

**АДАПТАЦИОННЫЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ  
L-NAME-ИНДУЦИРОВАННОЙ ДИСФУНКЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

А.В. ШИЛОВ\*, М.В. МНИХОВИЧ\*\*\*, Р.Е. КАЛИНИН\*\*\*, Л.В. КАКТУРСКИЙ\*, И.А. СУЧКОВ\*\*\*,  
С.В. РУДНИЦКИЙ\*\*\*\*, О.В. МАШКОВЦЕВ\*\*\*\*, Г.П. КАЗАНЦЕВА\*\*\*

\*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,  
ул. Цюрупы, 3, Москва, 117418, Россия

\*\*ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ул. Островитянова, 1, Москва, 117997, Россия

\*\*\*ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»  
Минздрава России, ул. Высоковольная, 9, Рязань, 390026, Россия

\*\*\*\*ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
ул. К. Маркса, 112, Киров, 610998, Россия

**Аннотация.** В статье проведена оценка тканевых и ультраструктурных изменений в сосудистой стенке при L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции. Эксперименты выполнены на 10 беспородных кошках, массой от 3,0 до 4,5 кг. Моделирование L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции осуществлялось путем введения в течение 7 дней N-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME) один раз в сутки внутривентрально в дозе 25 мг/кг. Гистологические срезы сосудов окрашивали пикрофуксином по Ван Гизону и по методу Маллори по общепринятой методике. Показано, что в структуре сосудистой стенки обнаружены адаптивные и патологические изменения эндотелиальных клеток. К адаптивно-компенсаторным процессам относились набухание и деструкция отдельных митохондрий, увеличение ядерной поверхности эндотелиоцитов. Патологические изменения эндотелиоцитов проявлялись отеком и гипертрофией эндотелиальных клеток, деструкцией митохондрий, расширением и отеком перикапиллярного пространства, что является морфологическим эквивалентом функциональных (обратимых) изменений окружающих тканей. Нарушения ультраструктуры кровеносных сосудов состоит в повреждении эндотелиальных клеток, отеке перикапиллярного пространства, разрыхлении и нарушении целостности базальной мембраны кровеносных капилляров. Ведущим звеном в развитии патологии сосудов на ультраструктурном уровне является митохондриальная недостаточность эндотелиоцитов, структурно проявляющаяся лизисом наружных мембран и крипт этих органелл, что влечет за собой дефицит биоэнергетического обеспечения внутриклеточных синтетических реакций и репаративных процессов.

**Ключевые слова:** экспериментальное моделирование, морфологическая оценка, L-NAME индуцированная эндотелиальная патология, ультраструктура, эндотелий.

**ADAPTATION AND PATHOLOGICAL CHANGES OF ENDOTHELIA AT  
L-NAME OF INDUCED DYSFUNCTION IN EXPERIMENT**

A.V. SHILOV\*, M.V. MNIKHOVICH\*\*\*, R.E. KALININ\*\*\*, L.V. KAKTURSKEY\*, I.A. SUCHKOV\*\*\*,  
S.V. RUDNITSKY\*\*\*\*, O.V. MASHKOVTSSEV\*\*\*\*, G.P. KAZANTSEVA\*\*\*

\*Research Institute of Human Morphology, 3 Tsyurupa Str., Moscow, 117418, Russia

\*\*Pirogov Russian National Research Medical University, 1 Ostrovityanov Str., Moscow, 117997, Russia

\*\*\*Pavlov Ryazan State Medical University, 9 Vysokovoltynaya Str., Ryazan, 390026, Russia

\*\*\*\*Kirov State Medical University, 112 K. Marks Str., Kirov, 610998, Russia

**Abstract.** The article assesses tissue and ultrastructural changes in the vascular wall with L-NAME induced endothelial dysfunction. The experiments were performed on 10 mongrel cats, weighing from 3.0 to 4.5 kg. Modeling of L-NAME-induced endothelial dysfunction was carried out by administering N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) for 1 day intraperitoneally at a dose of 25 mg / kg for 7 days. Histological sections of the vessels were stained with picrofuxin according to Van Gieson and according to the Mallory method according to the conventional method. It was shown that adaptive and pathological changes of endothelial cells were found in the structure of the vascular wall. Adaptive-compensatory processes included swelling and destruction of individual mitochondria, an increase in the nuclear surface of endotheliocytes. Pathological changes in endotheliocytes were manifested by edema and hypertrophy of endothelial cells, destruction of mitochondria, expansion and edema of pericapillary space, which is the morphological equivalent of functional (reversible) changes in surrounding tissues. Violations of the ultrastructure of blood vessels consist of damage to endothelial cells,

