

Н.С.Трясак  
Ю.В.Силкина

ГУ «Днепропетровская  
медицинская академия МЗ  
Украины»

**Ключевые слова:** венеч-  
ные сосуды, дендритные  
клетки, атеросклероз, экс-  
перимент.

Надійшла: 24.08.2016  
Прийнята: 12.09.2016

УДК 616.13-004.6:57.089-092.9

## ОСОБЕННОСТИ ГИСТОМОРФОЛОГИИ КОМПОНЕНТОВ СТЕНКИ ВЕНЕЧНЫХ АРТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА

*Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Анализ нормального и аномального гистогенеза тканевых компонентов сердечно-сосудистой системы человека и экспериментальных животных» (номер государственной регистрации 0105U007831).*

**Реферат.** Особенности строения стенки венечных артерий крыс в условиях антиген-индуцированной модели атеросклероза были исследованы. Животным вводили нативные липопротеины низкой плотности человека. Дендритные клетки метили антителами к протеину S-100. Специфические изменения, характерные для атеросклероза, наблюдали с 12-й недели в виде утолщения интимы за счет значительного количества липидных капель и лимфоцитарно-гистиоцитарной инфильтрации. Концентрация дендритных клеток возрастала параллельно с прогрессированием атеросклеротических поражений. Отмечалось перераспределение клеточных популяций в интиме в зависимости от стадии атеросклероза. В максимальные сроки исследования наблюдались явления липосклероза.

**Morphologia.** – 2016. – Т. 10, № 3. – С. 293-296.

© Н.С.Трясак, Ю.В.Силкина, 2016

✉ Nataliatryasak@gmail.com

**Tryasak N.S., Silkina Yu.V. Features of histological morphology of components of the coronary arterial wall in experimental atherosclerosis.**

**ABSTRACT. Background.** Atherosclerosis is a multifactorial chronic disease, which is associated with immune inflammation of the arteries. The main role in the development of atherosclerotic lesions belongs to the dendritic cells. **Objective.** To investigate the components of coronary arteries wall and their interrelationships in the experimental atherosclerosis. **Methods.** Animals received human native low density lipoproteins. Standard histological and immunohistochemical methods were used to detect dendritic cells and other components into coronary arteries wall. **Results.** On the 4-6<sup>th</sup> weeks of the experiment it was observed that dendritic cells form contacts with isolated lymphocytes and macrophages, and they were located mainly in the subendothelial layer. On the 12<sup>th</sup> week the artery wall has changed its structure and the composition of the cellular elements. After 16<sup>th</sup> week, dendritic cells were found in all layers of the coronary arteries and foam cells were revealed at this period. 18-20<sup>th</sup> weeks of the experiment were characterized by the phenomena of liposclerosis. **Conclusion.** It was established that under the normal condition the intima of coronary arteries in rats contains dendritic cells. There is a complex relationships between dendritic cells with other cells. The number of dendritic cells increases with the progression of atherosclerotic lesions. It was observed the redistribution of cells in the intima depends on the stage of atherosclerosis.

**Key words:** coronary vessels, dendritic cells, atherosclerosis, experiment.

### Citation:

Tryasak NS, Silkina YuV. [Features of histological morphology of components of the coronary arterial wall in experimental atherosclerosis]. *Morphologia*. 2016;10(3):293-6. Russian.

### Введение

Атеросклероз и его осложнения занимают лидирующее место в структуре заболеваемости и смертности во многих развитых странах. В связи с быстрым ростом числа сердечно-сосудистых заболеваний уточнение процессов атерогенеза является главной задачей для исследователей [1,2]. Несмотря на значительное количество накопленных данных, ряд ключевых моментов в

морфогенезе атеросклероза остается недостаточно изученным. В частности, это касается роли клеточных элементов интимы артерий и значимости межклеточных взаимодействий в атерогенезе [3-5]. В патогенетических механизмах атеросклероза, особенно в начальных стадиях, все большее значение придают иммунному воспалению артерий и связанную с этим роль дендритных клеток в формировании и прогрессировании

атеросклероза [6-8].

Доказано, что интима артерий и внутренняя часть медики не имеет нервных окончаний, и поддержание гомеостаза осуществляется исключительно за счет межклеточных взаимодействий [9-11]. Предполагается, что не последнюю роль в этом играют и дендритные клетки (ДК). Последние являются наиболее мощными антиген-презентирующими клетками, контролирующими иммунный ответ посредством взаимодействия с лимфоцитами, при этом, представляя собою гетерогенную популяцию клеток костномозгового происхождения [12-14].

Группой ученых было показано, что ДК, путем взаимодействия с макрофагами и лимфоцитами в субэндотелиальном слое нормальных артерий, образуют «сосудисто-ассоциированную лимфоидную ткань», которая определяет наличие антигенной опасности в микроокружении [15-17].

