

Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle

Транскапиллярный обмен жидкости и пересмотр принципа Старлинга

J.Rodney Levick & C.Charles Michel

Cardiovascular Research (2010)87,198–210 doi:10.1093/cvr/cvq062

* Corresponding author. Tel: +44 14818823452, Email: c.c.michel@imperial.ac.u

1Physiology, Basic Medical Sciences, St George's Hospital Medical School, London SW17 0RE, UK;
and 2Department of Bioengineering, Imperial College, Exhibition Road,

London SW7 2AZ, UK

Received 30 November 2009; revised 4 February 2010; accepted 18 February 2010; online publish-ahead-of-print 3 March 2010

Перевод Горячев А.С.

Сокращения и обозначения

nm – нм = 10^{-9} м – нанометр (миллимикрон) миллиардная часть метра или тысячная часть микрона
 μm – мкм, мк = 10^{-6} м – микрометр (микрон) миллионная часть метра или тысячная часть миллиметра

mM – миллимоль на литр

ISF – интерстициальная жидкость

КОД (COP) коллоидно осмотическое давление

σ коэффициент отражения Ставермана

Π_p – осмотическое давление плазмы

Π_i – осмотическое давление интерстиция

P_c – гидростатическое давление в капиллярах

P_i – гидростатическое давление в интерстиции

$J(v)$ (поток) транскапиллярный обмен жидкостью

L_p – проницаемость стенки капилляра для жидкости (hydraulic conductivity of the capillary wall)

$\sum \sigma_n \Delta \Pi_n$ – сумма различий в осмотическом давлении между плазмой и интерстицием

AVR – ascending vasa recta восходящая прямая вена (в почках)

A – единица площади эндотелия

J_s – скорость поступления растворенных веществ

C_i – концентрация белка плазмы в ISF,

Абстракт

Транскапиллярный обмен жидкостью (поток $J(v)$) лежит в основе баланса плазмы и интерстициальной жидкости (ISF) и отека тканей. Традиционная форма принципа Старлинга должна быть изменена в свете понимания роли давления ISF и признания гликокаликса полупроницаемым слоем эндотелия. Совокупность фактических данных и прямых наблюдений показывает, что реабсорбция жидкости в капилляры в большинстве тканей носит временный характер; а в стабильном состоянии (steady state) преобладает незначительная фильтрация, даже в венулах. Отчасти это объясняется обратной зависимостью между скоростью фильтрации и концентрацией белка в ISF; Коллоидно-осмотическое давление в ISF повышается при снижении $J(v)$. В некоторых специализированных тканях (например, в почках, слизистой оболочке кишечника) реабсорбция жидкости поддерживается местными механизмами, которые вымывают интерстициальные белки плазмы в лимфатическую систему. Низкая скорость фильтрации и лимфообразования в большинстве тканей может быть объяснена постоянными градиентами

содержания белков плазмы в межклеточной щели непрерывных капилляров (модель гликокаликса) и вокруг внутриклеточных транспортных каналов. Узкие промежутки в местах межклеточных соединений создают высокие локальные скорости вытекающей жидкости, которые вызывают нарушение равновесия между КОД (COP) субгликокаликсного пространства и КОД (COP) в интерстиции (ISF). Недавние эксперименты подтверждают, что влияние КОД (COP) в интерстиции (ISF) на J_v намного меньше, чем предсказывается традиционным принципом Старлинга, что согласуется с современными моделями. Используя модель двухпористой системы, мы также исследуем, как относительно небольшое увеличение количества крупных пор резко увеличивает J_v во время острого воспаления.

Keywords Starling principle, Glycocalyx, Fluid exchange

1. введение

Плазма, интерстициальная жидкость (ISF) и лимфатические сосуды взаимосвязаны, и в стабильном состоянии (steady state) жидкость непрерывно поступает из одного компартмента в другой. Лимфа возвращается в систему кровообращения, главным образом, через главные вены у основания шеи. Случайные лимфатические свищи на шее указывают на то, что общий лимфоток после удаления узлов у человека достигает 4 л/сут. (по Гайтону 2л) Более поздние исследования показали, что примерно половина жидкости, поступающей в лимфатические узлы, поглощается микрососудами лимфатических узлов, [1,2] что увеличивает циркуляцию жидкости до 8 л в день.[3] Это значительный объем циркуляции жидкости; поскольку объем плазмы крови человека составляет всего 3 л, весь объем плазмы (за исключением белков) покидает кровоток примерно раз в 9 ч. Значительное перемещение жидкости между плазмой и интерстицием приводит к быстрому отеку сильно воспаленных тканей (в течение нескольких минут), а также к отеку при венозном тромбозе, сердечной недостаточности, и лимфатической недостаточности в течение нескольких часов или дней. И наоборот, спонтанно формирующаяся гемодилюция после острого кровотечения свидетельствует о быстром всасывании интерстициальной жидкости (ISF) в кровоток (0,5 л за 15-30 минут). Быстрое перемещение жидкости из интерстиция в кровеносное русло важно с медицинской точки зрения, поскольку объем плазмы является основным фактором, определяющим давление наполнения сердца и, следовательно, сердечный выброс (закон Франка-Старлинга). Фундаментальный принцип, регулирующий такие перемещения жидкости между капилляром и интерстицием, был сформулирован Старлингом [4] в 1896 году. Исследование Старлинга [4] показало, что изотонический физиологический раствор, введенный в интерстициальный отдел задней конечности собаки, попал в венозную кровь, которая стала гемодилютированной; но при введении сыворотки, а не физиологического раствора, жидкость не всасывалась. Поэтому Старлинг предположил, что стенки капилляров (и посткапиллярных венул) представляют собой полупроницаемые мембраны. Следовательно, движение жидкости через стенки капилляров зависит от общего дисбаланса между осмотическим давлением всасывания белков плазмы [коллоидно-осмотическим давлением КОД (COP)] и гидравлическим давлением в капиллярах, создаваемым работой сердца. Старлинг также признал, что, поскольку ISF содержит белки плазмы, микрососудистая полупроницаемость является недостаточной; эндотелиальный барьер медленно «пропускает» белки плазмы в интерстиций. Степень утечки определенного растворенного вещества может быть выражена количественно с помощью коэффициента осмотического отражения Staverman [5] « σ » значение которого варьируется от 0 до 1; единица означает идеальное, 100%-ное отражение и, следовательно, отсутствие утечки указанного растворенного вещества. Для мембраны (проницаемой только для растворителя), разделяющей растворы одного и того же вещества в двух разных концентрациях, [5,6] следует, из принципов необратимости термодинамики что:

$$J_v/A = L_p\{\Delta P - \sigma\Delta\pi\}, \quad (1a)$$

где J_v - объемная скорость фильтрации на единицу площади эндотелия A , ΔP - разница в гидростатическом давлении, а $\Delta\pi$ - разница в осмотическом давлении на мембране. Плазма и ISF содержат много растворенных веществ (разновидностей 'n'). L_p - проницаемость стенки

капилляра для жидкости. Следовательно, для описания движения жидкости через промежуточную стенку капилляра уравнение (1a) следует записать в виде:

$$J_v/A = L_p\{\Delta P - \sum \sigma_n \Delta \pi_n\}, \quad (1b)$$

где $\sum \sigma_n \Delta \pi_n$ представляет собой сумму различий в осмотическом давлении, оказываемом на стенки сосуда всеми растворенными веществами в плазме и ISF. В уравнении (1b) ΔP представляет собой разницу между местным капиллярным кровяным давлением P_c (уменьшающимся с увеличением расстояния по оси) и гидростатическим давлением в ISF, $- P_i$. В большинстве капилляров только высокомолекулярные растворенные вещества (коллоиды) значительно отличаются по концентрациям между плазмой и интерстицием (ISF), а для кристаллоидов значение σ равно 0,1 или менее. В этих условиях J_v может быть приблизительно описана уравнением. (1a), где $\sigma \Delta \pi$ – это разница между эффективным осмотическим давлением, создаваемым макромолекулами КОД (COP) в плазме (π_p), и в ISF (π_i) (рис. 1A). Это приводит к общепринятому выражению

$$J_v/A = L_p\{(P_c - P_i) - \sigma(\pi_p - \pi_i)\}. \quad (1c)$$

Если σ имеет значение, близкое к 1,0, а P_i и π_i близки к нулю, как в экспериментальных исследованиях, уравнение (1c) суммирует классические наблюдения Landis [7], Pappenheimer и Soto-Rivera [8], исследования которых, как правило, рассматриваются как подтверждающие гипотезу Старлинга. Путем измерения, преобладающего P_c путем прямой микропункции в отдельных капиллярах брыжейки лягушки и оценки соответствующих скоростей фильтрации и реабсорбции с помощью оценки изменения концентрации эритроцитов Landis смог продемонстрировать линейную зависимость между J_v и P_c для группы сосудов. Используя изолированные перфузированные задние конечности кошек и собак, Pappenheimer и Soto-Rivera оценили среднее значение P_c в тканях по артериальному и венозному давлению и сосудистому сопротивлению. Они смогли изменять среднее значение P_c и продемонстрировали линейную корреляцию со скоростью фильтрации/реабсорбции жидкости, оцениваемой по изменению веса конечностей. Landis [9] также показал, используя микропипетки, введенные в капилляры кожи в складке ногтя человека на уровне сердца, что кровяное давление в капиллярах падает с 45-35 mmHg на артериальном конце до $\geq 12-15$ mmHg на веноулярном конце (в зависимости от температуры кожи [10,11]). Это подтвердило простую картину симметрии обмена жидкостью, впервые предложенную Старлингом. [12]. Картина такова, что, поскольку P_c превышает π_p (25-28 mmHg у человека) в артериальной половине капиллярного русла на уровне сердца, здесь происходит фильтрация жидкости; и это уравновешивается реабсорбцией в венозной половине, где P_c падает ниже π_p . Концепция была разработана Landis и Pappenheimer [13], и хотя они осторожно отметили, что «с равной или большей степенью свободы (курсив наш) можно нарисовать капилляры и лимфатические узлы конечности», это предостережение было в значительной степени проигнорировано, и модель стала широко воспроизводиться как установленный факт (рис. 2A, левая панель). Однако это утверждение не было основано на измерениях в какой-либо одной ткани, поскольку в то время не были доступны современные методы измерения важных показателей P_i и π_i в тканях кожи человека. [14] За последние 25 лет стало ясно, что традиционная модель не описывает обмен жидкости в реальной микроциркуляции, потому что в интерстиции (i) как P_i , так и π_i меняются при изменении J_v ; и (ii) жидкость непосредственно за полупроницаемой мембраной (субгликокаликсная жидкость, см. ниже) может иметь состав, заметно отличающийся от интерстициальной жидкости (ISF). В этом кратком обзоре мы сначала рассмотрим данные, относящиеся к традиционной стационарной (steady state) модели фильтрации-реабсорбции. Затем приведем эксперименты, показывающие различие между линейной, преходящей (transient) зависимостью обмена жидкости от давления и нелинейной, стационарной (steady state) зависимостью. Далее следует обзор изменений, произошедших в результате признания гликокаликса полупроницаемым слоем, покрывающим внутреннюю стенку капилляра. Более подробный обзор физиологии эндотелия см. в статье Levick.[15]