edema of the pericapillary space, loosening and disruption of the integrity of the basement membrane of the blood capillaries. The leading link in the development of vascular pathology at the ultrastructural level is mitochondrial deficiency of endotheliocytes, which is structurally manifested by the lysis of the outer membranes and crypts of these organelles, which entails a shortage of bioenergetic support for intracellular synthetic reactions and reparative processes.

**Key words:** experimental modeling, morphological evaluation, L-NAME induced endothelial pathology, ultrastructure, endothelium.

**Введение.** Роль дисфункции эндотелия в прогрессировании атеросклероза и развитии гиперплазии интимы не вызывает сомнений и в настоящее время *функциональному состоянию эндотелия* (ФСЭ) придается большое значение в изучении этиологии, патогенеза облитерирующего атеросклероза, прогрессировании заболевания, развитии осложнений [1, 3, 4]. По мнению ряда авторов, основное звено патогенеза рестеноза зоны сосудистых анастомозов – это дисфункция эндотелия [3, 4]. Основным активным метаболитом, определяющим функциональное состояние эндотелия, большинством авторов признает оксид азота (NO), являющийся локальным тканевым гормоном с множественными эффектами – от противовоспалительного до сосудистых эффектов и стимуляции ангиогенеза [5, 7, 8, 9]. Также в комплексной оценке ФСЭ целесообразно учитывать компоненты перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты [6, 7]. Одним из проявлений эндотелиальной дисфункции в послеоперационном периоде является гиперплазия неоинтимы в зоне реконструкции [1, 2].

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты выполнены на 10 беспородных кошках, массой от 3,0 до 4,5 кг. Все работы проводились в соответствии с этическими нормами, руководствуясь правилами и приказами: «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) и приказом Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977г., Животные содержались в стандартных условиях вивария, получали стандартный рацион питания и воду *ad libitum*.

Моделирование *L-NAME*-индуцированной эндотелиальной дисфункции осуществлялось путем введения в течение 7 дней *N*-нитро-*L*-аргинин метилового эфира один раз в сутки внутривентрально в дозе 25 мг/кг. Животных выводили из эксперимента через 3, 5 и 7 суток. Умерщвление животных проводили передозировкой золетила («Virbac Sante Animale», Франция), вводимого внутримышечно в дозе 50 мг/кг. Выделенный сосудистый ствол фиксировали в 10% растворе нейтрального забуференного формалина (фосфатный буфер,  $pH=7,2-7,4$ ), обезжизняли в серии этанолов и заливали в парафин. Изготавливали тотальные серии срезов (10 мкм), которые окрашивали гематоксилином и эозином («Biovitrum», Россия). Гистологические срезы также окрашивали пикрофуксином по Ван Гизону и по методу Маллори по общепринятой методике. Морфологическое исследование проводили с помощью микроскопа *Leica DMI 4000 B* с видеозахватом камерой *Leica*. Для проведения трансмиссионной электронной микроскопии, использовали трансмиссионный электронный микроскоп «*Libra 120*» с автоматическим сканированием изображений («*Carl Zeiss*», Германия).

**Результаты и их обсуждение.** На 3-е сутки от начала опыта, морфологическая и ультраструктурная картина была практически однотипной. При световой микроскопии препаратов отмечалось наличие дистрофических и некробиотических изменений в стенке сосуда, выраженный интерстициальный отек, сглаживание эндотелиальной выстилки, истончение эндотелия, сморщивание эндотелиоцитов, а во многих местах, и полное отсутствие эндотелиальной выстилки в просвете сосуда. В субэндотелиальном слое наблюдается набухание волокон, интерстициальный отек, стертость внутренней эластической мембраны, ее базофилия, сегментация эластических волокон.

