

УДК 591.31;611.08.62;611.16;612.13.135

КРОВЕНОСНОЕ РУСЛО В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ КУР ВО ВТОРОЙ ПОЛОВИНЕ ЭМБРИОГЕНЕЗА: ФОРМА, КРОВОТОК И СОСУДИСТАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

© 2009 г. В. М. Беличенко, К. А. Шошенко

ГУ НИИ физиологии СО РАМН

630117 Новосибирск, ул. Академика Тимакова, д. 4

E-mail: shoshenko@physiol.ru

Поступила в редакцию 13.12.07 г.

Окончательный вариант получен 08.07.08 г.

Морфометрически показано, что в период 10–19 сут эмбриогенеза в скелетных мышцах кур происходит смена форм капиллярного русла – от эмбрионального, с трехмерной сетью широких и длинных сосудов-протокапилляров, к “зрелому”, с большей плотностью тонких коротких капилляров, лежащих вдоль волокон. При этом объемная скорость кровотока и просвет капиллярного русла в 1 см³ мышцы сохраняются, а объем крови в нем значительно падает. Реакция мышечного кровотока на нитропруссид (повышение) и норадреналин (снижение) появляется у 19-суточных эмбрионов, но развивается она только в условиях исходно низкого или высокого кровотока соответственно. Предполагается, что при формировании внутриорганный русла – сначала эмбрионального, затем “зрелого” – сохраняется неизменным соотношение просветов артериальной магистральной и всех органных капилляров, обеспечивающее необходимую линейную скорость кровотока в капилляре.

Ключевые слова: скелетные мышцы, капилляры, кровотока, сосудистая реактивность, куры, эмбриогенез.

Интерес к птичьим эмбрионам как к удобной модели для изучения этапов морфофункционального развития сердечно-сосудистой системы обусловлен доступностью ее для наблюдений (в отличие от плацентарных животных) и возможностью изучать развитие вне влияния материнского организма как процесс, определяемый только генетической программой данного вида (Ruijtenbeek et al., 2002; Ferguson et al., 2005). Первоначально исследования эмбриогенеза кровеносных сосудов касались происхождения сосудистых компонентов и влияния на их генез различных гуморальных, прежде всего генетически обусловленных, факторов, поэтому неслучайно значительная часть информации была получена в опытах *in vitro* (Cines et al., 1998). В последние годы появился интерес к изучению механизмов образования сосудистых ансамблей, специализации сосудов на артерии, вены и капилляры и становления органоспецифических русел (Beck, D’Amore, 1997; Davis et al., 2002; Ferguson et al., 2005).

Многочисленные, в основном морфологические, исследования показывают, что кровеносная система в тканях эмбриона, будучи преимущественно продуктом васкулогенеза, имеет форму сети. Обнаружено, что первые сети кровеносных сосудов появляются вне тела эмбриона – в желточной оболочке, средний диаметр самого тонко-

го сосуда (протокапилляра) у 4–6-суточного куриного эмбриона составляет 23 мкм, а скорость кровотока в нем – 190 мкм/с (Baumann, Meuer, 1992). Однако и в тканях самого эмбриона ранних стадий развития еще до начала в них кровотока также возникают сети; больше того, происходит дифференцировка их на участки с разными по диаметру сосудами и ячейками (LaRue et al., 2003). Исследователи полагают, что сеть с тонкими сосудами и большими ячейками (для тканей 1.5-суточного эмбриона перепелки средние диаметры сосуда и ячейки составляют 16 и 89 мкм соответственно) становится родоначальницей обменных капиллярных сосудов, а участки с плотно упакованными широкими сосудами (диаметром 66 и 25 мкм) преобразуются в артерии и вены. К сожалению, каких-либо описаний, тем более количественных, последующего изменения формы кровеносного русла в развивающихся органах, в том числе и в скелетных мышцах, нам найти не удалось.

Первые исследования реактивности эмбриональной сердечно-сосудистой системы проводились на сердце. Было, например, показано, что уже у 4-суточного куриного эмбриона сокращения сердца ускоряются при воздействии норадреналина (НА) (Girard, 1973; Le Noble et al., 2000). Затем последовало изучение сосудистых реакций

у эмбрионов при кратковременной гипоксии. Обнаружено (Mulder et al., 1998), что типичное для такого воздействия межорганное перераспределение сердечного выброса, приводящее к централизации кровотока, начинает проявляться у кур с середины второй половины эмбриогенеза и хорошо выражено только у 19-суточных эмбрионов. К этому времени, как полагают, в аорте и сонных артериях созревают хеморецепторы (Hu, Clark, 1989), во внеорганных артериях появляются выраженные реакции на вазоактивные вещества, а в их стенке созревает и увеличивается мышечный слой (Le Noble et al., 2000). О возникновении и развитии сократительной способности внутриорганных сосудов во время эмбриогенеза нам ничего не известно.

Отсутствуют также литературные данные и о величинах органного кровотока во время эмбриогенеза. Известно лишь, что у 2-6-суточных куриных эмбрионов (Hu, Clark, 1989) с возрастом учащался пульс со 103 до 208 ударов в минуту, скорость кровотока в аорте повышалась от 0.9 до 15 мм/с, а ее диаметр увеличился со 112 до 450 мкм. Рост рассчитанного сердечного выброса сначала был больше увеличения массы снабжаемых кровью тканей, затем пропорционально ей и у 6-суточного эмбриона составлял 14 мл/(мин × 100 г массы эмбриона с оболочками) или 54 мл/(мин × 100 г массы только эмбриона). Одновременно росло системное артериальное давление, среднее его значение в аорте 2-суточного эмбриона составляло 0.3, а у 6-суточного – 1.5 мм рт. ст.