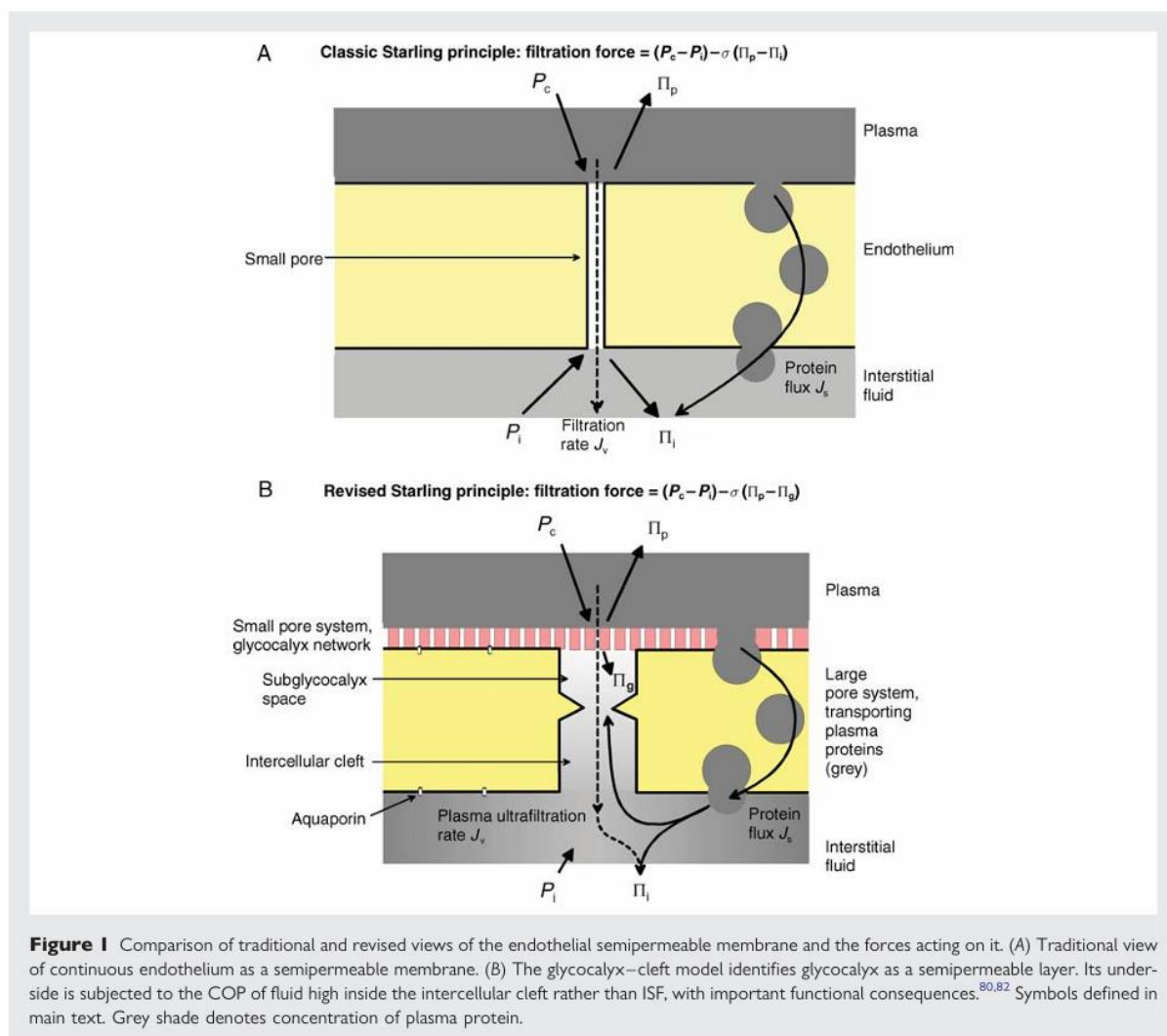


Рисунок 1. Сравнение традиционного и пересмотренного представлений об эндотелиальной полупроницаемой мембране и действующих на нее силах. (A) Традиционное представление о непрерывном эндотелии как о полупроницаемой мембране. (B) Модель гликокаликса–просветов между клетками эндотелия определяет гликокаликс как полупроницаемый слой. Его нижняя сторона подвергается воздействию КОД (COP) жидкости, находящейся высоко в межклеточной щели, а не в межклеточном пространстве, что приводит к важным функциональным последствиям. [80,82] Символы указаны в основном тексте. Серый оттенок обозначает концентрацию белка в плазме.

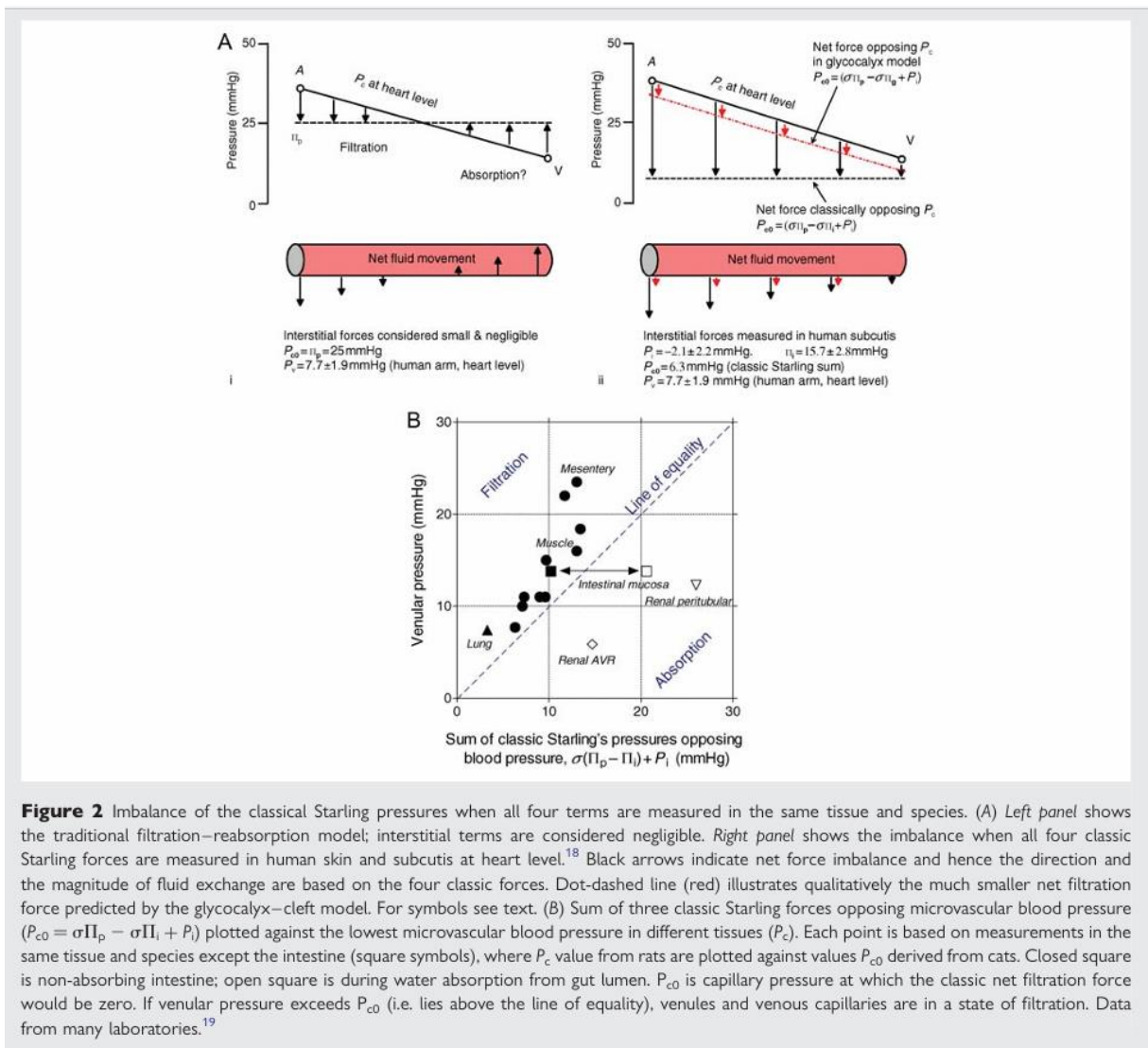


Рис. 2. Дисбаланс классического давления Старлинга, когда все четыре фактора измеряются в одной и той же ткани. (А) Левая панель показывает традиционную модель фильтрации–реабсорбции; промежуточные факторы считаются незначительными. Правая панель показывает дисбаланс, возникающий при измерении всех четырех классических сил Старлинга в коже и подкожной клетчатке человека на уровне сердца.[18] Черные стрелки указывают на суммарный дисбаланс сил, и, следовательно направление и величина обмена жидкости зависят от четырех классических сил. Пунктирная линия (красная) иллюстрирует значительно меньшую суммарную силу фильтрации, предсказанную моделью гликокаликса-межклеточных промежутков. Условные обозначения приведены в тексте. (В) Сумма трех классических сил Старлинга, противодействующих капиллярному давлению крови ($P_{co} = \sigma\pi_p - \sigma\pi_i + P_i$), построенная на основе наименьшего микрососудистого кровяного давления в различных тканях (P_c). Каждая точка основана на измерениях в тех же тканях и у того же вида животных, за исключением кишечника (квадратики на схеме В), где значение P_c у крыс сопоставляется со значениями P_{co} , полученными у кошек. Закрашенный квадратик означает кишечник, не реабсорбирующий жидкость; незакрашенный квадратик – это всасывание воды из просвета кишечника. P_{co} – капиллярное давление, при котором классическая чистая фильтрационная сила равна нулю. Если давление в венах превышает P_{co} (т.е. находится выше линии равенства), вены и венозные капилляры находятся в состоянии фильтрации. Данные из многих лабораторий.[19]

2. Традиционная модель фильтрации и реабсорбции в сравнении с другими моделями давлений Старлинга, измеренное в определенных тканях: данные о сумме сил

Поначалу незаметно возникли сомнения в правильности модели фильтрации – реабсорбции. В ходе исследования брыжеечных и сальниковых капилляров кроликов с использованием метода Landis для мониторинга жидкостного обмена по концентрации эритроцитов, Zweifach и Intaglietta [16] кратко отметили: «На сегодняшний день у нас нет данных... о сосудах, в которых постоянно наблюдалась обратная фильтрация (т.е. реабсорбция)». Десять лет спустя Levick и Michel [10] задокументировали, как давление в капиллярах кожи человека увеличивается с увеличением расстояния ниже уровня сердца, хотя это давление и частично компенсировано постуральной вазоконстрикцией прекапиллярных сосудов; и они указали, что баланс тканевой жидкости не может поддерживаться за счет реабсорбции в коже более чем на ≈ 10 см ниже уровня сердца, поскольку P_c в венозных капиллярах тогда превышает P_r . [10,17] В кожных капиллярах над сердцем P_c не уменьшается аналогичным образом, поскольку поверхностные вены колабируются, и P_c становится независимым от высоты над уровнем сердца.[9] Вопрос о балансе сил, действующих в кожных капиллярах человека на уровне сердца, был рассмотрен Bates et al. [18], которые измерили межклеточные расстояния, используя вставленные мерки (inserted wicks). Это позволило рассчитать сумму всех четырех давлений Старлинга. Они обнаружили, что из-за субатмосферной величины P_i (-2 mmHg) и значительной величины P_t ($15,7$ mmHg) в кожных венозных капиллярах или венулах на уровне сердца не было суммарной реабсорбирующей силы; на уровне сердца ($\Delta P > \sigma \Delta \Pi$) (рис. 2А, правая панель). Обзор литературы выявил аналогичную ситуацию в 14 различных тканях/видах, включая скелетные мышцы ($\approx 40\%$ массы тела) и легкие, ткани с наименьшим P_c (рис. 2В). Важно отметить, что, поскольку давления Старлинга различаются в разных тканях, корректная сумма усилий требует измерения всех четырех сил для каждой ткани. [19] Отсутствие суммарной реабсорбирующей силы в нижележащих сосудах в стационарном состоянии (steady state) соответствует теоретическим ожиданиям, поскольку большая $\Delta \Pi$ развивается только в тканях с высокой скоростью фильтрации (см. далее). На основе современной модели гликокаликса–межклеточных промежутков, P_t не является правильным термином для использования в расчетах суммарной силы (это должно быть КОД(COP) под гликокаликсом, P_{tg} , см. ниже). Однако вывод, об отсутствии суммарной реабсорбирующей силы в венозном конце капилляра в стационарном состоянии (steady state) остается в силе, поскольку реабсорбция повысила бы внесосудистое значение Π и, таким образом, усилило бы аргумент о сумме сил.

3. Реабсорбция наблюдается временно, но не в устойчивом состоянии (steady state) при капиллярном давлении ниже плазменного.