При ультраструктурной оценке отмечается наличие дистрофических и деструктивных изменений органелл. Ядра эндотелиоцитов имели фестончатый вид. Ядерная мембрана образовывала глубокие инвагинации, теряла четко контурированную структуру, была разрыхлена. Перинуклеарные пространства неравномерно расширены. Ядерный хроматин находился преимущественно в конденсированном состоянии. Его осмиофильные глыбки плотным кольцом концентрировались вдоль ядерной мембраны. Центральная часть матрикса ядра содержала гранулы деконденсированного хроматина и обладала низкой электронной плотностью. Цитоплазма в перинуклеарной области имела более высокую электронную плотность, в ней присутствовало небольшое количество деструктивно измененных органелл.

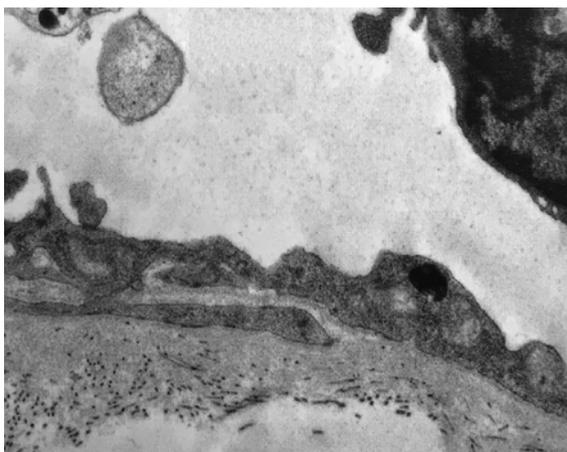
Митохондрии эндотелиоцитов обладали средней электронной плотностью и гомогенным матриксом. Кристы значительного числа митохондрий не выявлялись. Отдельные митохондрии содержали тотально лизированные кристы и грубо-волоконистый матрикс. Наружные мембраны имели очаги деструкции. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикула были сильно расширены и представляли собой электронно-прозрачные вакуоли. На мембранах практически отсутствовали рибосомы, а в цитоплазме выявлялось большое количество рибосом и полисом. Гиалоплазма эндотелиоцитов была умеренно просветлена. Наблюдался очаговый лизис мембран гранулярной эндоплазматической сети. Пластический цитоплазматический комплекс Гольджи был подвержен редукции и представлен отдельно лежащими

ми, беспорядочно ориентированными гладкими мембранами, вблизи которых располагались крупные электронно-прозрачные вакуоли, первичные и вторичные лизосомы, а также включения липидов.

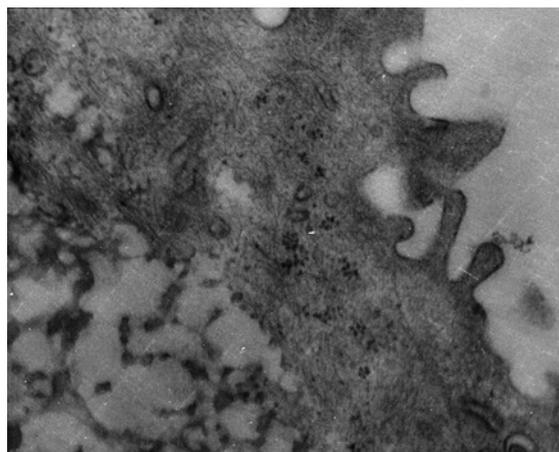
Таким образом, к 3-м стукам происходит наличие выраженных глубоких дистрофических изменений, затрагивающих все структурные элементы сосудов, в особенности эндотелий, что запускает стойкий процесс его дисфункциональных изменений.

На 5- и 7-е стуки морфологическая и ультраструктурная картина была однотипной, но отличалась от таковой в период 3-х суток. При световой микроскопии отмечено, что претерпевают изменения все слои сосуда, от интимы, до адвентиции. Интима рельефная, резко утолщена, за счет отека, с выраженными дистрофическими изменениями и наличием разволокнения волоконного каркаса, что создает наличие оптически пустых ячеек, признаки плазморрагии. Эндотелий неравномерно расположенный, с набуханием отдельных клеток. Внутренняя эластическая мембрана неравномерно утолщена, с наличием глубоких складок и фрагментацией. Средняя оболочка и адвентиция с явлениями мозаичной пикрино и фуксинофилии, эластический компонент фрагментирован, с набуханием волокон и нередкими фигурами деформации волоконного каркаса. Адвентиция, преимущественно вокруг собственных сосудов очагово гипертрофированна, с наличием лимфоплазмочитарной инфильтрацией, с примесью эозинофилов, преимущественно вокруг собственных сосудов.