Ранее мы наблюдали, что в скелетных мышцах кур во второй половине эмбриогенеза форма и размер капиллярного русла существенно меняются. При этом объемная скорость мышечного кровотока (отнесенная к единице их массы) остается неизменной (Беличенко и др., 2004). В настоящей работе эти особенности исследованы более подробно. Кроме того, сделана попытка определить сроки появления реакций внутримышечных сосудов на воздействие вазоактивных веществ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа проведена на двух скелетных мышцах (Ogata, 1988) – грудной (белой гликолитической) и икроножной (преимущественно красной оксидативной) – куриных эмбрионов (линия Шавер, производство ГППЗ “Новосибирский”). Возраст эмбрионов составлял 9–11 и 18–20 сут (в дальнейшем мы называем их 10- и 19-суточными), масса тела (без внезародышевых оболочек) 1.5–3.7 и 17–30 г соответственно.

Для морфометрии капиллярного русла сосуды заполняли желатиной, окрашенной тушью. Эту процедуру проводили посмертно через катетеры, введенные в подключичные артерии и в каудаль-

ную часть дорсальной аорты, после чего эмбрион фиксировали в 5%-ном формалине. Измерение диаметра и длины капилляров вели на срезах мышц толщиной около 100 мкм, изготовленных на микротоме в криостате и просветленных в глицерине. В работе использовали микроскоп МБИ-15 с окулярной линейкой и ценой деления от 0.8 до 7 мкм.

Мышечный кровоток измеряли с помощью лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛАКК-01 (НПП “Лазма”, Россия), используя игольчатый зонд с наружным диаметром 1.1 мм. Этот прибор оценивает скорость перфузии ткани в перфузионных единицах (пф. ед.), которая пропорциональна объемной скорости кровотока в мл крови/(мин × мм³ ткани). Эту величину далее называем “удельным кровотоком”. Методические подробности таких измерений на скелетных мышцах описаны ранее (Беличенко и др., 2007).

Первичную подготовку мышц к измерению кровотока проводили в помещении с дополнительным подогревом эмбриона настольной лампой. Яйцо из лабораторного инкубатора, где развивался эмбрион, помещали на специальную подставку, после этого аккуратно удаляли скорлупу и подскорлупную оболочку в области воздушной камеры и разрезали хориоаллантоис в местах отсутствия крупных сосудов, предотвращая геморагии каутером. В тело эмбриона вводили 0.2 мл раствора уретана из расчета 4 и 40 мг на 10- и 19-суточный эмбрион соответственно. Затем, поворачивая эмбрион, через отверстия в хориоаллантоисе выводили конечность (лапу или крыло) и фиксировали ее лейкопластырем на скорлупе так, чтобы нужная мышца была в поле зрения, и удаляли с нее покровные ткани. Эмбрион на подставке переносили в камеру с температурой в пределах 30–38°C и повышенной влажностью, для чего на дно камеры помещали широкую ювенту с водой. Мышцу располагали наиболее плоско по отношению к торцу лазерного зонда и устанавливали его на высоту около 0.8–1 мм. Вокруг исследуемого участка мышцы под зондом укладывали тонкую хлопковую нить, на которую по ходу опыта наносили растворы с вазоактивными веществами. Присутствие нити обеспечивало медленное распространение раствора в мышцу и предотвращало изменение ее отражательной способности из-за появления дополнительного слоя жидкости под зондом. Использовали растворы 1%-ного НА и 0.4%-ного нитропруссиды натрия (НП). При объеме капли 5 мкл наносимые на поверхность мышцы концентрации НА и НП составляли соответственно 50 и 20 мкг.

Опыт начинали с измерения исходного кровотока через 30–50 мин после помещения эмбриона в камеру. Затем на каждую мышцу воздействовали два-три раза названными веществами, чередуя

Таблица 1. Параметры капиллярного русла в скелетных мышцах 10-суточного куриного эмбриона

Параметр, мкм	Икроножная мышца			Грудная мышца		
	поперек	вдоль	в целом	поперек	вдоль	в целом
$D_{я}$	39 ± 5.4 (8)	40 ± 1.4 (30)	40 ± 2.7 (38)	56 ± 6.7 (20)	49 ± 2.6^2 (47)	51 ± 2.7^3 (67)
$D_{к}$	16 ± 1.3 (10)	13 ± 1.2 (22)	14 ± 1.0 (32)	28 ± 2.9^1 (26)	17 ± 1.0^2 (47)	21 ± 1.4^3 (73)
$L_{к}$	683 ± 51^1 (3)	789 ± 28 (16)	777 ± 26 (19)	1130 ± 115^2 (11)	895 ± 97 (17)	989 ± 76^3 (28)

Примечания. $D_{к}$, $D_{я}$ – внутренние диаметры ячейки и капилляра в сети, $L_{к}$ – длина капилляра, равная расстоянию по прямой от его начала до конца, умноженному на $\pi/2$. В скобках – число измеренных сосудов на поперечных и продольных срезах мышц. Приводится различие показателей, $p \leq 0.05$ между: ¹ срезами в каждой мышце, ² однотипными срезами в разных мышцах, ³ мышцами в целом.

их и измеряя исходный кровоток перед каждым воздействием. Оценку начинали примерно через 1 мин после воздействия; измерение кровотока длилось 2–3 мин. При отсутствии ожидаемой реакции наносили вторую каплю испытуемого вещества. Опыт на одном эмбрионе продолжался 1.5–2 ч. У одного эмбриона, как правило, исследовали одну мышцу, однако при условии хорошего наркоза и высокого кровотока удавалось исследовать обе мышцы, грудную и икроножную.

Во время измерения кровотока мы вынуждены открывали камеру, и температура в ней снижалась. Ниже приводятся данные о величине кровотока (пф. ед. с фоном) икроножной мышцы 10- и 19-суточных эмбрионов, из которых видно, что такое кратковременное снижение температуры даже у 10-суточных эмбрионов незначительно сказывается на величине кровотока.