Традиционная стационарная (steady state) модель фильтрации–реабсорбции была протестирована непосредственно Michel и Phillips. [20] Они использовали усовершенствованный Landis метод оценки разведения эритроцитов для измерения направления и скорости обмена жидкости в перфузируемых одиночных капиллярах брыжейки лягушки в двух различных условиях. В одной серии экспериментов P_c резко поднимали или опускали, и сразу после изменения измеряли жидкостный обмен; внесосудистым силам не давалось времени измениться. Во второй серии экспериментов P_c поддерживали постоянным в течение по меньшей мере 2 мин (а обычно и дольше) перед измерением скорости фильтрации или реабсорбции при том же значении P_c [стационарный режим (steady state)]. Как и в исследовании Landis [7], в переходных (transient) экспериментах наблюдалась линейная зависимость между J_v/A и P_c , при этом реабсорбция жидкости происходила в переходный (transient) период, когда значение P_c было снижено ниже $\sigma \Pi_c$. Однако в установившемся режиме (steady state) наблюдалась совершенно иная зависимость

(рис. 3А). Когда P_c превышал $\sigma\pi_r$, скорость фильтрации снова линейно увеличивалась вместе с P_c ; но, когда P_c был ниже $\sigma\pi_r$, реабсорбция в стационарном состоянии (steady state) не происходила — в отличие от традиционной модели реабсорбции ниже по потоку (в венозном конце капилляра) или в переходном (transient) состоянии. Эти наблюдения были подтверждены как на брыжеечных сосудах лягушки, так и крысы [21], и аналогичные результаты были получены при исследовании фильтрации/реабсорбции через эндотелий, культивируемый в слое, в камере типа Ussing.[22] Таким образом, капилляры с низким кровяным давлением могут реабсорбировать жидкость временно, но не в постоянном состоянии (steady state) (важным примером являются легкие) — в соответствии с данными о сумме сил, представленными ранее. Почему обычно это так происходит? Причина в том, что на устойчивое состояние (steady state), помимо принципа Старлинга, влияет дополнительный принцип, а именно связь концентрации внесосудистого плазменного белка (и, следовательно, π_i) со скоростью фильтрации в капиллярах. Кроме того, в некоторых тканях, таких как легкие и подкожная клетчатка, P_i увеличивается нелинейно с увеличением объема ISF вслед за увеличением J_v/A . [14]

4. Обратная зависимость перикапиллярного КОД (COP) от скорости фильтрации ограничивает реабсорбцию в большинстве тканей временным состоянием

Согласно обзору Taylor и Granger, [23] в стационарном состоянии (steady state) концентрация белка плазмы в ISF, C_i (определяющая π_i), не является фиксированной величиной, а обратно пропорциональна скорости фильтрации в капиллярах; смотрите кривую внесосудистого разведения на рисунке 3В, правая панель. [24] Это связано с тем, что ISF постоянно обновляется, а C_i определяется динамически по скорости поступления растворенных веществ, J_s , относительно скорости поступления воды, J_v .

$$C_i = J_s/J_v \cdot (2)$$

Уже более 120 лет известно (см. Cohnheim [25]), что повышение скорости капиллярной фильтрации «разбавляет» макромолекулы ISF и лимфы. [3,26] Здесь мы сталкиваемся с непростой ситуацией; J_v частично зависит от концентрации экстракапиллярного белка [4] [Уравнение (1a–c)]; но концентрация экстракапиллярного белка зависит частично от J_v [кривая внесосудистого разведения, уравнение (2)]. Разделив стандартное уравнение конвекции – диффузии для переноса макромолекул (J_s) на J_v , Michel [27] вывел выражение для C_i и, следовательно, π_i исходя из J_v . Затем это выражение было заменено на уравнение (1c) для прогнозирования установившегося (steady-state) соотношения между J_v и P_c . Полученное в результате несколько сложное выражение [уравнение (3)] описывает кривую, которая соответствует данным об обмене жидкости в легких [28] и конечностях человека [29] и близко соответствует результатам Michel и Phillips [20] в устойчивом состоянии (steady-state), без какой-либо устойчивой реабсорбции даже при $P_c \ll \sigma\pi_r$ (Рисунок 3А):

$$\frac{J_v}{A} = L_p \left[\Delta P - \sigma^2 \pi_p \frac{(1 - e^{-Pe})}{(1 - \sigma \cdot e^{-Pe})} \right], \quad (3)$$

где $Pe = J_v (1 - \sigma)/r_d A$ и r_d – это диффузионная проницаемость капиллярного барьера для макромолекулы. « Pe » – число Пекле (Peclet), представляет собой отношение скорости, с которой макромолекула промывается конвекцией (сопротивление растворителя), к скорости ее диффузии через эндотелиальный барьер. Важно отметить, что уравнение (3) не предсказывает J_v/A исходя из ΔP , поскольку J_v/A также присутствует в правой части уравнения, скрытое внутри числа Pe (число Пекле (Peclet)). Уравнение можно перестроить, чтобы выразить ΔP как функцию J_v/A (см. Приложение в конце этой статьи), и как оно решается. [27] Причина, по которой уравнение (3) не предсказывает реабсорбции жидкости при значениях ΔP , меньших, чем $\sigma\Delta\pi$, показана на рисунке 3В (левая панель). Когда P_c и J_v снижаются, C_i и π_i со временем увеличиваются [Уравнение (2)].

Это постепенно снижает поглощающую (реабсорбирующую) силу $\pi_r - \pi_i$, пока система, наконец,

не перейдет на режим слабой фильтрации, после чего будет достигнут новый устойчивый (steady state) режим. Вместо того чтобы математически решать уравнения Старлинга и внесосудистого разведения, можно вывести линейное переходное соотношение Старлинга [J_v против Π_i для данного P_c , уравнение (1с)] и кривая разведения в интерстиции [C_i и, следовательно, Π_i по сравнению с J_v , уравнение (2)] на том же графике, что и на рисунке 3В. Точка пересечения – это установившееся значение равновесия (steady state). Пересечение всегда является положительным значением J_v , даже если P_c приближается к нулю. [19] Ввиду связанности Π_i с J_v , устойчивая (но не временная) реабсорбция в венозных капиллярах и венулах в большинстве тканей маловероятна. Как кратко отметил сам Старлинг [4], «При снижении капиллярного давления будет происходить осмотическая реабсорбция солевого раствора из внесосудистой жидкости до тех пор, пока она не станет богаче протеидами (рис. 3Б, левая панель); и разница между осмотическим давлением протеидов и внутрисосудистым давлением плазмы равна уменьшенному капиллярному давлению». Пожалуй, самым удивительным открытием Michel и Phillips [20] стала скорость, с которой установился устойчивый режим обмена жидкости. В других тканях постоянная времени значительно больше, составляя порядка десятков минут для микрососудов в скелетных мышцах крупных млекопитающих. [8] Это может быть связано с тем, что различия в архитектуре перикапиллярных пространств позволяют градиентам концентрации белка развиваться в одних тканях быстрее, чем в других (см. ниже). Кроме того, на скорость изменений могут влиять аквапорины (поры в мембранах эндотелиальных клеток, пропускающие только воду), которые могут вносить значительный вклад в уровень L_p в микрососудах скелетных мышц [30-32] (см. далее).

5. Исключения из правила "отсутствие устойчивой реабсорбции": влияние локального транспорта эпителия

Существуют физиологически важные исключения из правила «отсутствия постоянной реабсорбции». В почках жидкость постоянно реабсорбируется в перитубулярные капилляры в корковом веществе и восходящих сосудах медуллярного вещества (ascending vasa recta AVR) почек. В кишечнике во время всасывания воды жидкость непрерывно всасывается капиллярами слизистой оболочки. В лимфатических узлах капилляры непрерывно забирают жидкость из притекающей предузловой лимфы (см. ранее). Как этим сосудам удастся нарушать правило? В лимфатических узлах ISF постоянно замещается предузловой лимфой с низкой концентрацией белка. В почках и кишечнике ISF обновляется независимым потоком жидкости, не содержащей белка, которая выделяется соседними эпителиальными клетками. Быстрое обновление ISF нарушает обратную связь между J_v и Π_i [Уравнение. (2)] и часто сопровождается повышением P_i . Когда это объяснение было впервые предложено, [27] казалось, что оно согласуется с данными по тонкой кишки и перитубулярным капиллярам коры почек. В этих тканях белок, попадающий в ISF из плазмы, выводится эпителиальными выделениями в местную лимфатическую систему. Однако в отношении почечных AVR (восходящая прямая вена) эта теория была менее однозначной, поскольку до сих пор не было продемонстрировано оттока лимфы из медуллярной ISF почек (см. ниже). Следует отметить, что в микрососудах, в которых поддерживается стабильная реабсорбция, эндотелий отличается от эндотелия капилляров в коже, мышцах и соединительной ткани.

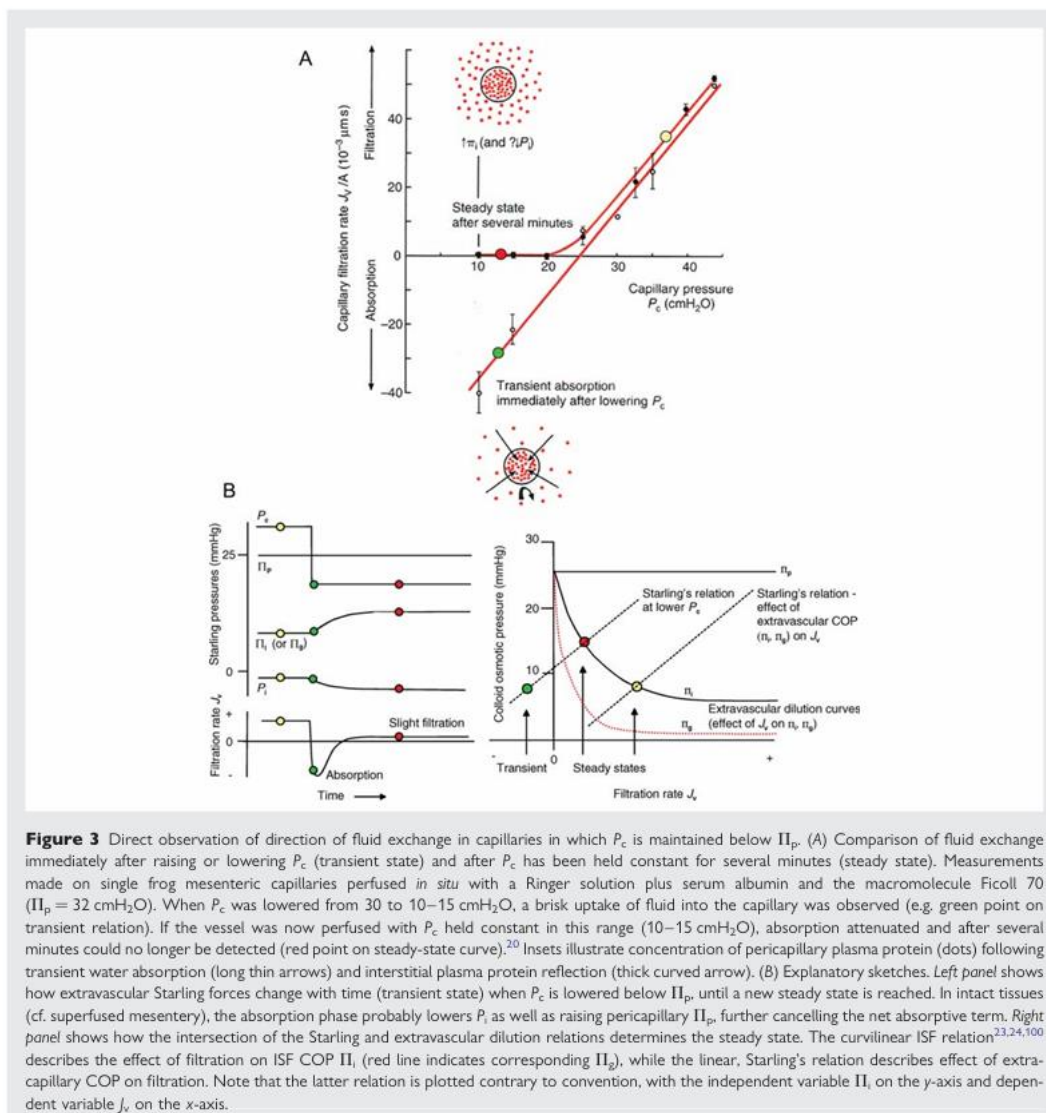


Рисунок 3. Прямое наблюдение направления обмена жидкости в капиллярах, при котором P_c поддерживается на уровне ниже Π_p . (А) Сравнение обмена жидкости сразу после повышения или снижения P_c (переходное состояние (transient state) и после того, как P_c поддерживался постоянным в течение нескольких минут (устойчивое состояние (steady state)). Измерения проводились на отдельных брыжеечных капиллярах лягушки, перфузированных *in situ* раствором Рингера с добавлением сывороточного альбумина и макромолекулы Ficoll 70 ($\Pi_p = 32$ смH₂O). При снижении P_c с 30 до 10-15 смH₂O наблюдалось быстрое поступление жидкости в капилляр (например, зеленая точка на временном соотношении). Если сосуд теперь перфузировался при P_c в постоянном диапазоне (10-15 смH₂O), реабсорбция ослабевала и через несколько минут уже не могла быть обнаружена (красная точка на кривой стационарного состояния (steady state)). [20] На вставках показана концентрация перикапиллярного белка плазмы (точки) в зависимости от временного поглощения воды (длинные тонкие стрелки) и отражения внутритканевого белка плазмы (толстая изогнутая стрелка). (В) Пояснительные рисунки. На левой панели показано, как со временем изменяются внесосудистые силы Старлинга (переходное состояние (transient state), когда P_c снижается ниже Π_p , пока не будет достигнуто новое устойчивое состояние (steady state)). В intactных тканях (капилляры брыжейки), фаза всасывания, вероятно, снижает P_i , а также повышает перикапиллярный Π_p , что еще больше снижает показатель чистого всасывания. На правой панели показано, как пересечение коэффициентов Старлинга и внесосудистого разведения определяет устойчивое состояние. Криволинейное соотношение ISF [23,24,100] описывает влияние фильтрации на КОД (COP) в ISF (Π_i) (красная линия указывает на соответствующий Π_g), в то время как линейное соотношение Старлинга описывает влияние экстракапиллярного КОД (COP) на фильтрацию. Обратите внимание, что последнее соотношение построено вопреки общепринятому правилу, с независимой переменной Π_i на оси «Y» и зависимой переменной J_v на оси «X».