Согласно этим исследованиям, ДК входят в состав артерий человека в норме. Однако, по сравнению с неповрежденной атеросклерозом интимой, их количество значительно возрастает по мере прогрессирования атеросклеротических поражений [18].

Были успешными попытки подтвердить значимость иммунных реакций в развитии атеросклеротических поражений при их моделировании на лабораторных животных. Однако эти модели лишь частично воспроизводят разнообразие процессов, которые отмечаются при атеросклерозе у человека. И должным образом не могут быть использованы для полного объяснения механизмов развития атеросклеротических поражений.

**Целью** нашей работы являлось изучение компонентов стенки венечных артерий и их взаимосвязь в условиях экспериментального атеросклероза.

#### **Материал и методы**

Для моделирования атеросклероза у лабораторных крыс использовали экспериментальную модель введения гетерологичных (человеческих) нативных ЛПНП [19,20]. Для иммунизации использовали 30 беспородных белых крыс возрастом 8-10 недель. Животные были разделены следующим образом: I группа – группа контроля, которым вводили неполный адьювант Фрейнда, II группа – животные, иммунизированные нативными ЛПНП человека. Крысы в период эксперимента содержались на стандартном пищевом режиме; в рацион добавляли рыбо-костную муку. Нативные ЛПНП, полученные из свежей плазмы человека (ProSpec, USA) вводили внутривенно в составе неполного адьюванта Фрейнда (Veston Dickinson, USA) однократно в дозе 200 мкг независимо от веса. Ампула, содержащая нЛПНП, вскрывалась в день иммунизации. С 4-й по 20-ю неделю после введения препарата производили

забор фрагментов сердца для исследования стенки венечных сосудов с целью изучения развития атеросклеротического повреждения на ранних стадиях. Наличие антител против нЛПНП определяли по методу, описанному Хлюстовым В.Н. [21]. Гистологическую обработку ткани проводили по стандартной методике. Препараты окрашивали гематоксилином-эозином. Для идентификации ДК использовали поликлональные антитела к протеину S-100 (Dako, USA) [22,23].

#### **Результаты и их обсуждение**

На 2-й недели эксперимента были исследованы иммуногистохимически окрашенные срезы венечных артерий животных контрольной группы. Обнаружено наличие диффузно распределенных дендритных клеток, которые имеют радиально расположенные отростки, значительно превышающие размеры клеточного тела. ДК образовывали контакты между собой, хотя бы с помощью одного из отростков. Зоны со структурными повреждениями

На 4-6-й неделях после введения нативных ЛПНП человека в группе иммунизированных животных наблюдалось увеличение скоплений дендритных клеток, которые плотно прилегали к эндотелиальным клеткам, отростки некоторых ДК проникали сквозь межэндотелиальные щели в просвет сосуда. Обнаружены контакты ДК с единичными лимфоцитами и макрофагами. Отмечено незначительное увеличение количества тучных клеток. Стенка артерий животных I группы соответствовала по структуре артериям, не поврежденным атеросклерозом. Субэндотелиальный слой содержал тонкие эластические и колагеновые волокна, которые имели продольное направление. Медия состояла из гладкомышечных клеток, окруженных эластическими волокнами.

При исследовании интимы венечных артерий на 8-10-й неделях после иммунизации, во II группе наблюдалось постепенное утолщение субэндотелиального слоя за счет набухания компонентов соединительной ткани, а также нарастающей степени инфильтрации лимфоцитами, макрофагами и тучными клетками, что соответствовало долипидной морфологической стадии атеросклероза. При этом в составе внутренней оболочки венечных артерий присутствия интра- и экстрацеллюлярных липидных капель не наблюдалось. Дендритные клетки образовывали кластеры, преимущественно в субэндотелии, их количество и степень взаимосвязи с другими клеточными элементами постепенно возрастали. В группе контроля характерных для атеросклероза изменений не выявлено.

На 12-й неделе при морфологических исследованиях артерий иммунизированных животных, окрашенных гематоксилином и эозином, наблюдалось изменение архитектоники эластических волокон, отмечалось утолщение интимы, дезор-

ганизация меди, обнаруживались скопления лейкоцитов в интима и между медиа и адвентицией, выявлялся умеренный липоидоз с зональными отеками по сравнению с интактными крысами, что может представлять собой ранние атеросклеротические повреждения сосудов. Отмечалась постепенная миграция гладкомышечных клеток из медиа в интиму с дальнейшим образованием тесных взаимосвязей с ДК. Также обнаружено увеличение количества тучных клеток в интима артерий, тем самым объясняя возросшую проницаемость эндотелия. Стенка артерий I группы животных не отличалась от неповрежденных атеросклерозом артерий по основным параметрам.

После 16-й недели дендритные клетки были выявлены не только в интима, а также между гладкомышечными клетками в среднем слое, в зонах адвентиции, отмечалось увеличение количества дендритных клеток в липидных пятнах. В этот период значительно возрастало количество клеток, содержащих липидные капли (так называемых пенистых). В интима выявлено незначительный процент гладкомышечных клеток относительно общего их количества, которые также содержали липидные включения. У крыс группы контроля изменений в структуре венечных артерий не обнаружено.