Масса, г (длительность измерения, мин)	Температура, °С						
	36	35	34	33	32	31	30
2.2 (3.5)	26	26	25	26	21	21	–
3.4 (2.1)	18	16	16	16	16	17	17
28 (5.8)	23	21	19	18	17	15	20
25 (5.2)	31	32	27	22	21	32	32

Биологический фон измеряли в мышцах примерно через 1 ч после остановки сердца. Его величина достоверно не различалась в разных опытах и между мышцами и равнялась 4 ± 0.1 пф. ед. (изучено 26 мышц). Эту величину вычитали из полученных показателей кровотока, ее нет в приводимых ниже материалах.

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами с определением средней арифметической, ее ошибки ($M \pm m$) и коэффициента вариации, n – число опытов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из данных табл. 1 видно, что у 10-суточных эмбрионов ($n = 3$) параметры капиллярного русла на поперечных и продольных срезах мышц значительно не различаются; лишь капилляры, расположенные вдоль мышечных пучков, несколько шире поперечных. Это свидетельствует о трехмерном строении капиллярного русла. В икроножной мышце находятся более тонкие и короткие капилляры и ячейки меньшего диаметра. В обеих мышцах внутренний диаметр ячейки в 2–2.5 раза превышает диаметр капилляра, и по его длине от артериального до венозного конца в среднем располагается 9 ячеек.

Заметим, что уже в этом возрасте в мышцах эмбрионов встречаются более тонкие капилляры, отходящие от сетевого капилляра (или впадающие в него). Они погружаются в мышечную ткань, и поэтому измерить их длину невозможно. Диаметр такого капилляра не различается в разных мышечных срезах и разных мышцах и составляет 4.6 ± 0.02 мкм (изучен 101 капилляр).

Величины удельного кровотока в скелетных мышцах кур и крыс разного возраста даже в условиях наркоза весьма переменны (Беличенко и др., 2005, 2007). Ранее полученные данные (Беличенко и др., 2004) на грудной и икроножной мышцах ненаркотизированных 13–19-суточных куриных эмбрионов также показали значительные колебания кровотока с коэффициентом вариации до 70–90%. Мы проводили измерения кровотока на тех же мышцах наркотизированного эмбриона в самом начале и в течение опыта, перед воздействием НА или НП. Достоверных различий средних величин кровотока между ними не оказалось (табл. 2), не различаются и его коэффициенты вариации. Это означает, что в эмбриональных мышцах поддерживается определенный уровень удельного кровотока и величина его, измеренная в начале и по ходу опыта после прекращения наших воздействий, отражает этот уровень.

Результаты нашего опыта (табл. 2) подтверждают полученные ранее данные на 13–19-суточных эмбрионах (Беличенко и др., 2004): кровоток

Таблица 2. Удельная скорость кровотока в мышцах 10- и 19-суточных куриных эмбрионов, пф. ед.

Возраст, сут	Мышца			
	икроножная		грудная	
10	22 ± 2.0 (7) ¹	18 ± 1.4 (30) ²	25 ± 5.7 (6) ¹	27 ± 1.9 (27) ³
19	20 ± 3.7 (7) ¹	21 ± 1.9 (36) ²	24 ± 2.9 (6) ¹	25 ± 1.1 (57) ³

Примечание. В скобках указано число: ¹ эмбрионов, ² измерений исходного кровотока в начале опыта и ³ последующих измерений кровотока во время опыта.

Таблица 3. Изменение удельной скорости кровотока после воздействий вазоактивными веществами по сравнению с исходным уровнем в мышцах куриных эмбрионов

Мышца	Нитропруссид		Норадреналин	
	пф. ед.	%	пф. ед.	%
10-суточные эмбрионы				
Икроножная	12 ± 0.8	105 ± 12 (9)	13 ± 0.9	95 ± 5.5 (9)
	23 ± 1.5*	108 ± 9.2 (10)	24 ± 1.4*	88 ± 8.6 (9)
Грудная	21 ± 1.8	87 ± 6.7 (9)	16 ± 1.5	112 ± 15 (8)
	39 ± 1.7*	88 ± 6.9 (10)	38 ± 2.0*	90 ± 8.4 (8)
19-суточные эмбрионы				
Икроножная	14 ± 0.8	132 ± 14** (16)	19 ± 1.0	93 ± 16 (8)
	–	–	38 ± 2.5*	68 ± 13** (10)
Грудная	17 ± 1.0	159 ± 21** (10)	17 ± 0.7	108 ± 6.7 (7)
	24 ± 1.8*	103 ± 6.4 (11)	25 ± 1.6*	103 ± 14 (8)
	34 ± 1.6*	92 ± 9.7 (11)	37 ± 1.3*	77 ± 6.1** (9)

Примечание. В скобках – число воздействий. Различия достоверны, $p \leq 0.05$ для каждой мышцы: * между низким и высоким уровнями исходного кровотока, ** между уровнями его до и после воздействия. Число исследованных мышц и эмбрионов см. в табл. 2.

в обеих мышцах примерно одинаков ($p \leq 0.05$) и не меняется в течение всей второй половины эмбриогенеза, несмотря на резкое изменение формы капиллярного русла.

За этот период масса мышц увеличивается и в них растет общий кровоток в 5.9 и 4.1 раза у 10- и 19-суточных эмбрионов со средней массой 3.7 и 24.2 г соответственно.

Мышцы	Масса (мг) в возрасте,		Кровоток (пф. ед. ×	
	10	19	10	19
Икроножная	35 ± 0.4	201 ± 12	700	4120
Грудная	56 ± 4.4	241 ± 12	1456	5904

К концу эмбриогенеза в органном русле скелетных мышц наблюдается одно интересное явление: сосуды начинают адекватно реагировать на вазоактивные вещества, вызывающие у зрелых теплокровных (McCurdy et al., 2000; Muller-

Delp et al., 2001) расширение или сужение их просвета (табл. 3; рис. 1).

У 10-суточных эмбрионов нанесение на мышцу растворов с НП или НА достоверных изменений кровотока определенной направленности не вызывает. Наблюдаются лишь его колебания, возможно, обусловленные как временными изменениями гемодинамики, так и методическими погрешностями опыта. Они могут быть вызваны также движениями эмбриона, в свою очередь приводящими к изменениям отражательной поверхности мышцы или расстояния ее от зонда.