5.1 Слизистая оболочка кишечника

Хотя 70% кровотока в подвздошной кишке крысы поступает через слизистую оболочку, прямые измерения давления в микрососудах показали, что P_c в фенестрированных капиллярах слизистой оболочки существенно ниже P_c в непрерывных капиллярах круговой и продольной гладкой мускулатуры. [33] У кошек лимфоток в кишечнике увеличивается, а концентрация белка в нем снижается по мере всасывания жидкости из просвета тонкой кишки. [34] В нереабсорбирующих зонах подвздошной кишки среднее значение лимфатического давления Π_L КОД (COP) составляло 10 mmHg, тогда как при быстром всасывании жидкости Π_L снижалось до 3 mmHg. Снижение Π_i должно быть, как столь же значительным, поскольку всасывание кишечной жидкости увеличивает локальный объем ISF, что снижает фракционное исключение сывороточного альбумина. [35] Последнее должно усиливать снижение Π_i . Предполагая, что (i) уровень P_c примерно одинаков в реабсорбирующем и нереабсорбирующем состояниях и (ii) аналогичные значения P_c присутствуют в капиллярах слизистых оболочек кошек и крыс, давление Старлинга через стенки капилляров изменяется от низкого уровня фильтрации, когда кишечник не всасывает жидкость, до состояния длительного всасывания жидкости, когда кишечник поглощает жидкость (рис. 2B).

Во время всасывания переваренной пищи эта простая картина может быть осложнена осмотическими градиентами, создаваемыми поглощенными мелкими растворенными веществами. При высокой скорости усвоения глюкозы разница в концентрации глюкозы на стенках капилляров на кончиках кишечных ворсинок может достигать 70 mM. Даже если осмотическое отражение глюкозы на стенках этих сосудов составляет всего 0,01, эффективное осмотическое давление, создаваемое этим градиентом глюкозы, противостоит давлению Старлинга и превышает его на 15 mmHg [36]. Предполагается, что, поскольку поглощение глюкозы и аминокислот эпителием ограничено внешней третью ворсинок, жидкость, всасываемая здесь эпителием, может проходить через интерстиций ворсинок и попадать в обширное капиллярное русло нижних двух третей ворсинок [36] и в молочные железы.

5.2 Кортикальный слой почек

Перитубулярно-капиллярные силы Старлинга были определены в почках крыс и собак несколькими специалистами, и средние значения приведены в таблице 1 для обезвоженных крыс и для крыс с объемами ISF, увеличенными за счёт инфузии изотонического физиологического раствора. [37] У обезвоженных крыс давление Старлинга способствует всасыванию (реабсорбции) жидкости из-за относительно низких значений P_c и Π_i и относительно высоких значений P_i и Π_r . Местный уровень Π_r на 20-30% выше, чем в системной артериальной крови, поскольку перитубулярные сосуды снабжаются плазмой, концентрированной после клубочковой фильтрации. После увеличения ISF путем внутривенной инфузии физиологического раствора локальный уровень Π_r снижается, а уровень P_c повышается, но общее давление, благоприятствующее поглощению жидкости, поддерживается за счет значительного увеличения P_i и дальнейшего снижения Π_i . Аналогичные наблюдения были сделаны у обезвоженных собак и собак получивших объемные инфузии. Низкая концентрация интерстициального белка плазмы, а следовательно, и Π_i , поддерживается за счет низкой проницаемости для макромолекул перитубулярных капилляров с отверстиями (σ для альбумин $\approx 0,99$) и быстрой фильтрации безбелковой ISF через эпителий канальцев, который пропускает относительно небольшое количество белка плазмы, поступающего из кортикальной ISF, в кортикальные лимфатические сосуды.

5.3 Мозговое вещество почки

Жидкость, которая всасывается собирательными протоками из формирующейся мочи, непрерывно выводится из мозгового вещества путем всасывания ISF в AVR (восходящая прямая вена). Оценки давления Старлинга на стенках AVR во внутреннем мозговом веществе крыс указывают на высокие значения Π_r и P_i и низкие значения P_c и Π_i , что согласуется с высокой скоростью всасывания жидкости (таблица 1). До недавнего времени низкое значение Π_i (подразумевающее хороший клиренс белка) вызывало недоумение по двум причинам. В отличие от кортикальных перитубулярных капилляров, AVR обладают относительно высокой проницаемостью для белков плазмы; и в отличие от коркового вещества почек, лимфодренаж в мозговом веществе почек никогда не был убедительно продемонстрирован. Как у собак [38], так и у крыс [39] меченый белок плазмы достигал 85% от своей равновесной концентрации в мозговом веществе почек в течение 3 мин после его введения в кровоток. Ультраструктурные исследования показали, что ферритин, каталаза и пероксидаза могут проникать через фенестры из AVR в ISF. [40] Считалось, что пре-лимфатические каналы могут выводить ISF из медуллярного в корковый слой почек, но это не подтвердилось. [41] Относительно недавно Tenstad et al. [42] продемонстрировали, что меченый альбумин выводится из мозговой ткани непосредственно в кровь. Чтобы объяснить это, MacPhee и Michel [43] предположили, что белки могут вымываться в AVR (конвективный транспорт белков) во время всасывания жидкости следующим образом. Для того чтобы конвективный перенос белка из ISF в AVR был эффективным, σ для белков плазмы в AVR должен быть значительно меньше, чем 1. Измерения содержания σ для альбумина в одиночной перфузируемой AVR дали значения от 0,59 до 0,78, [43,44]. При σ в этом диапазоне, если жидкость, поступающая в AVR, заменяется безбелковой жидкостью из собирательных трубочек, расчеты показали, что конвективный клиренс в AVR (определяемый давлением Старлинга, (таблица 1) может поддерживать оптимальный уровень σ для альбумина и низкую концентрацию альбумина в ISF. [43,45] Более подробное моделирование [46,47] обеспечило дополнительное подтверждение эффективности конвективного поглощения белка в системе противоточного обмена в мозговом веществе почек. Хотя P_c в AVR обычно больше, чем окружающий P_i , возможно, что P_i может превысить P_c , если объем ISF медуллярного вещества почки быстро увеличивается. Поскольку гидравлическая проницаемость фенестрированной AVR высока ($\approx 100 \times 10^{-7}$ см/с/смH₂O), относительно большие объемы жидкости, несущей низкую концентрацию белка, могут поступать в AVR за счет разницы трансэндотелиального гидростатического давления всего в 2-3 смH₂O. Хотя высокий P_i угрожает сдавлением AVR, было обнаружено, что эти сосуды не колабируются до тех пор, пока давление P_c не упадет более чем на 4 см H₂O ниже атмосферного. [48] Механическая стабильность AVR, вероятно, достигается за счет прикрепления эндотелиальных клеток к базальной пластинке соседних нисходящих прямых сосудов и канальцев с помощью тонких процессов, описанных Takahashi-Iwanaga.[49]

6. Парадокс низкой силы фильтрации

На основании трех рассмотренных выше доказательств (сумма измеренных усилий, непосредственное наблюдение за жидкостным обменом при низком P_c и теоретические соображения), баланс тканевой жидкости в мышцах, коже, легких и многих других тканях вряд ли может быть достигнут за счет почти сбалансированной фильтрации у артериального конца капилляра и реабсорбции у венозного конца капилляра в устойчивом состоянии (steady state), как традиционно предполагалось. Таким образом, дренаж капиллярного фильтрата лимфатической системой является доминирующим фактором, ответственным за гомеостаз внутритканевого объема. [50] Однако это мнение порождает новую проблему. Как отметили Aukland и Reed [51], лимфоток, предсказанный уравнениями (1a-c) на основе измерений L_pA и четырех классических сил Старлинга, часто на порядок превышает наблюдаемый лимфоток. Чтобы выразить этот парадокс по-другому, истинная, усредненная фильтрационная сила, рассчитанная исходя из

скорости выделения лимфы (≈ 1 mmHg во многих тканях), намного меньше, чем $(P_c - P_i) - \sigma(\Pi_p - \Pi_i)$, которая обычно составляет 5-10 mmHg (рис. 2B) – это расхождение слишком велико, чтобы списать его на погрешность измерения. Было предложено несколько возможных решений. В тканях с выраженной вазомоцией (циклами вазомоторного колебания тонуса артериол (например, в некоторых скелетных мышцах) фаза сокращения артериол приводит к снижению P_c в расположенном ниже по потоку капиллярном модуле [8], что приводит к кратковременному увеличению реабсорбции (рис. 3, переходная линия), за которым следует возврат к фильтрации во время фазы расслабления артериол, как впервые было предложено Chambers и Zweifach [52] и развитой в дальнейшем модели Intaglietta и Endrich. [53] В этой модели баланс жидкости является временным, а не устойчивым. Однако не все ткани демонстрируют регулярную и сильную вазомоторную активность (вазомоцию), на которой основана временная модель. Совсем недавно новые интересные данные о сложной структуре пор эндотелия помогли разрешить парадокс низкой фильтрационной способности, показав, что истинная чистая фильтрационная способность эндотелия зависит не столько от Π_i , сколько от концентрации жидкости непосредственно под эндотелиальным гликокаликсом. В следующем разделе мы увидим, что концентрация белка в плазме крови здесь может быть значительно ниже, чем в основной массе ISF.

Table 1 Starling pressures (mmHg) across the walls of peritubular capillaries and AVR in rat kidney

Cortical peritubular capillaries ($\sigma_{\text{albumin}} = 0.99$)					
Fluid balance	Π_p	Π_i	P_c	P_i	$\sigma\Delta\Pi - \Delta P$
Hydropenia (mean $\pm$ SEM)	24.8 ± 1.39	3.9 ± 0.6	13.2 ± 1.3	3.3 ± 0.6	10.0
Volume expanded (mean $\pm$ SEM)	16.6 ± 1.34	1.3 ± 0.18	19.5 ± 2.71	11.5 ± 0.78	7.1
Ascending vasa recta of the renal medulla ($\sigma_{\text{albumin}} = 0.7$)					
Hydropenia	Π_p	Π_i	P_c	P_i	$\sigma\Delta\Pi - \Delta P$
Papilla tip (mean $\pm$ SEM)	26.0 ± 2.3	3.7 ± 0.26	7.8 ± 0.4	6.0 ± 0.3	13.8
Papilla base (mean $\pm$ SEM)	16.7 ± 1.3	3.7 ± 0.26	6.7 ± 0.48	6.0 ± 0.3	8.4

The column headed $\sigma\Delta\Pi - \Delta P$ lists values for the net Starling pressure favouring fluid absorption into the vessels. Data for cortical peritubular capillaries are based on four studies summarized by Ulfendahl and Wolgast.³⁷ Data for ascending vasa recta of the renal medulla are from several laboratories reviewed by MacPhee and Michel⁴³ and Michel.⁴⁵

К таблице: В колонке, озаглавленной $\sigma\Delta\Pi - \Delta P$, приведены значения чистого давления Старлинга, способствующего реабсорбции жидкости в сосуды. Данные о корковых перитубулярных капиллярах основаны на четырех исследованиях, обобщенных Ulfendahl и Wolgast. [37] Данные о восходящих прямых медулярных сосудах почки получены из нескольких лабораторий, проанализированных MacPhee и Michel [43] и Michel. [45]

