sasayama S., Matsumori A. 2004. Preformed angiotensin II is present in human mast cells. Cardiovasc. Drugs Ther. 18 : 415—420.
- Kanemitsu H., Takai S., Tsuneyoshi H., Nishina T., Yoshikawa K., Miyazaki M., Ikeda T., Komeda M. 2006. Chymase inhibition prevents cardiac fibrosis and dysfunction after myocardial infarction in rats. Hypertension. Res. 29 : 57—64.
- Kishimoto I., Saito Y., Li Y., Nakao K. 2002. Cross-talk between the natriuretic peptide system and the angiotensin system. Nippon. Rinsho. 60 : 1923—1928.
- Li P., Chen P.M., Wang S. W., Chen L.Y. 2002. Time-dependent expression of chymase and angiotensin converting enzyme in the hamster heart under pressure overload. Hypertension. Res. 25 : 757—762.
- Mackins C. J., Kano S., Seyedi N., Schäfer U., Reid A. C., Machida T., Silver R. B., Levi R. 2006. Cardiac mast cell-derived renin promotes local angiotensin formation, norepinephrine release, and arrhythmias in ischemia/reperfusion. J. Clin. Invest. 116 : 1063—1070.
- Matsumoto T., Wada A., Tsutamoto T., Ohnishi M., Isono T., Kinoshita M. 2003. Chymase inhibition prevents cardiac fibrosis and improves diastolic dysfunction in the progression of heart failure. Circulation. 107 : 2555—2558.
- Miyazaki M., Takai S., Jin D., Muramatsu M. 2006. Pathological roles of angiotensin II produced by mast cell chymase and the effects of chymase inhibition in animal models. Pharmacol. Ther. 112 : 668—676.
- Paul M., Poyan Mehr A., Kreuz R. 2006. Physiology of local renin-angiotensin systems. Physiol. Rev. 86 : 747—803.

- Pieruzzi F., Abassi Z. A., Keiser H. R. 1995. Expression of renin-angiotensin system components in the heart, kidneys, and lungs of rats with experimental heart failure. *Circulation*. 92 : 3105—3112.
- Röhlich P., Csaba G. 1972. Alcian blue—safranin staining and ultrastructure of rat mast cell granules during degranulation. *Acta biol. Acad. sci. hung.* 23 : 83—89.
- Silver R. B., Reid A. C., Mackins C. J., Askwith T., Schaefer U., Herzlinger D., Levi R. 2004. Mast cells: a unique source of renin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 101 : 13 607—13 612.
- Tao Z. W., Huang Y. W., Xia Q., Xu Q. W. 2005. Combined effects of ramipril and angiotensin II receptor blocker TC116 on rat congestive heart failure after myocardial infarction. *Chin. Med. J. (Engl.)*. 118 : 146—154.
- Unger T. 2008. Targeting cardiovascular protection: the concept of dual renin-angiotensin system control. *Medscape J. Med.* 10 (Suppl.) : S4.
- Urata H., Boehm K. D., Philip A., Kinoshita A., Gabrovsek J., Bumpus F. M., Husain A. 1993. Cellular localization and regional distribution of an angiotensin II-forming chymase in the heart. *J. Clin. Invest.* 91 : 1269—1281.
- Veerappan A., Reid A. C., Estephan R., O'Connor N., Thadani-Mulero M., Salazar-Rodriguez M., Levi R., Silver R. B. 2008. Mast cell renin and a local renin-angiotensin system in the airway: role in bronchoconstriction. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 105 : 1315—1320.
- Weber K. T., Brilla C. G., Janicki J. C. 1991. Cardioreparation with lisinopril in the management of hypertension and heart failure. *Cardiology*. 79 : 62—73.
- Weir M. R. 2007. Effects of renin-angiotensin system inhibition on end-organ protection: can we do better? *Clin. Ther.* 29 : 1803—1824.
- Wollert K. C., Drexler H. 1999. The renin-angiotensin system and experimental heart failure. *Cardiovasc. Res.* 43 : 838—849.
- Zhang R. Y., Wang L. F., Zhang L., Meng X. N., Li S. J., Wang W. R. 2006. Effects of angiotensin converting enzyme inhibitor, angiotensin II type I receptor blocker and their combination on postinfarcted ventricular remodeling in rats. *Chin. Med. J. (Engl.)*. 119 : 649—655.

Поступила 11 IV 2009

EFFECT OF RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM INHIBITORS ON THE DENSITY OF MYOCARDIAL, PERICARDIAL AND PULMONARY RAT MAST CELLS UNDER EXPERIMENTAL HEART FAILURE

I. L. Erokhina,¹ S. V. Okovityy,² A. N. Kulikov,² A. A. Kazachenko,² O. I. Emelyanova¹

¹ Institute of Cytology RAS and ² Military Medical Academy, St. Petersburg;

¹ e-mail: heartdev@mail.cytspb.rssi.ru

Activation of the renin-angiotensin system (RAS) plays a critical role in the pathogenesis of heart failure (HF). We studied the effect of lisinopril (LP) and fosinopril (FP), the inhibitors of angiotensin-converting enzyme, and of losartan (LT), the antagonist of Angiotensin II receptors, on the behavior of multifunctional mast cells (MCs) under experimental HF. The inhibitors of RAS were daily injected during 4 weeks in 4 weeks after two (at 24-h interval) isoproterenol injections. MCs of different degrees of maturity were identified on paraffin sections stained with Alcian blue and Safranin. Expressiveness of HF was estimated by functional parameters with the help of echocardiogram and by morphological markers. The MC density in the myocardium of the intact rats as well as of the rats with HF, both treated and untreated with the preparations, was relatively low: from 3 to 4 cells/mm². The MC density in the pericardium of the intact rats was several times higher than in the myocardium: 35 ± 7 cells/mm². The density of pericardial MC under HF was 1.7 higher than that in the intact rats at the expense of the increase in the density of Alcian-positive immature cells ($P < 0.05$). The injections of LP increased the MC density still in 1.4 times at the expense of the density of Safranin-positive mature cells ($P < 0.01$). The injections of FP and LT had no influence on the MC density and the balance of cells of different degrees of maturity in the pericardium. 96—99 % of MCs in lung were Alcian-positive cells. The density of such cells in the intact rats, in the rats with HF, and in the rats with HF treated with FP was 30 cells/mm². The injections of LP and LT decreased the density of pulmonary MCs up to 7 cells/mm² ($P < 0.01$) and 19 cells/mm² ($P < 0.05$), respectively. Functional parameters of the hearts were consistent with the data of morphological analyses. Myocardium function improvement was noted only in the rats with HF treated with FP and LT. The reaction of MCs (as cell elements of «tissue» RAS) to injections of inhibitors of RAS was various in the myocardium, pericardium and lung of the rats with HF. The injections of LP stimulated maturation of the resident MCs in the pericardium and the replenishment of the population through immature cells migrating from the outside. It allows us to suppose an intensification of secretory activity of the cells. In contrast, the injections of LP and LT reduced the pulmonary MC population.

Key words: mast cells, renin-angiotensin system, heart failure, myocardium, pericardium, lung, rats.