У 19-суточных эмбрионов наблюдается достоверное повышение удельного кровотока при действии НП (на 32 и 59%) в икроножной и грудной мышцах и его снижение в тех же мышцах при действии НА (на 23 и 32%). Однако такая сосудистая реакция на НП наблюдается лишь при низком кровотоке (в наших опытах – до 18 пф. ед.), а реакция на НА, наоборот, только при высоком кровотоке (30–45 пф. ед.). В остальных случаях изменения кровотока остаются неопределенными, не-

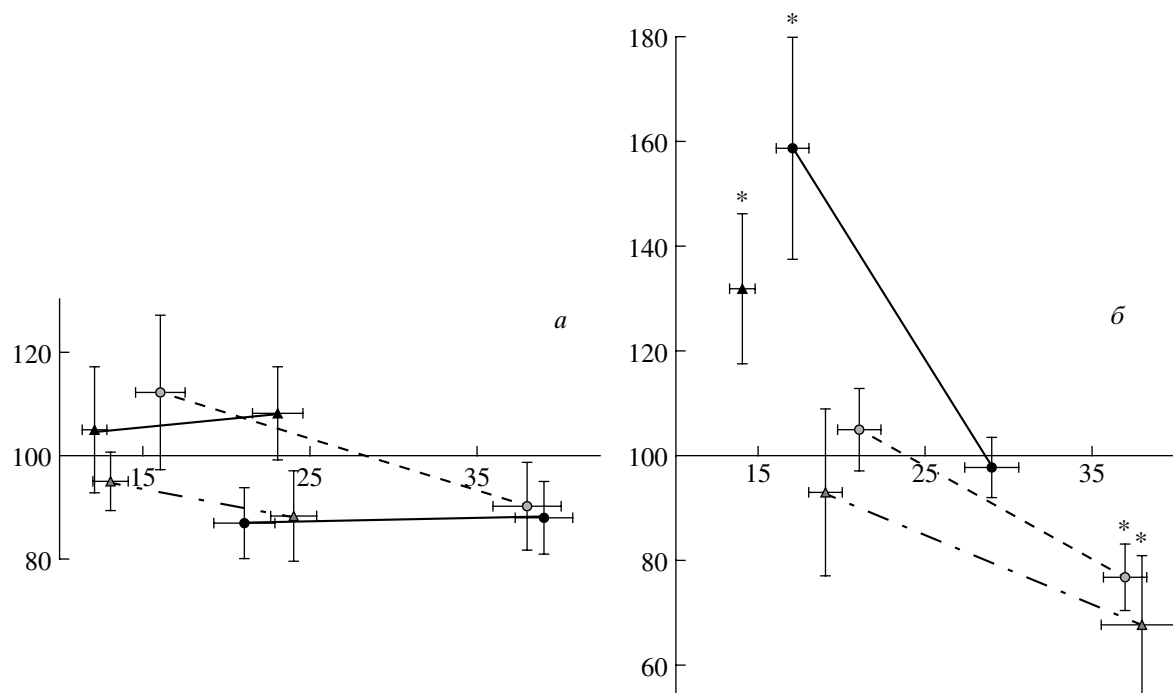


Рис. 1. Удельная скорость кровотока (исходная принята за 100%) (по оси абсцисс – пф. ед.; по оси ординат – %) в грудной и икроножной мышцах 10- (а) и 19-суточных (б) куриных эмбрионов после воздействий: нитропруссидом на икроножную (▲) и грудную (●) мышцы, а также норадренилином на икроножную (▲) и грудную (○) мышцы соответственно (табл. 3). * Различия достоверны по сравнению с исходным уровнем, $p \leq 0.05$.

достоверными и при усреднении данных свидетельствуют об отсутствии эффекта.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты наших исследований иллюстрируют два интересных явления в скелетных мышцах развивающихся эмбрионов кур. Первое – резкое изменение формы кровеносного (капиллярного) русла во второй половине эмбриогенеза (рис. 2), которое происходит на фоне неизменной величины удельной скорости кровотока. Второе – появление к концу эмбриогенеза адекватных реакций

кровеносных сосудов на воздействие вазоактивных веществ. Оба явления, по-видимому, связаны, и механизмы их возникновения необходимо обсудить.

В результате капиллярного метаморфоза к моменту вылупления цыпленка из яйца в мышцах появляется “зрелая” система капилляров, форма которой в дальнейшем меняется лишь количественно: увеличивается длина капилляров, падает их плотность, но при этом снижается удельная скорость кровотока (Беличенко и др., 2005). Для сравнения параметров эмбрионального и “зрелого” капиллярных русел проведем расчеты (табл. 4), ис-

Таблица 4. Параметры капиллярного русла в мышцах куриных эмбрионов и кур (расчетные данные)

Параметр*	Эмбрион, 10 сут		Эмбрион, 19 сут		Цыпленок, 10 сут		Курица, 180 сут	
	И	Г	И	Г	И	Г	И	Г
$10^5 \times N_k / \text{см}^3$	22	10	125	127	47	55	21	5.8
$S_k, \text{см}^2 / \text{см}^3$	3.4	3.5	3.1	4.0	1.2	0.9	0.9	0.2
$L_k, \text{мкм}$	777	989	154	176	215	290	318	630
Σ объем, %	26	31	4.8	7.0	2.6	2.6	2.9	1.3

Примечание. И, Г – икроножная и грудная мышцы соответственно; N_k – число капилляров; L_k – длина одного капилляра; S_k , Σ объем – суммарный просвет капилляров и их объем. Подробности расчетов см. в тексте.