7. Микроградиенты на выходе из пор и модель гликокаликса – межклеточные щели для непрерывных капилляров

7.1 Фенестрированные капилляры

Классический принцип Старлинга симметричен — предполагается, что увеличение Π_i оказывает такое же влияние на водообмен, как и уменьшение Π_p . Однако при исследовании фенестрированных капилляров в синовиальной оболочке, в ткани, которая выстилает суставные полости, оказалось, что это не так. Синовиальные капилляры расположены всего на несколько микрометров ниже высокопористой поверхности ткани, а небольшие скопления фенестров (1-2% поверхности) ориентированы в сторону полости сустава. Следовательно, для изменения Π_i можно использовать внутрисуставные инфузии альбумина, измеряя при этом изменение трансинавиального потока. [54] Когда реакцию изменения Π_i сравнивали с реакцией, вызванной изменениями Π_p после внутрисосудистой перфузии альбумина, наблюдалась заметная

асимметрия. Изменения в объемном Π_i оказывали примерно на треть большее влияние на водообмен, чем изменения в Π_r . Двумерная модель обмена синовиальной жидкости показала, что объяснение заключается в развитии градиентов концентрации альбумина в ISF (и, следовательно, Π_i) вокруг выходов из фенестральных скоплений, что подтверждается слабым перемешиванием ISF. [55] КОД (COP) ISF, прилегающей к фенестрациям, было значительно ниже, чем в целом в ISF, поскольку ультрафильтрат, выходящий из отверстий, разбавляет непосредственно прилегающую ISF на несколько микрометров. Другими словами, ультрафильтрация плазмы создает "микроградиенты" концентрации белка в ISF (крутые градиенты на микрометровых расстояниях). Универсальность этих результатов еще предстоит проверить на других фенестрированных капиллярах.

7.2 Непрерывные капилляры

7.2.1 Структура межклеточных путей

Асимметричное поведение еще более выражено в непрерывных капиллярах. Здесь основные пути для проведения жидкости проходят через эндотелиальные межклеточные щели. (В большинстве микрососудов аквапорины, содержащиеся в мембранах эндотелиальных клеток, обеспечивают $\leq 10\%$ гидравлической проводимости, за исключением гематоэнцефалического барьера и, возможно, капилляров скелетных мышц. [56] Аквапорины играют важную роль при повышении внутритканевой осмолярности, например нисходящие прямые сосуды почки [57] и набухшая, «накачанная жидкостью» при физической нагрузке мышца.[30]) Ультраструктурные исследования показывают, что путь жидкости через межклеточную щель проходит по длинному, узкому, извилистому маршруту.[58-60] Суммарные периметры клеток на площади более 1 см^2 эндотелия (т.е. общая длина просвета входа в межклеточные щели в плоскость поверхности) составляет целых 12-20 м. Однако внутри межклеточных щелей 90% этой длины перекрыто соединительными нитями («плотные контакты», «tight junctions»). Жидкость поступает через разрывы в нитях, которые происходят с интервалом в 2-4 μm , причем длина каждого разрыва составляет всего 200-400nm (рис. 4А). Ширина межклеточных щелей на всем протяжении составляет 14-21nm; они не сужаются в местах соединения нитей. Следовательно, разрывы слишком широки для фильтрации белков плазмы (диаметр молекулы сывороточного альбумина 7,1nm). Отражающий белок элемент или система «мелких пор» имеет эффективный диаметр $\approx 8\text{nm}$. [23,61 – 63] Частично основываясь на этих соображениях, Curry и Michel предположили, что ультрафильтрующие поры расположены в «волокнутой матрице» гликокаликса эндотелия, который перекрывает вход в межклеточные щели. Гликокаликс представляет собой сложную квазипериодическую сеть из цепей гликозаминогликанов (синдекан-1, глипикан и гиалуронан) и сиалогликопротеинов, простирающуюся на 60-570nm от поверхности эндотелия и покрывающую внутреннюю поверхность капилляров, включая вход в межклеточную щель и большинство отверстий.[65-68] Данные о том, что гликокаликс основной фактор, определяющий проницаемость капилляров, получены при оценке значительного увеличения L_p , когда гликокаликс-связывающие белки удаляются из капиллярного перфузата («белковый» эффект [69 – 72]) или когда компоненты гликокаликса удаляются путем ферментативного расщепления, [73,74] и из непосредственных наблюдений.[75] Исследования ферментативного расщепления также показывают, что гликокаликс опосредует вызванные сдвигом изменения в L_p . [76] В дополнение к пути через гликокаликс-межклеточная щель для воды и мелких растворенных веществ, существует отдельная параллельная "система крупных пор", которая медленно транспортирует белки плазмы в интерстициальный компартмент. Эта система, как ни странно, содержит крупные (шириной $\geq 50 \text{ nm}$) поры и/или реализует везикулярный транспорт. [77-79]

7.2.2 Различие КОД (COP) по всем межклеточным путям

Michel [80] и Weinbaum [81] независимо друг от друга признали, что, поскольку путь для макромолекул, через непрерывный эндотелий, лежит параллельно основному пути для проведения жидкости (межклеточные щели), разница КОД (COP) через сосудистый барьер больше не может быть рассчитана как Π_r минус Π_i . Разность в КОД (COP), определяющая обмен жидкости, заключается в том, что жидкость проходит через полупроницаемый гликокаликс. Жидкость на просветной стороне гликокаликса отделяется от перикапиллярной ISF извилистым путем через межклеточные щели (рис. 4A), и поскольку на этом пути могут быть градиенты концентрации белка, уравнение (1с) следует записать в виде:

$$J_v/A = L_p\{(P_c - P_i) - \sigma(\Pi_r - \Pi_g)\}, \quad (4)$$

где Π_g – концентрация ультрафильтрата на нижней стороне гликокаликса. Уровень Π_g может быть очень низким по двум причинам: σ высок, а поток ультрафильтрата наружу препятствует равновесию диффузии белка между субгликокаликсной жидкостью и перикапиллярной ISF. Неравновесие диффузии значительно усугубляется структурой межклеточных щелей. По мере того, как ультрафильтрат проходит через узкие промежутки в межклеточных соединениях, скорость жидкости увеличивается по меньшей мере в 10 раз (рис. 4A), что препятствует обратной диффузии белков плазмы из ISF в капилляр. [60,80 – 82] Приблизительные расчеты показывают, что даже низкой скорости фильтрации жидкости, создаваемой разницей давлений в 1 смН₂O, достаточно, чтобы предотвратить уравнивающую диффузию белка между субгликокаликсной жидкостью и перикапиллярной ISF на выходе из межклеточных щелей. [80,81] Вышеупомянутая концепция была преобразована в двумерную математическую модель Weinbaum с коллегами. [60,82] Модель предсказывает межклеточное движение жидкости через межклеточную щель, и концентрацию белка плазмы в субгликокаликсном пространстве для данного состава ISF. В зависимости от величины фильтрационного давления P_c модель предсказывает большие различия между концентрацией субгликокаликсного белка в плазме крови (следовательно, Π_g) и общей концентрацией белка в ISF (следовательно, Π_i); "соревнование" между диффузией вверх по потоку и вымыванием вниз по потоку, особенно в местах соединения клеток, может привести к концентрации субгликокаликсного белка, которая является $\approx 10\%$ от C_i (рисунок 4A). В этих условиях Π_g настолько мал, что эффективная разница осмотического давления, препятствующая фильтрации жидкости, приближается к Π_r , а не к классическому показателю Старлинга $\Pi_r - \Pi_i$ (рис. 2B). Это снижает базальный J_v до уровня, аналогичного скорости оттока лимфы, и, таким образом, помогает объяснить парадокс низкой фильтрационной силы.

7.2.3 Экспериментальные испытания двумерной модели гликокаликса-межклеточных щелей

Модель Weinbaum предсказывает, что изменения Π_i вокруг фильтрующего капилляра должны оказывать гораздо меньшее влияние на J_v , чем предсказывает классический принцип Старлинга [уравнение (1с)]. Противоречивые прогнозы были проверены Curry, Adamson с коллегами [60,83] с впечатляющими результатами (рис. 4B). Когда концентрация интерстициального альбумина вокруг быстро фильтрующих брыжеечных капилляров лягушки была повышена путем суперфузии до уровня, равного концентрации альбумина, поступающего через просвет капилляра ($\Pi_r - \Pi_i = 0$), скорость фильтрации практически не изменилась — результат, несовместимый с классическим принципом Старлинга, но согласующийся с моделью Weinbaum. [83] В окончательном исследовании на брыжеечных венах крыс [60] было показано, что увеличение J_v , вызванное повышением Π_i с нуля до уровня в плазме, составило $\approx 20\%$ от того, что предсказывалось классическим принципом Старлинга. Измерения фильтрации через эндотелий, в культуре сомкнутых клеток, в камере типа камеры Ussing также подтвердили модель гликокаликса-межклеточных щелей. [22]

7.2.4 Упрощенная одномерная модель, временные константы (постоянные времени) и аквапорины

Чтобы облегчить вычисления и изучение процессов, происходящих при реабсорбции жидкости в капилляры, Weinbaum и коллеги [84] разработали упрощенную одномерную модель, утверждая, что она легче справляется с различиями между градиентами внутри межклеточной щели и в окружающих тканях. Одномерная модель была использована для изучения перехода от нестабильной реабсорбции к низкому уровню фильтрации. Zhang et al. [21] утверждали, что отростки перicyтов, охватывающих микрососуды, ускоряют переход от кратковременного (transient) к устойчивому (steady-state) состоянию обмена жидкостью, образуя «захваченные микродомены» жидкости вне сосудов. Они предполагают, что это явление объясняет быстрое развитие устойчивого (steady-state) состояния, о котором сообщили Michel и Phillips [20] и которое было подтверждено в их собственной лаборатории. [21] Возможно, что захваченные микродомены не ограничены пространствами под перicyтами. Различные ткани имеют различную клеточную архитектуру, окружающую микрососуды, и это может способствовать значительным различиям в временных константах (постоянных времени) перехода от переходного (transient) состояния к устойчивому (steady-state). Временные константы (постоянные времени) также могут быть значительно увеличены, если путь воды через аквапорины вносит существенный вклад в микрососудистое L_p . Хотя Michel и Curry [56] пришли к выводу, что аквапорины составляют менее 10% L_p в большинстве микрососудов, Watson и Wolf [30 – 32] утверждают, что вклад аквапоринов в L_p в капиллярах скелетных мышц кошек может составлять 40-50%. Осмотическое давление, продвигающее воду через аквапорины, соответствует давлению капиллярной плазмы относительно осмотического давления ISF. Если аквапорины ответственны за 50% L_p , то после того, как началась реабсорбция жидкости после снижения P_c , реабсорбция должна продолжаться до тех пор, пока уменьшение объема ISF не приведет к достаточной концентрации белков в ISF для последующего повышения π_i и снижения $\Delta\pi$ ниже ΔP . Это может занять час или больше, если рассчитывать с использованием типичных значений капиллярного давления и объема ISF в скелетных мышцах. Прежде чем рассматривать это как объяснение медленного развития стабильного (steady state) обмена жидкости в скелетных мышцах, следует рассмотреть второе следствие большого количества аквапоринового компонента в L_p . Поскольку разность осмотического давления на пути прохождения через аквапорин равна π_p минус среднее значение π_i в ISF (не π_g), скорость фильтрации жидкости должна быть относительно высокой, если P_c находится в пределах своего обычного диапазона (рис. 2А, правая панель). Таким образом, можно было бы ожидать интенсивной выработки лимфы в скелетных мышцах в состоянии покоя, в то время как лимфоток в скелетных мышцах в состоянии покоя настолько низок, что для получения образцов обычно необходимо массировать или пассивно напрягать мышцы. Для дальнейшего изучения вклада аквапоринов и вазомции в обмен жидкости в скелетных мышцах требуется исследования.

8. Клиническое значение: повышение проницаемости эндотелия и отек тканей.