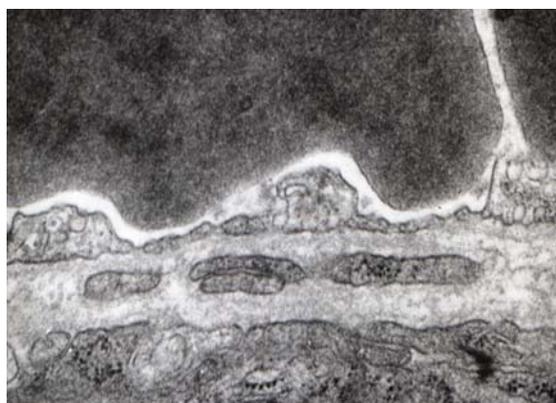
На 7-е сутки в адвентиции изменения более выражены. Хотя, эндотелий утолщен, на многих участках слущен, субэндотелиальный слой набухший, стертость внутренней эластической мембраны, ее базофилия, сегментация эластических волокон. В адвентиции определяется полнокровие и кровенаполнение капилляров адвентиции и гиперхромазия эндотелия капилляров, в некоторых сосудах адвентиции лейкостазы и эритродиapedез. Основное вещество адвентиции и средней оболочки с базофилией, сегментарными разрывами коллагеновых фибрилл, формированием концентрических структур. При ультраструктурном исследовании отмечается эндотелиоциты с тотальной деструкцией всех внутриклеточных органелл и мембранных структур (рис. 1, 2).



*Рис. 1.* Эндотелиоциты с тотальной деструкцией всех внутриклеточных органелл и мембранных структур



*Рис. 2.* Участки разрушения базальной мембраны и формирование цитоплазматических выростов



*Рис. 3.* Отек и гипертрофия эндотелиальных клеток, деструкция митохондрий, расширение и отек перикапиллярного пространства

Ядра таких клеток были пикнотичны и обладали высокой электронной плотностью. Базальная мембрана имела неравномерную толщину и среднюю электронную плотность. В структуре базальной мембраны выявлялись вакуолеподобные образования, не ограниченные мембраной. Кроме того, обнаруживались участки разрушения базальной мембраны, хроматина, расположенными вблизи ядерной мембраны (рис. 3).

В центральной области матрикса ядра находилась электронно-прозрачная субстанция с включениями единичных гранул деконденсированного хроматина. Ядерная мембрана была разрыхленной, со множественными очагами лизиса. В перинуклеарной области цитоплазмы эндотелиоцитов располагались деструктивно измененные митохондрии. Наблюдался тотальный лизис крист и наружных мембран. Гранулярный эндоплазматический ретикулум был подвержен фрагментации. Рибосомы, как свободно лежащие в цитоплазме, так и связанные с мембранами гранулярного эндоплазматического ретикулума, практически отсутствовали. Редукция пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи сопровождалась разрыхлением и лизисом его мембран.

**Заключение.** Таким образом, при исследовании ультраструктуры сосудистой стенки обнаружены адаптивные и патологические изменения эндотелиальных клеток. К адаптивно-компенсаторным процессам относились набухание и деструкция отдельных митохондрий, увеличение ядерной поверхности эндотелиоцитов. Патологические изменения эндотелиоцитов проявлялись отеком и гипертрофией эндотелиальных клеток, деструкцией митохондрий, расширением и отеком перикапиллярного пространства, что является морфологическим эквивалентом функциональных (обратимых) изменений окружающих тканей. Нарушения ультраструктуры кровеносных сосудов состоит в повреждении эндотелиальных клеток, отеке перикапиллярного пространства, разрыхлении и нарушении целостности базальной мембраны кровеносных капилляров. Ведущим звеном в развитии патологии сосудов на ультраструктурном уровне является митохондриальная недостаточность эндотелиоцитов, структурно проявляющаяся лизисом наружных мембран и крипт этих органелл, что влечет за собой дефицит биоэнергетического обеспечения внутриклеточных синтетических реакций и репаративных процессов.