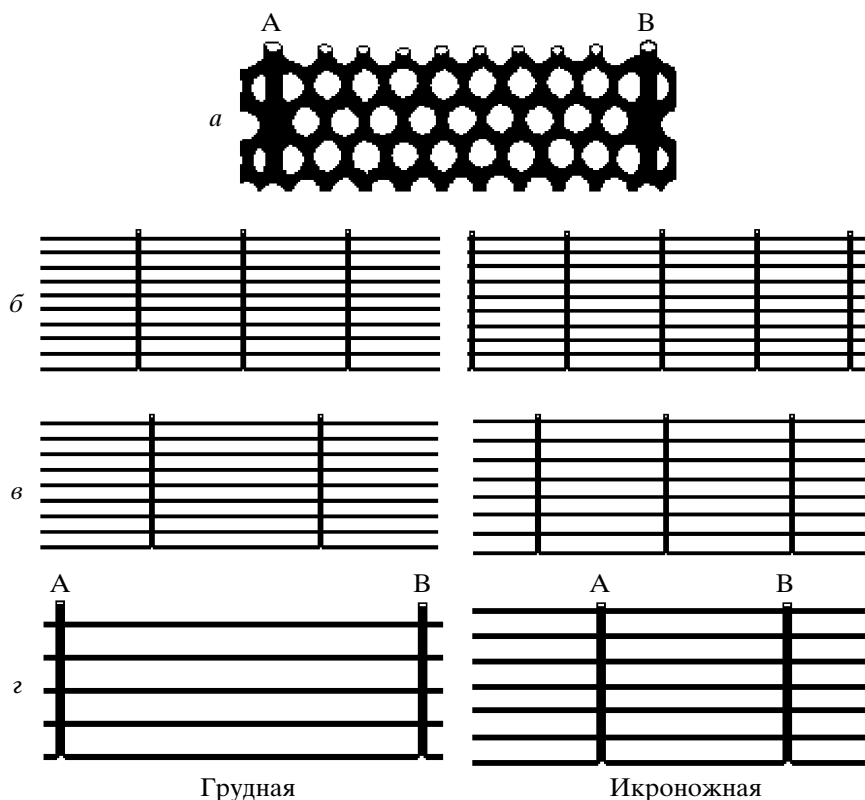


Рис. 2. Схема формы капиллярного русла в скелетных мышцах кур эмбрионального (*a* – 10, *б* – 19) и постэмбрионального (*в* – 10, *г* – 180) возраста, сут (табл. 1; Беличенко и др., 2005). А – артерия, В – вена. Масштаб: 100 мкм.

пользуя средние данные (табл. 1; Беличенко и др., 2005), а также две модели формы капиллярных русел (рис. 2). В мышцах 10-суточных эмбрионов форма русла представлена трехмерной сетью, в которой треть капилляров, соединяясь и образуя ячейки, лежит вдоль мышечных пучков, а две трети, также образуя ячейки, пересекают эти пучки в двух взаимно перпендикулярных направлениях. У 19-суточных эмбрионов и более взрослых птиц все капилляры, почти не анастомозируя между собой, проходят вдоль мышечных волокон.

Из данных табл. 4 видно, что в процессе метаморфоза капиллярного русла его суммарный просвет почти не меняется. Это означает, что при неизменной удельной скорости кровотока в мышцах в этот период (табл. 2) линейная скорость капиллярного кровотока будет сохраняться (разумеется, при одинаковой доли функционирующих капилляров).

При этом в более тонких капиллярах, несмотря на их меньшую длину, перепад кровяного гидравлического давления ΔP_k , будучи пропорциональным отношению L_k/D_k^2 (L_k , D_k – длина и диаметр капилляра), у поздних эмбрионов должен вырасти (если принять, что вязкость крови за этот период не меняется). За вторую половину эмбрио-

генеза он увеличивается в капиллярах икроножной мышцы на четверть – с 4.0 до 5.0 мкм^{-1} , а в капиллярах грудной – в два раза, с 2.2 до 4.4 мкм^{-1} . Необходимость такого прироста кровяного давления можно рассматривать как энергетическую “плату” за адресную доставку веществ, прежде всего кислорода, к мышечным волокнам. Кроме того, с ростом птицы и увеличением самих мышц длина кровеносных путей к ним растет, что также требует прироста системного артериального давления. Оно, действительно, повышается в процессе эмбриогенеза (Hu, Clark, 1989) и у 19-суточных куриных эмбрионов достигает уже 27 мм рт. ст. (Tazawa, 1981; Hu, Clark, 1989; Crossley, Altimiras, 2000).

Сетевая система капилляров, которая функционирует в мышцах кур в середине эмбриогенеза, несколько отличается от сосудистой сети, описанной в теле 1.5-суточного эмбриона перепелки (LaRue et al., 2003): диаметр ячейки у куриных эмбрионов существенно меньше. Наверное, у них увеличение в ткани плотности делящихся миобластов в сочетании с высокой потребностью их в кислороде (Baranov et al., 2000) сопровождается преобразованием первичной редкой сети протокапилляров в сеть более густую, способную обес-

печить кислородом нарастающую клеточную массу. При последующем слиянии миобластов в параллельно лежащие мышечные волокна, поперечник которых увеличивается, по-видимому, возникает необходимость в новом русле с капиллярами, способными обеспечить более адресную доставку кислорода, и такое русло появляется.

Специфическая для зрелого органа форма капиллярного русла – параллельно лежащие капилляры в скелетных мышцах, их сеть в дыхательных органах (легких, аллантоисе, жабрах), фильтрующие капилляры в почечных клубочках, самые короткие и тонкие капилляры в нервных структурах – также формируется из эмбриональных сетевых протокапилляров. Время появления “зрелого” русла в органе определяется его необходимостью для жизнедеятельности организма. Так, у 7-суточного эмбриона аллантоис (в будущем – дыхательный орган) имеет сосудистую сеть с широкими протокапиллярами и ячейками, средний диаметр которых 18 и 250 мкм соответственно. Но уже к 12-м сут в аллантоисе появляется дыхательная сеть с узкими капиллярами и мелкими ячейками (диаметр около 5 и 9 мкм соответственно) (Коростышевская и др., 2006). По своим параметрам такая система похожа на капиллярные сети дыхательных органов у зрелых животных (Шошенко, 1975). Заметим, что в то же самое время в скелетных мышцах эмбрионов функционирует сеть широких длинных капилляров, которая лишь в дальнейшем преобразуется в специфическое для мышц капиллярное русло.