Микрососудистый жидкостный обмен лежит в основе нескольких основных патофизиологических состояний. Сам Старлинг был знаком с кратковременной реабсорбцией ISF и сопутствующей гемодилюцией после острого эпизода гипотензии. Около 0,5 л ISF может всасываться в кровь человека в течение 15-30 минут, поддерживая сердечный выброс во время гипотензивного стресса. И наоборот, чрезмерная капиллярная фильтрация приводит к интерстициальному отеку — потенциально смертельному состоянию, когда оно поражает легкие. Отек может быть вызван аномальными силами Старлинга, повышенной проницаемостью эндотелия (например, воспаление) или нарушением лимфодренажа. [50] Биохимические процессы, опосредующие повышение проницаемости эндотелия, были недавно рассмотрены Mehta и Malik. [85] Здесь мы

рассмотрим влияние относительно небольших изменений свойств эндотелиальной мембраны на обмен жидкости. Относительно небольшое снижение барьерных свойств сосудов может привести к существенной патологии. Rippe и Haraldsson [86] указали, что уравнение (3) описывает обмен жидкости через мембрану с одинаковыми порами (такую, в которой все каналы, проводящие жидкость, имеют одинаковое гидравлическое сопротивление и молекулярно-фильтрующие свойства); в то время как эндотелий имеет по меньшей мере два пути для проведения жидкости: «мелкие поры» и «крупные поры», а также путь аквапорина в непрерывных капиллярах. По оценкам, в нормальных здоровых сосудах мелкие поры составляют не менее 95%, а крупные – не более 5% от общего объема капилляров в скелетных мышцах. [63,87] Используя эти значения и уравнении (3), мы построили кривые для стационарного (steady state) обмена жидкости (рис. 5A); см. Приложение. О моделях, которые также включают в себя аквапориновый путь с низкой проводимостью, см. Wolf [31] и Rippe et al. [88] Мы предположили, что радиус мелких пор равен 4nm, а радиус крупных пор равен 22,5nm. Поскольку крупные поры составляют всего 5% от общего объема, это эквивалентно 19000 мелких пор на каждую крупную пору. На рисунке 5A мы изобразили отдельные соотношения между J_v/A и ΔP для систем с мелкими и крупными порами и суммарный эффект. Увеличение проницаемости проще всего представить как увеличение числа крупных пор. На рисунке 5B показан эффект 10-кратного увеличения количества крупных пор без изменения количества мелких пор. Возникающее в результате этого повышение проницаемости напоминает то, что наблюдается при легком воспалении. [89] Увеличение общего уровня L_p составляет чуть более 50%, а общее снижение σ для сывороточного альбумина падает всего с 0,93 до 0,66. Если бы среднее давление в микрососудах оставалось неизменным и составляло чуть более 20 смH₂O, добавление девяти крупных пор на 19 000 мелких пор увеличило бы скорость фильтрации жидкости в пять раз. Также наблюдалось бы заметное увеличение концентрации белка в ISF. Влияние этого увеличения на J_v значительно усиливается повышением P_c , которое является результатом увеличения притока крови и расширения сосудов при воспалении. Если бы P_c повысился до 40 смH₂O (относительно небольшое увеличение), чистая фильтрация жидкости в ткани увеличилась бы в 17 раз (стрелка, рис. 5B). Гораздо большее увеличение L_p и снижение σ происходит во время первой фазы острого воспаления. [90-92] Однако изменения такой величины обычно кратковременны.

9. Достижения в области интерстициальной и лимфатической физиологии

Здесь мы ограничиваемся лишь кратким описанием достижений в понимании регуляции P_i и лимфатической системы. Во время острого воспаления P_i может первоначально снижаться независимо от микрососудистого обмена, что увеличивает начальную скорость образования локального отёка. [93] Предполагается, что соединительные ткани удерживаются в умеренном сжатии коллагеновыми фибриллами, которые связаны β_1 -интегрином с фибробластами и противостоят врожденной тенденции интерстиция к расширению (набуханию гликозаминогликанов). Отслоение фибрилл способствует снижению P_i до более низких значений. Подтверждающие данные включают снижение P_i после обработки тканей антителами к β_1 -интегрину. Активная роль лимфатических сосудов в выведении жидкости из периферических тканей была подтверждена исследованиями, электрофизиологии ионных каналов и исследованиями рук человека, [94,95] а сбой в работе лимфатической помпы был продемонстрирован при лимфатических отёках, связанных с раком молочной железы. [96] Достижения в понимании молекулярного и генетического контроля лимфангиогенеза способствовали пониманию процессов, лежащих в основе некоторых наследственных лимфатических отёков. [97,98]

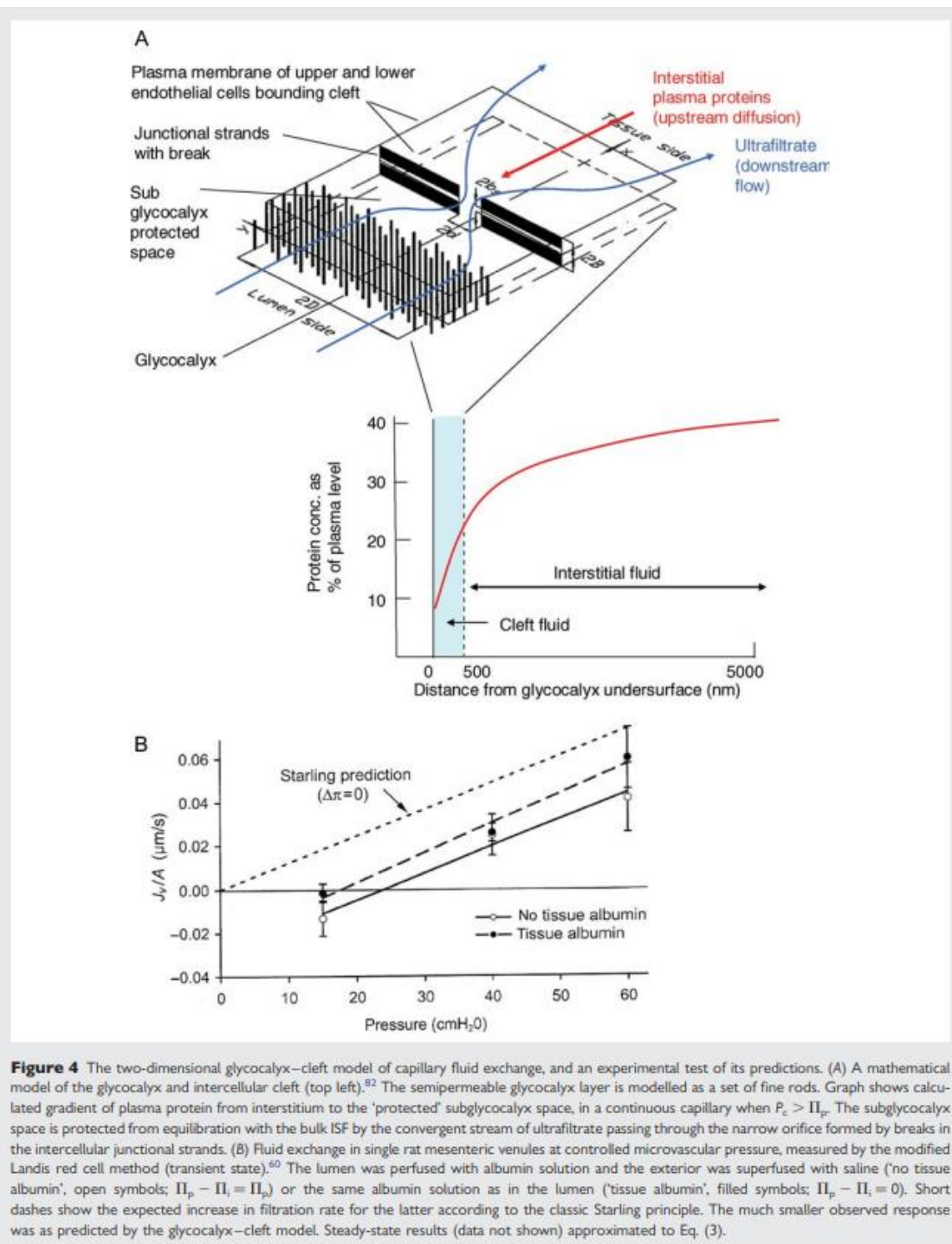


Рисунок 4. Двумерная модель обмена капиллярной жидкости между гликокаликсом и межклеточными щелями и экспериментальная проверка ее предсказаний. (A) Математическая модель гликокаликса и межклеточной щели (вверху слева). [82] Полупроницаемый слой гликокаликса смоделирован в виде набора тонких стержней. На графике показан рассчитанный градиент содержания белка плазмы крови от интерстиция к "защищенному" субгликокаликсному пространству в непрерывном капилляре при использовании $P_c > \Pi_p$. Субгликокаликсное пространство защищено от уравнивания с основной массой ISF сходящимся потоком ультрафильтрата, проходящего через узкое отверстие, образованное разрывами в межклеточных соединительных нитях. (B) Обмен жидкости в отдельных брыжеечных венулах крысы при контролируемом микрососудистом давлении, измеренном модифицированным методом красных клеток Landis (переходное состояние). Просвет перфузировали раствором альбумина, а снаружи поверх него заливали физиологический раствор ("без тканевого альбумина", незакрашенные кружки; $\Pi_p - \Pi_i = \Pi_p$) или тот же раствор альбумина, что и в просвете ("тканевый альбумин", закрашенные кружки; $\Pi_p - \Pi_i = \Pi_p$). Короткие штрихи показывают ожидаемое увеличение скорости фильтрации в соответствии с классическим принципом Старлинга. Наблюдаемый отклик был значительно меньше, чем предсказывалось в модели гликокаликса–межклеточных щелей. Результаты для стационарного состояния (данные не показаны) приближены к уравнению (3).

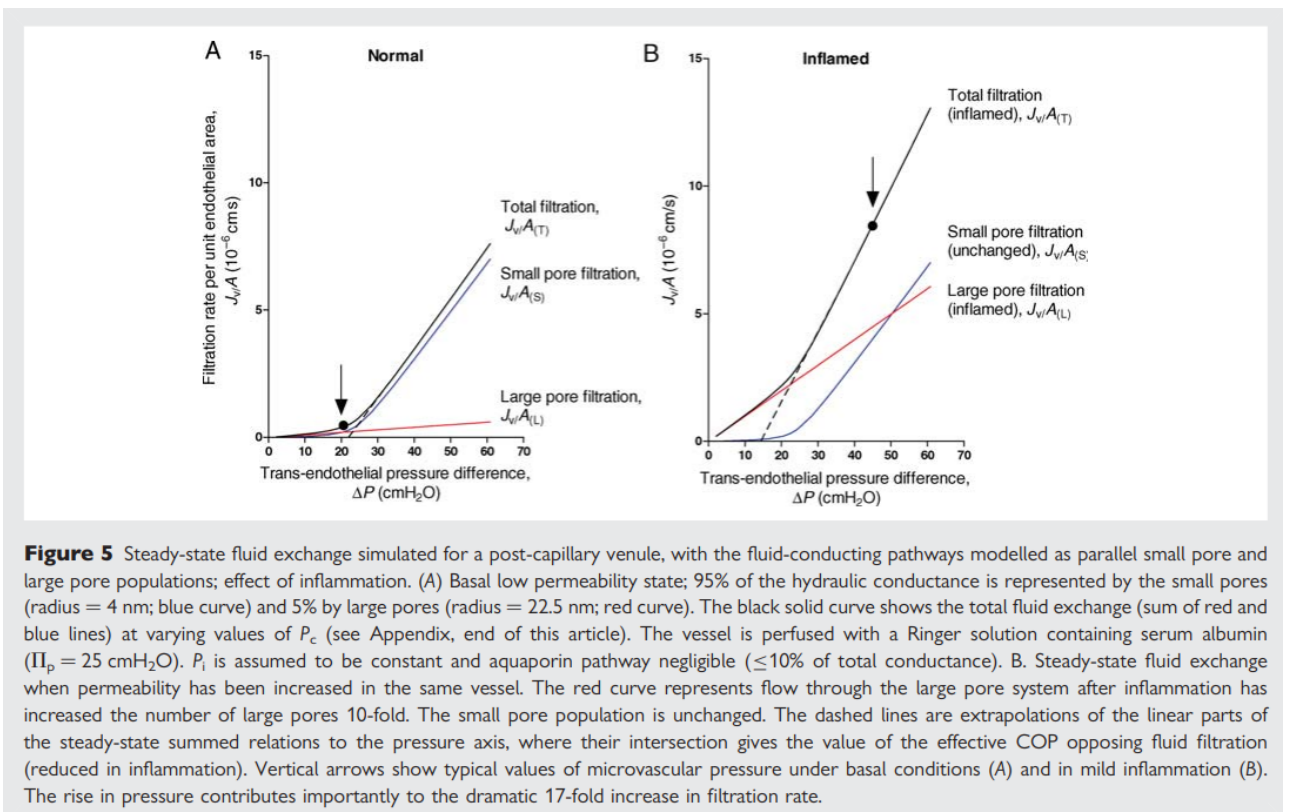


Рис. 5. Моделирование стационарного (steady state) обмена жидкости в посткапиллярной веноле с путями, проводящими жидкость, в виде параллельных популяций мелких и крупных пор; эффект воспаления. (A) Исходное состояние с низкой проницаемостью; 95% гидравлической проводимости представлено мелкими порами (радиус = 4 нм; синяя кривая) и 5% – крупными порами (радиус = 22,5 нм; красная кривая). Сплошная черная кривая показывает общий обмен жидкости (сумма красных и синих линий) при различных значениях P_c (см. Приложение в конце этой статьи). В сосуд вводят раствор Рингера, содержащий сывороточный альбумин ($\Pi_p = 25 \text{ смH}_2\text{O}$). Предполагается, что P_i является постоянной величиной, а путь прохождения через аквапорины незначителен ($\leq 10\%$ от общей проводимости). (B) Постоянный (steady state) обмен жидкости, когда проницаемость в том же сосуде повышена. Красная кривая показывает поток через систему крупных пор после того, как воспаление увеличило количество крупных пор в 10 раз. Количество мелких пор не изменилось. Пунктирные линии представляют собой экстраполяцию линейных частей стационарных (steady state) суммированных соотношений на ось давления, где их пересечение дает значение эффективного КОД (COP) противодействующего фильтрации жидкости (снижение при воспалении). Вертикальными стрелками показаны типичные значения микрососудистого давления в исходных условиях (A) и при легком воспалении (B). Повышение давления в значительной степени способствует резкому, в 17 раз, увеличению скорости фильтрации.