### Литература

1. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Мнихович М.В., Кактурский Л.В., Левитин А.В., Исаков С.А. Особенности морфологической картины в зоне сосудистого анастомоза в различные сроки после реконструктивных операций на артериях нижних конечностей // Морфологические ведомости. 2013. № 1. С. 21–27.
2. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Никифоров А.А., Пшенников А.С. Динамика некоторых биохимических показателей у больных с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей в различные сроки после реконструктивных операций // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. 2012. № 1. С. 41–44.
3. Киричук В.Ф., Глыбочко П.В., Пономарева А.И. Дисфункция эндотелия. Саратов: Изд-во Саратовского мед.ун-та, 2008. 129 с.
4. Клиническая ангиология: Руководство / под ред. Покровского А.В. В двух томах. М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2004. 1400 с.
5. Коробойникова Э.Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. 1989. № 7. С. 8–9.
6. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы при заболевании сердечно-сосудистой системы // Кардиология. 2000. № 7. С. 48–61.
7. Новиков А.Н. Возможные механизмы эндотелиотропных эффектов микронизированной очищенной фракции флавоноидов // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2013. № 3. С. 86–91.
8. Napoli C., Ignarro L.J. Nitric oxide and atherosclerosis // Nitric Oxid. 2001. Vol. 5. P. 88–97.
9. Palmer R.M.J., Ferrige A.G., Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor // Nature. 1987. Vol. 327. P. 534–536.

### References

1. Kalinin RE, Suchkov IA, Mnihovich MV, Kakturskij LV, Levitin AV, Isakov SA. Osobennosti morfologicheskoy kartiny v zone sosudistogo anastomoza v razlichnye sroki posle rekonstruktivnyh operacij na arteriyah nizhnih konechnostej [peculiarities of morphological patterns in the area of vascular anastomosis in various periods after reconstructive operations for arteries of lower extremities]. Morfologicheskie vedomosti. 2013;1:21-7. Russian.
2. Kalinin RE, Suchkov IA, Nikiforov AA, Pshennikov AS. Dinamika nekotoryh biohimi-cheskikh pokazatelej u bol'nyh s obliteriruyushchim aterosklerozom arterij nizhnih konechnostej v razlichnye sroki posle rekonstruktivnyh operacij [Dynamics of some biochemical analysis display-ical parameters in patients with oblite-

rating atherosclerosis of lower limb arteries at different times after reconstructive surgery]. Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik im. akad. IP. Pavlova. 2012;1:41-4. Russian.

3. Kirichuk VF, Glybochko PV, Ponomareva AI. Disfunkcija ehndoteliya [endothelial Dysfunction]. Saratov: Izd-vo Saratovskogo med.un-ta; 2008. Russian.

4. Klinicheskaya angiologiya: Rukovodstvo [Clinical angiology: Manual]. Pod red. Pokrovskogo AV. V dvuh tomah. Moscow: OAO «Izdatel'stvo «Medicina»; 2004. Russian.

5. Korobojnikova EHN. Modifikaciya opredeleniya produktov POL v reakcii s tiobarbi-turovoj kislotoj [Modification of the definitions of LPO products in the reaction with Tobari-Turova acid]. Lab. delo. 1989;7:8-9. Russian.

6. Lankin VZ, Tihaze AK, Belenkov YUN. Svobodnoradikal'nye processy pri zabolevanii serdechno-sosudistoj sistemy [Free radical processes in the disease of the cardiovascular system]. Kardiologiya. 2000;7:48-61. Russian.

7. Novikov AN. Vozможные механизмы ehndoteliotropnyh ehffektov mikronizirovannoj ochi-shchennoj frakcii flavonoidov [Possible mechanisms endotheliotropic effects micronized the eyes of the whelping flavonoid fraction]. Nauka molodyh (Eruditio Juvenium). 2013;3:86-91. Russian.

8. Napoli C, Ignarro LJ. Nitric oxide and atherosclerosis. Nitric Oxid. 2001;5:88-97.

9. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature. 1987;327:534-6.

---

**Библиографическая ссылка:**

Шилов А.В., Мнихович М.В., Калинин Р.Е., Кактурский Л.В., Сучков И.А., Рудницкий С.В., Машковцев О.В., Казанцева Г.П. Адаптационные и патологические изменения эндотелия при *L-name*-индуцированной дисфункции в эксперименте // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2018. №4. Публикация 3-19. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-4/3-19.pdf> (дата обращения: 18.07.2018). DOI: 10.24411/2075-4094-2018-16139.\*

\* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-4/e2018-4.pdf>