О механизмах поддержания одинаковой и неизменной линейной скорости кровотока в капиллярах и удельной скорости в икроножной и грудной мышцах во время эмбрионального метаморфоза капиллярного русла можно говорить лишь предположительно. Возможно, таких механизмов два: один – центральный, обусловленный закономерностями развития сердца (его массы и производительности) и магистральных сосудов (их сечения и длины), второй – требованиями окислительного метаболизма органических клеток.

Сердце и выходящая из него вентральная аорта с ветвями сначала возникают и развиваются независимо от кровеносных русел в развивающихся органах (Рольник, 1968; Coffin, Pool, 1988; Torouzis, Majesky, 1996). Так же независимо возникает и развивается дорсальная аорта с ветвями, которая затем соединяется с вентральной. Похожий процесс происходит с центральными венами: возникают передние и задние кардинальные вены, которые впадают в желточные, образуя венозный синус, переходящий в однокамерное трубчатое сердце. Примерно на 3-и сут эмбриогенеза образуется первичная единая система центральных сосудов, соединенных с сердцем. Она продолжает развиваться (ветвиться, удлиняться), соеди-

няясь постепенно с сосудами, исходящими из органических русел, первое из которых расположено в желточном мешке. Первоначальную систему центральных артерий, еще не замкнутую через органические русла, условно можно считать открытой, где потоки крови в отходящих от нее магистралах определяются только их просветом и объемом сердечного выброса. Такая система может сохраняться у кур в некоторых органах, в частности в скелетных мышцах головы, до середины эмбриогенеза (Ruberte et al., 2003).

Одновременно в периферических эмбриональных органах также возникает механизм поддержания неизменными удельной скорости кровотока и линейной скорости кровотока в капиллярах. Он, наверное, тоже выработался исторически и проявляется в конструкции формирующегося органического русла, которая должна соответствовать двум обязательным требованиям: 1) время пребывания крови в капилляре (длина капилляра, деленная на линейную скорость кровотока в нем, L_k/V_k) должно быть достаточным для создания во внеклеточной среде напряжения O_2 (pO_2) не ниже критического уровня для клеток, но при этом 2) величина V_k не может быть ниже значения, после которого развивается капиллярный стаз (Фолков, 1978; Jaffee, 1966). Возможно, существует и третье конструктивное требование для органических капилляров – специфичное для разных органов постоянство отношения L_k/D_k^2 , которое влияет на ΔP_k .

К середине эмбриогенеза микроскопическая структура красных и белых скелетных мышц птиц еще неразличима (Ruberte et al., 2003). Отсутствует в них и большая разница в кислородном запросе (Baranov et al., 2000). Поэтому структурные параметры кровеносных русел, в том числе и капиллярных отделов, в грудной и икроножной мышцах в это время близки (табл. 1, 4), что обеспечивает им сходство сосудистых сопротивлений. Сходство скоростей кровотока в этих мышцах означает, что при соединении их русел с центральными сосудами действует механизм сохранения неизменным соотношения просветов артериальной магистрали и всех органических капилляров ($D_a^2/N_k D_k^2$): чем крупнее орган и чем больше в нем капилляров, тем более широкая артерия снабжает его кровью.

Дальнейший эмбриогенез сопровождается преобразованием мышцы: появляются плотно упакованные в пучки миофибриллы, увеличивающие свой размер по мере роста и, как следствие, требующие больше кислорода. Для них также необходима определенная величина pO_2 , но уже локально на поверхности каждого волокна (вокруг и вдоль него). Создать такое напряжение могут только тонкие, а не те широкие капилляры, ка-

кие описаны в табл. 1. Если в икроножной и грудной мышцах соотношение средних диаметров миообласта (или мышечного волокна) и капилляра составляет у 10-суточного эмбриона 1 : 2 и 1 : 4, то у 6-месячных кур оно равно 1 : 0.1 и 1 : 0.3 соответственно (Беличенко и др., 2005). Тонкие капилляры у зрелых птиц могут создать повышенное pO_2 преимущественно в капиллярном секторе волокна, свидетельством чему служит повышенная концентрация здесь митохондрий (Беличенко и др., 2005).

В капиллярах “зрелого” русла, пришедших на смену сетевым широким капиллярам, V_k остается неизменным. Это означает, что программа создания “зрелого” русла использует тот же механизм поддержания неизменным соотношения ($D_a^2/N_k D_k^2$), для чего плотность теперь уже узких капилляров в нем должна резко увеличиться (табл. 4). Однако время пребывания крови в капиллярах при этом снижается примерно в пять раз пропорционально укорочению их длины. Если для узкого капилляра этого времени достаточно для выхода должного количества кислорода из крови, то весь массоперенос его к мышцам может обеспечить в пять раз меньший объем крови. Действительно, объем крови в капиллярах у 19-суточного эмбриона в пять раз меньше, чем у 10-суточного (табл. 4). Заметим, что в мышцах в это время резко увеличивается объем, занимаемый мышечными клетками и волокнами, с 23–35 до 57–62% (Беличенко и др., 2005).

Замена широких длинных капилляров на большее число узких и коротких происходит в период, когда кислородная потребность изолированных мышечных элементов (в расчете на единицу их массы) почти не меняется (Baranov et al., 2000), поэтому она не является побудительной причиной такой замены, хотя способность к некоторым адаптивным изменениям у эмбрионального русла, наверное, есть. Так, у 10-суточного эмбриона в икроножной мышце, потребность которой в кислороде в полтора раза выше, чем в грудной (Baranov et al., 2000), капилляры короче и тоньше, а плотность их в два раза выше (табл. 1, 4).