10. Краткое изложение и направления на будущее

КОД (COP), влияющее на фильтрацию как по фенестрированным, так и по сплошным капиллярам, действуют через эндотелиальный гликокаликс; осмотическое давление ISF напрямую не определяет трансэндотелиальный обмен жидкостью. Имеются убедительные доказательства того, что, за важными исключениями, такими как корковое и мозговое вещество почек, нижележащие микрососуды не находятся в состоянии устойчивой реабсорбции жидкости, как это традиционно изображается. Несмотря на то, что традиционное представление о балансе фильтрации и

реабсорбции упорно утверждается в учебниках и учебных пособиях, оно имеет мало оснований для изучения микроциркуляции в большинстве тканей. Таким образом, баланс тканевой жидкости критически зависит от функции лимфатической системы в большинстве тканей. Делая эти убедительные заявления, мы помним о замечании William Harvey в его классическом труде «De Motu Cordis» (1628): «Я боюсь, как бы человечество не стало моим врагом, настолько многие привычки и обычаи стали моей второй натурой. Доктрина, однажды посеянная, пускает глубокие корни, и уважение к древности влияет на всех людей». [99] Мы хотели бы подчеркнуть, что, несмотря на вышеупомянутые достижения, многое остается неизвестным. Процесс реабсорбции жидкости в кровотоки требует более детального изучения в более широком диапазоне тканей; и соответствующая микроструктура трансэндотелиальных путей нуждается в более точном определении, включая оценку вклада аквапорина в общий уровень L_p в микрососудах, который, по-видимому, значительно варьируется. Необходимо изучить структуру и состав гликокаликса в области фенестров и межклеточных щелей. Понимание регуляции синтеза и обмена гликокаликса может привести к разработке новых терапевтических стратегий для снижения патологически повышенной проницаемости. Стоит также подчеркнуть, что о природе фенестральных диафрагм известно очень мало; и что классическая проблема переноса макромолекул через эндотелий (крупные поры или везикулы) остается нерешенной спустя 50 лет после того, как она впервые стала предметом споров. Генетически модифицированные мыши предлагают многообещающий подход к решению некоторых из этих проблем. [79,98]

Признание

Мы приносим извинения многим авторам, которые внесли значительный вклад в эту область и чьи работы не были процитированы из-за нехватки места.

Приложение: двухпористая модель, использованная для создания рисунка 5

Метод был описан Rippe и Haraldsson, [63,87], где стенка капилляра моделируется как непроницаемая мембрана толщиной Δx , пронизанная двумя наборами цилиндрических пор — мелкими порами радиусом 4 nm и крупными порами радиусом 22,5 nm. Размер L_p был выбран равным $2 \times 10^{-7} \text{ cm s}^{-1} \text{ H}_2\text{O}^{-1}$ (типичный для брыжеечной венулы крысы), 95% которого приходилось на мелкие поры и 5% - на крупные. Таким образом, для мелких пор $L_p(S) = 1,9 \times 10^{-7} \text{ cm s}^{-1} \text{ cmH}_2\text{O}^{-1}$ и для крупных пор $L_p(L) = 0,1 \times 10^{-7} \text{ cm s}^{-1} \text{ cmH}_2\text{O}^{-1}$, а общая гидравлическая проводимость составляет

$$L_p(\text{overall}) = L_p(S) + L_p(L) \quad (A1)$$

Теория пор (например, Curry[100]) определяет L_p совокупности пор постоянного радиуса (r) в понятиях закона Пуазейля, т.е.

$$L_p = \frac{\pi r^4 N}{\Delta x 8 \eta} \quad (A2)$$

где N - количество пор на единицу площади мембраны, а η - вязкость жидкости внутри пор. Таким образом, задав значения для $L_p(S)$ и $L_p(L)$ и радиусов пор, мы определили значения $N_S/\Delta x$ и $N_L/\Delta x$, отношения количества мелких и крупных пор к их длине. Коэффициент распределения λ и коэффициент отражения σ для каждого набора пор для конкретного растворенного вещества зависят от отношения молекулярного радиуса (a) к радиусу пор. Они были рассчитаны по следующим выражениям:

$$\lambda = \left(1 - \frac{a}{r}\right)^2 \quad (\text{A3})$$

и

$$\sigma = (1 - \lambda)^2 \quad (\text{A4})$$

Наконец, диффузионная проницаемость p растворенного вещества для каждого набора пор связана с коэффициентом диффузии растворенного вещества в водном растворе D и является функцией, зависящей от (a/r) :

$$p = \frac{\pi r^2 N}{\Delta x} \lambda D f(a/r) \quad (\text{A5})$$

где

$$f\left(\frac{a}{r}\right) = 1 - 2.1\left(\frac{a}{r}\right) + 2.09\left(\frac{a}{r}\right)^3 - 0.95\left(\frac{a}{r}\right)^5 \dots \quad (\text{A6})$$

Уравнения (A1)–(A6) были использованы для оценки значений L_p , σ и p для сывороточного альбумина в каждой популяции пор, предполагая, что диаметр пор составляет $a = 3,6$ nm для альбумина. Уравнение (3) было изменено в виде

$$\Delta P = \frac{J_v/A}{L_p} + \sigma^2 \Pi_p \frac{(1 - e^{-Pe})}{(1 - \sigma \cdot e^{-Pe})} \quad (\text{A7})$$

при соответствующих значениях L_p , σ и p уравнение (A7) использовалось для определения значений ΔP для диапазона значений J_v/A для мелких и крупных пор. Значения J_v/A при одинаковом ΔP для мелких и крупных пор были суммированы, чтобы получить общее значение J_v/A для единицы площади стенки сосуда (рис. 5A). Выражение повторили для рисунка 5B. Здесь вклад $L_p(s)$ оставался постоянным и составлял $1,9 \times 10^{-7} \text{ см s}^{-1} \text{ смH}_2\text{O}^{-1}$, а $L_p(L)$ был увеличен в 10 раз, что лишь незначительно повысило общий L_p с 2,0 до $(1,9 + 1,0) = 2,9 \times 10^{-7} \text{ см s}^{-1} \text{ смH}_2\text{O}^{-1}$.

Список литературы

References

1. Adair TH, Guyton AC. Modification of lymph by lymph nodes. II. Effect of increased lymph node venous blood pressure. Am J Physiol 1983;245:H616–H622.
2. Knox P, Pflug JJ. The effect of the canine popliteal node on the composition of lymph. J Physiol 1983;345:1–14.
3. Renkin EM. Some consequences of capillary permeability to macromolecules; Starling's hypothesis reconsidered. Am J Physiol 1986;250:H706–H710.
4. Starling EH. On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. J Physiol 1896;19:312–326.
5. Staverman AJ. The theory of measurement of osmotic pressure. Rec Trav Chim 1951; 70:344–352.
6. Kedem O, Katchalsky A. Thermodynamic analysis of the permeability of biological membranes to non-electrolytes. Biochim Biophys Acta 1958;27:229–245.
7. Landis EM. Micro-injection studies of capillary permeability. II. The relation between capillary pressure and the rate at which fluid passes through the walls of single capillaries. Am J Physiol 1927;82:217–238.
8. Pappenheimer JR, Soto-Rivera A. Effective osmotic pressure of the plasma proteins and other quantities associated with the capillary circulation in the hind-limbs of cats and dogs. Am J Physiol 1948;152:471–491.
9. Landis EM. Micro-injection studies of capillary blood pressure in human skin. Heart 1930;30:209–228.
10. Levick JR, Michel CC. The effects of position and skin temperature on the capillary pressures in the fingers and toes. J Physiol 1978;274:97–109

11. Williams SA, Wasserman S, Rawlinson DW, Kitney RI, Smaje LH, Tooke JE. Dynamic measurement of human capillary blood pressure. *Clin Sci* 1988;74:507–512.
12. Starling EH. The production and absorption of lymph. In: Schafer EA, ed. *Textbook of Physiology*. Vol. 1. Young J Pentland: Edinburgh; 1898. p285–p311.
13. Landis EM, Pappenheimer JR. Exchange of substances through the capillary walls. In: Hamilton WF, Dow P, eds. *Handbook of Physiology, Section 2: Circulation II*. Washington, DC: American Physiological Society; 1963. p961–1034.
14. Guyton AC, Granger HJ, Taylor AE. Interstitial fluid pressure. *Physiol Rev* 1971;51: 527–563.
15. Levick JR. *An Introduction to Cardiovascular Physiology*. 5th ed (Chapters 9, 10, 11). London: Hodder-Arnold; 2010.
16. Zweifach BW, Intaglietta M. Mechanics of fluid movement across single capillaries in the rabbit. *Microvasc Res* 1968;1:83–101.
17. Mahy IR, Tooke JR, Shore AC. Capillary pressure during and after incremental venous elevation in man. *J Physiol* 1995;485:213–219.
18. Bates DO, Levick JR, Mortimer PS. Starling pressure imbalance in the human arm and alteration in postmastectomy oedema. *J Physiol* 1994;477:355–363.
19. Levick JR. Capillary filtration-absorption balance reconsidered in light of dynamic extravascular factors. *Exp Physiol* 1991;76:825–857.
20. Michel CC, Phillips ME. Steady-state fluid filtration at different capillary pressures in perfused frog mesenteric capillaries. *J Physiol* 1987;388:421–435.
21. Zhang X, Adamson RH, Curry FE, Weinbaum S. Transient regulation of transport by pericytes in venular microvessels via trapped microdomains. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:1374–1379.
22. Pang Z, Tarbell JM. In vitro study of Starling's hypothesis in a cultured monolayer of bovine aortic endothelial cells. *J Vasc Res* 2003;40:351–358.
23. Taylor AE, Granger DN. Exchange of macromolecules across the microcirculation. In: Renkin EM, Michel CC, eds. *Handbook of Physiology, Section 2: The Cardiovascular System, Vol. IV: The Microcirculation*. American Physiological Society; 1984. p467–520.
24. Renkin EM, Joyner WL, Sloop CH, Watson PD. Influence of venous pressure on plasma-lymph transport in the dog's paw: convective and dissipative mechanisms. *Microvasc Res* 1977;14:191–204.
25. Cohnheim J. *Lectures on General Pathology*. Vol. 1: The Circulation. New Sydenham Edition; 1889. p515.
26. Taylor AE, Townsley MI. Evaluation of the Starling fluid flux equation. *News Physiol Sci* 1987;2:48–52.
27. Michel CC. Fluid movement through capillary walls. In: Renkin EM, Michel CC, eds. *Handbook of Physiology, Section 2: The Cardiovascular System, Vol. IV: The Microcirculation*. Bethesda: American Physiological Society; 1984. p375–409.
28. Guyton AC, Lindsey AW. Effect of elevated left atrial pressure and decreased plasma protein concentration on the development of pulmonary oedema. *Circ Res* 1959;7: 649–657.
29. Landis EM, Gibbon JH. The effect of temperature and tissue pressure on the movement of fluid through the human capillary wall. *J Clin Invest* 1933;12:105–138.
30. Wolf MB, Watson PD. Measurement of the osmotic reflection coefficient for small molecules in cat hindlimb. *Am J Physiol* 1989;256:H282–H290.
31. Wolf MB. Determination of the magnitude of the water-exclusive pathway in cat skeletal muscle microvasculature. *Microcirculation* 1996;3:59–73.
32. Wolf MB. A three-pathway pore model describes extensive data from mammalian microvascular beds and frog microvessels. *Microcirculation* 2002;6:497–511.
33. Gore RW, Bohlen HG. Microvascular pressures in rat intestinal muscle and mucosal villi. *Am J Physiol* 1978;233:H685–H693.
34. Granger DN, Taylor AE. Effects of solute-coupled transport on lymph flow and oncotic pressure in cat ileum. *Am J Physiol* 1978;235:E429–E436.
35. Granger DN, Mortillaro NA, Kvietys PR, Rutili G, Taylor AE. Role of the interstitial matrix during intestinal volume absorption. *Am J Physiol* 1980;238:G183–G189.
36. Pappenheimer JR, Michel CC. Role of villus microcirculation in intestinal absorption of glucose; coupling of epithelial with endothelial transport. *J Physiol* 2003;553: 561–574.