Исследователи ранних стадий развития скелетных мышц отмечали независимое и опережающее развитие в них кровеносных структур – трубок и ячеек (Murray, Wilson, 1997; Ruberte et al., 2003). Наверное, появление в мышцах “зрелого” русла взамен эмбрионального также происходит заранее и независимо от процесса формирования мышечных волокон и, в частности, их кислородного запроса. Изначально оно избыточно и только позднее, через несколько суток после вылупления, капилляры начинают адаптироваться к возрастному снижению кислородного запроса: они удлиняются, а плотность их падает (Беличенко и др., 2005; табл. 4).

Когда система кровообращения полностью замкнута через органные капилляры, условия гемодинамики в органном русле (его сопротивление) начинают влиять на поток крови в магистральной артерии. Приведем ориентировочные расчеты для куриного эмбриона, основанные на опытных данных о просвете подключичной (п) и ягодичной (я) артерий (Беличенко и др., 2003), и возможной скорости кровотока, рассчитанной по величине сердечного выброса (Hu, Clark, 1989) и его долях, адресованных к этим артериям (Mulder et al., 1998).

Показатель	Возраст эмбриона, сут			
	10		19	
D , мкм	п 106	я 354	п 339	я 492
V , см/с	п 3.6	я 3.5	п 5.9	я 12.3
V/D , с ⁻¹	п 335	я 99	п 175	я 250

Расчеты показывают, что у 10-суточного эмбриона, кровеносная система которого еще не полностью закрыта или закрыта только недавно (Ruberte et al., 2003), скорости кровотока в очень разных по сечению и локализации артериях близки. При этом скорость сдвига (V/D) в подключичной артерии почти в 3.4 раза больше, чем в ягодичной. Считают, что величина V/D не только влияет на временное изменение просвета сосуда, но и может стимулировать его структурное изменение (Kurjaka, Segal, 1996). Действительно, позднее у 19-суточного эмбриона диаметр подключичной артерии с ее высокой величиной скорости сдвига существенно увеличивается по сравнению с таковым ягодичной. При этом величина V в ягодичной артерии значительно выше. В результате величины V/D в обеих артериях сближаются.

Можно представить, что возрастные изменения сопротивления органного русла (его просвет и протяженность от артерий до вен) адресно через величину V/D формируют просвет внеорганных артерий, приводя его к соответствию с суммарным просветом органных капилляров, что позволяет поддерживать в них необходимый уровень линейных скоростей кровотока.

Появление “зрелой” формы капиллярного русла должно сопровождаться модификацией артериального (и венозного) дерева с тем, чтобы его новая форма обеспечивала характерный для мышц артериовенозный профиль гемодинамики (Шошенко и др., 2004) и позволяла менять и перераспределять внутриорганный кровоток. Для этого в артериальных сосудах, в том числе в мелких внутриорганных, должны появиться мышечные структуры. Редкие незрелые гладкомышечные клетки замечены во внеорганных сосудах (безымянной и бедренной) у 14-суточных куриных эмбрионов (Беличенко и др., 2003). Способ-

ность этих сосудов активно изменять свой просвет при электрическом раздражении и воздействии вазоактивных веществ развивается у кур в последней четверти эмбриогенеза и отчетливо выражена перед вылуплением (Le Noble et al., 2000). К сожалению, данных о сроках появления мышечных клеток во внутриорганных сосудах эмбрионов нам найти не удалось. Предполагают, что они перемещаются туда из вышележащих более крупных стволов (Nicosia, Villaschi, 1995; Beck, D'Amore, 1997).

Наблюдаемая в наших опытах у 19-суточных эмбрионов адекватная реакция внутримышечных сосудов на НА и НП, характерная для зрелых особей (McCurdy et al., 2000), свидетельствует о существовании в сосудистой стенке мышечных клеток. Интересно, что эта реакция возникает только в условиях значительного отклонения удельной скорости кровотока от уровня, характерного для мышцы в покое (табл. 2). НА действует только в условиях высокого кровотока, когда, надо полагать, сосуды широко раскрыты, НП – при низком кровотоке, когда сосуды сужены. В том и другом случаях сосудистый просвет, по-видимому, возвращается в “норму”, и уровень кровотока, присущий мышце, восстанавливается. Механизм поддержания такого устойчивого уровня тканевого кровоснабжения остается пока неясным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Беличенко В.М., Коростышевская И.М., Шошенко К.А. К механизму изменения межорганного распределения кровотока у кур в онтогенезе // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2003. Т. 89. № 12. С. 1551–1559.
- Беличенко В.М., Григорьева Т.А., Коростышевская И.М., Шошенко К.А. Новые материалы к пониманию механизмов онтогенеза кровеносной системы теплокровных // Бюл. СО РАМН. 2004. Т. 112. № 2. С. 114–118.
- Беличенко В.М., Коростышевская И.М., Максимов В.Ф., Шошенко К.А. Развитие митохондриального аппарата и кровоснабжение скелетных мышечных волокон кур в онтогенезе // Онтогенез. 2005. Т. 36. № 2. С. 135–144.
- Беличенко В.М., Григорьева Т.А., Шошенко К.А. Скорость мышечного кровотока у крыс в онтогенезе, измеренная игольчатым зондом лазерного доплеровского флуометра “ЛАКК-01” // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2007. Т. 93. № 6. С. 655–660.
- Коростышевская И.М., Максимов В.Ф., Баранов В.И. Многофункциональная морфология хориоаллантоисной оболочки куриного эмбриона // Там же. 2006. Т. 92. № 7. С. 889–902.
- Рольник В.В. Биология эмбрионального развития птиц. Л.: Наука, 1968. 425 с.
- Фолков Б., Нил Э. Кровообращение. М.: Медицина, 1978. 464 с.
- Шошенко К.А. Кровеносные капилляры. Новосибирск: Наука, 1975. 375 с.
- Шошенко К.А., Носова М.Н., Коростышевская И.М. Кровеносное русло в скелетной мышце растущих крыс // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004. Т. 90. № 12. С. 1542–1554.
- Baranov V.I., Belichenko V.M., Shoshenko K.A. Oxygen diffusion coefficient in isolated chicken red and white skeletal muscle fibers in ontogenesis // Microvasc. Res. 2000. V. 60. P. 168–176.
- Baumann R., Meuer H.-J. Blood oxygen transport in the early avian embryo // Physiol. Rev. 1992. V. 72. P. 941–965.
- Beck L., D'Amore P.A. Vascular development: cellular and molecular regulation // FASEB J. 1997. V. 11. P. 365–373.
- Cines D.B., Pollak E.S., Buck C.A. et al. Endothelial cells in physiology and the pathophysiology of vascular disorders // Blood. 1998. V. 91. P. 3527–3561.
- Coffin J.D., Pool T.J. Embryonic vascular development: immunohistochemical identification of the origin and subsequent morphogenesis of the major vessel primordium in quail embryos // Development. 1988. V. 102. P. 735–748.
- Crossley H.D., Altimiras J. Ontogeny of cholinergic and adrenergic cardiovascular regulation in the domestic chicken (*Gallus gallus*) // Am. J. Physiol. 2000. V. 279. P. R1091–R1098.
- Davis G.E., Bayless K.J., Mavila A. Molecular basis of endothelial cell morphogenesis in three-dimensional extracellular matrices // Anat. Rec. 2002. V. 268. P. 252–275.
- Ferguson J.E., III, Kelley R.W., Patterson C. Mechanism of endothelial differentiation in embryonic vasculogenesis // Arterioscler. Thromb Vasc. Biol. 2005. V. 25. P. 2246–2254.
- Girard H. Adrenergic sensitivity of circulation in the chick embryo // Am. J. Physiol. 1973. V. 224. P. 461–469.
- Hu N., Clark E.B. Hemodynamics of the stage 12 to stage 29 chick embryo // Circ. Res. 1989. V. 65. P. 1665–1670.
- Jaffee O.C. Rheological aspects of development of blood flow patterns in the chick embryo heart // Biorheology. 1966. V. 3. P. 59–62.
- Kurjiaka D.T., Segal S.S. Autoregulation during pressor response elevates wall shear rate in arterioles // J. Appl. Physiol. 1996. V. 80. P. 598–604.
- LaRue A.C., Mironov V.A., Argraves W.S. et al. Patterning of embryonic blood vessels // Devel. Dyn. 2003. V. 228. P. 21–29.
- Le Noble F.A.C., Ruijtenbeek K., Gommers S. et al. Contractile and relaxing reactivity in carotid and femoral arteries of chicken embryos // Am. J. Physiol. 2000. V. 278. P. H1261–H1268.
- McCurdy M.R., Collieran P.N., Muller-Delp J., Delp M.D. Selected contribution: effects of fiber composition and hindlimb unloading on the vasodilator properties of skeletal muscle arterioles // J. Appl. Physiol. 2000. V. 89. P. 398–405.
- Mulder A.M., Van Golde J.C., Prinzer F.W., Blanco C.E. Cardiac output distribution in response to hypoxia in the embryo in the second of the incubation time // J. Physiol. (L.) 1998. V. 508. P. 281–287.
- Muller-Delp J., Spier S.A., Ramsey M.W. et al. Effects of aging on vasoconstrictor and mechanical properties of rat skel-

- etal muscle arterioles // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2001. V. 282. P. H1843–H1854.
- Murray B., Wilson D.J.* Muscle patterning, differentiation and vascularisation in the chick wing bud // *J. Anat.* 1997. V. 190. P. 261–273.
- Nicosia R.F., Villaschi S.* Rat aortic smooth muscle cells become pericytes during angiogenesis *in vitro* // *Lab. Invest.* 1995. V. 73. P. 658–666.
- Ogata N.* Morphological and cytochemical features of fiber types in vertebrate skeletal muscle // *Crit. Rev. Anat. Cell Biol.* 1988. V. 1. P. 229–275.
- Ruberte J., Carretero A., Navarro M. et al.* Morphogenesis of blood vessels in the head muscles of avian embryo: spatial, temporal, and VEGF expression analyses // *Devel. Dyn.* 2003. V. 227. P. 470–483.
- Ruijtenbeek K., De Mey J.G.R. et al.* The chicken embryo in developmental physiology of the cardiovascular system: a traditional model with new possibilities // *Am. J. Physiol.* 2002. V. 283. P. R549–R551.
- Tazawa H.* Measurement of blood pressure of chick embryo with an implanted needle catheter // *J. Appl. Physiol.* 1981. V. 51. P. 1023–1026.
- Topouzis S., Majesky M.W.* Smooth muscle lineage diversity in the chick embryo. Two types aortic smooth muscle cell differ in growth and receptor – mediated transcriptional responses to Transforming Growth Factor- β // *Devel. Biol.* 1996. V. 178. P. 430–445.

Circulatory System in Chicken Skeletal Muscle in the Second Half of Embryogenesis: Shape, Bloodstream, and Vascular Reactivity

V. M. Belichenko and K. A. Shoshenko

State-Research Institute of Physiology, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, ul. Akademika Timakova 4, Novosibirsk, 630117 Russia
e-mail: shoshenko@physiol.ru

Abstract—A restructuring of the capillary bed—from the embryonic structure with a three-dimensional network of wide and long protocapillaries to the mature structure with high density of thin and short capillaries along the fibers—has been demonstrated in the chick skeletal muscle on embryonic days 10–19 by morphometric analysis. In this case, the volumetric flow rate and capillary luminal area per cm^3 of the muscle remained unaltered, while the blood volume in it significantly dropped. The response of muscle circulation to nitroprusside (increase) and noradrenaline (decrease) appeared in 19-day-old embryos, but this response could develop only under conditions of initially low or high bloodstream, respectively. We propose that the arterial trunk lumen area to the total capillary lumen area remains constant as the intraorganic circulation is formed, which provides for the required linear blood velocity in capillaries.

Key words: skeletal muscle, capillaries, circulation, vascular reactivity, chick, embryogenesis.