37. Ulfendahl HR, Wolgast M. Renal circulation and lymphatics. In: Seldin DW, Giebisch G, eds. *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*. New York: Raven Press Ltd; 1992. p1017–1047.
38. Lassen NA, Longley JB, Lilienfield L. Concentration of albumin in renal papilla. *Science* 1958;128:720–721.
39. Williams MMM, Moffat DB, Creasy M. The effect of antidiuretic hormone on the permeability of the vessels of the renal medulla of the rat during water diuresis. *Q J Exp Physiol* 1971;56:250–256.
40. Venkatachalam MA, Karnovsky MJ. Extravascular protein in the kidney: an ultrastructural study of its relation to renal peritubular capillary permeability using protein tracers. *Lab Invest* 1972;27:435–444.
41. Schmidt-Nielsen B. The renal pelvis. *Kidney Int* 1987;31:621–628.
42. Tenstad O, Heyeraas KJ, Wiig H, Aukland K. Drainage of plasma proteins from the renal medullary interstitium in rats. *J Physiol* 2001;536:533–539.
43. MacPhee PJ, Michel CC. Fluid uptake from the renal medulla into the ascending vasa recta in anaesthetized rats. *J Physiol* 1995b;487:169–183.
44. Pallone TL. Molecular sieving of albumin by the ascending vasa recta wall. *J Clin Invest* 1992;90:30–34..
45. Michel CC. Renal medullary microcirculation: architecture and exchange. *Microcirculation* 1995;2:125–139.
46. Wang W, Michel CC. Modeling the exchange of plasma protein between the microcirculation and the interstitium of the renal medulla. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 279:F333–F344.
47. Zhang W, Edwards A. Transport of plasma proteins across the vasa recta in the renal medulla. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;281:F478–F492.
48. MacPhee PJ, Michel CC. Sub-atmospheric closing pressures in individual microvessels in rats and frogs. *J Physiol* 1995a;484:183–187.
49. Takahashi-Iwanaga H. Three dimensional cytoarchitecture of the interstitial tissue in the rat kidney. *Cell Tissue Res* 1991;264:269–281.
50. Mortimer PS, Levick JR. Chronic peripheral oedema: the critical role of the lymphatic system. *Clin Med* 2004;4:448–453.
51. Aukland K, Reed RK. Interstitial-lymphatic mechanisms in the control of extracellular fluid volume. *Physiol Rev* 1993;73:1–78.
52. Chambers R, Zweifach BW. Intercellular cement and capillary permeability. *Physiol Rev* 1947;27:436–463.
53. Intaglietta M, Endrich B. Experimental and quantitative analysis of microcirculatory water exchange. *Acta Physiol Scand Suppl* 1979;463:59–66.
54. McDonald JN, Levick JR. Effect of extravascular plasma protein on pressure-flow relations across synovium in anaesthetized rabbits. *J Physiol* 1993;465:539–559.
55. Levick JR. An analysis of the interaction between extravascular plasma protein, interstitial flow and capillary filtration; application to synovium. *Microvasc Res* 1994;47: 90–125.
56. Michel CC, Curry FE. Microvascular permeability. *Physiol Rev* 1999;79:703–761.
57. Pallone TL, Kishore BK, Nielsen S, Agre P, Knepper M. Evidence that aquaporin-1 mediates NaCl induced water flux across descending vasa recta. *Am J Physiol* 1997;272:F587–F596.
58. Wissig SL, Williams MC. The permeability of muscle capillaries to microperoxidase. *J Cell Biol* 1978;76:341–359.
59. Adamson RH, Michel CC. Pathways through the intercellular clefts of frog mesenteric capillaries. *J Physiol* 1993;466:303–327.
60. Adamson RH, Lenz JF, Zhang X, Adamson GN, Weinbaum S, Curry FE. Oncotic pressures opposing filtration across non-fenestrated rat microvessels. *J Physiol* 2004;557:889–908.
61. Pappenheimer JR, Renkin EM, Borrero LM. Filtration, diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes. A contribution to the pore theory of capillary permeability. *Am J Physiol* 1951;167:13–46.
62. Renkin EM. Multiple pathways of capillary permeability. *Circ Res* 1977;41:735–743.
63. Rippe B, Haraldsson B. Transport of macromolecules across microvascular walls: the two-pore theory. *Physiol Rev* 1994;74:163–219.
64. Curry FE, Michel CC. A fibre-matrix model of capillary permeability. *Microvasc Res* 1980;20:96–99.

65. Rostgaard J, Qvortrup K. Electron microscopic demonstrations of filamentous molecular sieve plugs in capillary fenestrae. *Microvasc Res* 1997;53:1–13.
66. Squire JM, Chew M, Nnedji G, Neal C, Barry J, Michel CC. Quasi-periodic substructure in the microvessel endothelial glycocalyx: a possible explanation for molecular filtering? *J Struct Biol* 2001;136:239–255.
67. Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, van Zandvoort, oude Egbrink MG. The endothelial glycocalyx: composition, functions and visualization. *Pflügers Arch* 2007;254:345–359.
68. Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Ann Rev Biomed Eng* 2007;9:121–167.
69. Levick JR, Michel CC. The effect of bovine serum albumin on the permeability of frog mesenteric capillaries. *Quart J Exp Physiol* 1973;58:87–97.
70. Turner MR, Clough G, Michel CC. The effects of cationized ferritin and native ferritin upon the filtration coefficient of single frog capillaries. Evidence that proteins in the endothelial cell coat influence permeability. *Microvasc Res* 1983;25:205–222.
71. Schneeberger EE, Hamelin M. Interaction of serum proteins with lung endothelial glycocalyx: its effect on endothelial permeability. *Am J Physiol* 1984;247:H206–H217.
72. Powers MR, Blumenstock FA, Cooper JA, Malik AB. Role of albumin arginyl sites in albumin-induced reduction of endothelial hydraulic conductivity. *J Cell Physiol* 1989; 141:558–564.
73. Adamson RH. Permeability of frog mesenteric capillaries after partial pronase digestion of the endothelial glycocalyx. *J Physiol* 1990;428:1–13.
74. Henry CBC, Duling BR. Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. *Am J Physiol* 1999;277:H508–H514.
75. Vink H, Duling BR. Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes and leukocytes within mammalian capillaries. *Circ Res* 1996;79: 581–589.
76. Lopez-Quintero SV, Amaya R, Pahakis M, Tarbell JM. The endothelial glycocalyx mediates shear-induced changes in hydraulic conductivity. *Am J Physiol* 2009;296: H1451–H1456.
77. Bruns RR, Palade GE. Studies on blood capillaries. II. Transport of ferritin molecules across the wall of muscle capillaries. *J Cell Biol* 1968;37:277–299.
78. Clough G, Michel CC. The role of vesicles in the transport of ferritin through frog endothelium. *J Physiol* 1981;315:127–142.
79. Rosengren B-I, Rippe A, Rippe C, Venturoli D, Sward K, Rippe B. Transvascular protein transport in mice lacking endothelial caveolae. *Am J Physiol* 2006;291: H1371–H1377.
80. Michel CC. Starling: The formulation of his hypothesis of microvascular fluid exchange its significance after 100 years. *Exp Physiol* 1997;82:1–30.
81. Weinbaum S. 1997 Whittaker distinguished lecture: Models to solve mysteries in biomechanics at a cellular level; a new view of fibre matrix layers. *Ann Biomed Eng* 1998;26:1–17.
82. Hu X, Weinbaum S. A new view of Starling's hypothesis at the microstructural level. *Microvasc Res* 1999;58:281–304.
83. Hu X, Adamson RH, Liu B, Curry FE, Weinbaum S. Starling forces that oppose filtration after tissue oncotic pressure is increased. *Am J Physiol* 2000;279: H1724–H1736.
84. Zhang X, Adamson RH, Curry FE, Weinbaum S. A 1-D model to explore the effects of tissue loading and tissue concentration gradients in the revised Starling principle. *Am J Physiol* 2007;291:H2950–H2964.
85. Mehta D, Malik AB. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability. *Physiol Rev* 2006;86:279–367.
86. Rippe B, Haraldsson B. On the steady-state relationship between the microvascular hydrostatic pressure and the transvascular filtration rate. Effects of heteroporosity. *Acta Physiol Scand* 1987;129:441–442.
87. Rippe B, Haraldsson B. Fluid and protein fluxes across the microvasculature. Application of two-pore equations. *Acta Physiol Scand* 1987;131:411–428.
88. Rippe B, Rosengren B-I, Venturoli D. The peritoneal microcirculation in peritoneal dialysis. *Microcirculation* 2001;8:303–320.
89. Michel CC, Kendall S. Differing effects of histamine and serotonin on microvascular permeability in anaesthetized rats. *J Physiol* 1997;501:657–662.

90. Bates DO, Curry FE. Vascular endothelial growth factor increases hydraulic conductivity of isolate perfused microvessels. *Am J Physiol* 1996;271:H2520–H2528.
91. Adamson RH, Zeng M, Adamson GN, Lenz JF, Curry FE. PAF- and bradykinin-induced hyperpermeability of rat venules is independent of actin-myosin contraction. *Am J Physiol* 2003;285:H406–H417.
92. Pocock TM, Foster RR, Bates DO. Evidence of a role for TRPC channels in VEGF mediated increased microvascular permeability in vivo. *Am J Physiol* 2004;286: H1015–H1026.
93. Wiig H, Rubin K, Reed RK. New and active role of the interstitium in control of interstitial fluid pressure: potential therapeutic consequences. *Acta Anaesth Scand* 2003;47:111–121.
94. Levick JR, McHale N. Physiology of lymph production and propulsion. In: Browse N, Burnand K, Mortimer PS, eds. *Diseases of the Lymphatics*. London: Edward Arnold; 2003. p44–64.
95. Zawieja D. Lymphatic biology and the microcirculation: past, present and future. *Microcirculation* 2005;12:141–150.
96. Stanton AWB, Modi S, Mellor RH, Levick JR, Mortimer PS. Recent advances in breast cancer-related lymphoedema of the arm: lymphatic pump failure and predisposing factors. *Lymphatic Res Biol* 2009;7:29–45.
97. Alitalo K, Tammela T, Petrova T. Lymphangiogenesis in development and human disease. *Nature* 2005;438:946–953.
98. Karlsen TV, Karkkainen MJ, Alitalo K, Wiig H. Transcapillary fluid balance consequences of missing initial lymphatics studied in a mouse model of primary lymphoedema. *J Physiol* 2006;574:583–596.
99. Harvey W. *On the motion of the Heart and Blood in Animals* (trans. by R. Willis). Buffalo, New York: Prometheus Books; 1993.
100. Curry FE. Mechanics and thermodynamics of transcapillary exchange. In: Renkin EM, Michel CC, eds. *Handbook of Physiology, Section 2: The Cardiovascular System, Vol. 4: Microcirculation*. Chapter 8. Bethesda, MD: American Physiological Society; 1984. p309–374