Выраженные изменения структуры интима венечных артерий характеризовались максимальным увеличением количества лимфоцитов,

тканевых макрофагов и пенистых клеток, а также явлениями липосклероза на поздних сроках эксперимента (18-20-й неделе). На этом этапе исследования, дендритные клетки были выявлены во всех слоях стенки венечных артерий, в большей степени их концентрация возрастала в участках неоваскуляризации. Отмечалось изменение их ультраструктуры по сравнению с ранними сроками атеросклеротического процесса.

#### **Выводы**

Было установлено, что интима венечных артерий у крыс в норме содержит дендритные клетки. Также существует сложная система взаимосвязи дендритных клеток с другими клетками, которая реализуется с помощью отростков. Специфические изменения, характерные для атеросклероза, наблюдали с 12-й недели в виде утолщения интима за счет значительного количества липидных капель и лимфоцитарно-гистиоцитарной инфильтрации, что соответствовало стадии липоидоза. Явления липосклероза отмечали на 18-20-й неделе. Количество дендритных клеток возрастало параллельно с прогрессированием атеросклеротических поражений. Отмечали перераспределение клеточных популяций в интима в зависимости от стадии атеросклероза.

#### **Перспективы дальнейших исследований**

Планируется изучение ультраструктуры дендритных клеток с определением уровня экспрессии металлопротеиназ.

#### **Литературные источники References**

1. Nikitin YuP, Dushkin MI, Ragino YuI, editors. [Some molecular and biological mechanisms of atherosclerosis]. *Atherosclerosis*. 2008;(1):3-10. Russian.
2. Karagodin VP, Bobryshev YV, Kovalevskaya Zh. [Cellular mechanisms of atherosclerosis: innate immunity and inflammation]. *Basic science and practice*. 2010;1(4):140-8. Russian.
3. Nagornev VA. [Methodology in the study of atherosclerosis]. *Medical academic journal*. 2005;5(3):121-33. Russian.
4. Yuzhik EI, Lushnikova EL. [Medicobiological aspects of modeling of the atherosclerotic process]. *Fundamental research*. 2012;(10):176-83. Russian.
5. Klimov AN, Nagornev VA. Evolution of cholesterol concept of atherogenesis from Anitchkov to our days. *Pediatric pathology and molecular medicine*. 2002;21(3):307-20.
6. Shimada K. Immune system and atherosclerotic disease: heterogeneity of leukocyte subsets participating in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circulation*. 2009;73:994-1001.
7. Menshikov IV, Makarova MI. [Autoim-

mune reaction in the pathogenesis of atherosclerosis]. *Immunology*. 2010;(5):242-6. Russian.

8. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annual Review of Immunology*. 2003;21:685-711.

9. Bobryshev YV, Lord RS. Structural heterogeneity and contacting interactions of vascular dendritic cells in early atherosclerotic lesions of the human aorta. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*. 1996;(6):49-60.

10. Lipscomb MF, Masten BJ. Dendritic cells: immune regulators in health and disease. *Physiological Reviews*. 2002;82:97-130.

11. Bobryshev YV, Orekhov AN. [Dendritic cells in atherogenesis: Identification and pathophysiological significance]. *Pathogenesis*. 2013;11(1): 6-15. Russian.

12. Bobryshev YV, Lord RS. Mapping of vascular dendritic cells in atherosclerotic arteries suggests their involvement in local immune-inflammatory reactions. *Cardiovascular research*. 1998;37:799-810.

13. Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vas-*

cular Biology. 2001;21:1876-1890.

14. Bobryshev YV, Taksir T, Lord RS, Freeman MW. Evidence that dendritic cells infiltrate atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice. *Histology and Histopathology*. 2001;16:801-8.

15. Wick G, Romen M, Amberger A. Atherosclerosis, autoimmunity, and vascular-associated lymphoid tissue. *The FASEB Journal*. 1997;11(13):1199-207.

16. Sharma R, Li DZ. Role of dendritic cells in atherosclerosis. *Asian Cardiovascular & Thoracic Annals*. 2006;14:166-9.

17. Link A, Böhm M. Potential role of dendritic cells in atherogenesis. *Cardiovascular Research*. 2002;55:708-9.

18. Manthey HD, Zerneck A. Dendritic cells in atherosclerosis: Functions in immune regulation and beyond. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2011;106:772-8.

19. Menshikov IV, Fomina KV, Beduleva LV. [A new experimental murine model of atherosclerosis by immunization with human native low-density lipoproteins]. *Bulletin of Udmurt University*. 2012;1:80-6. Russian.

20. Virela G, Lopes-Virela MF. Atherogenesis and the humoral immune response to modified lipoproteins. *Atherosclerosis*. 2008;2:239-46.

21. Khlyustov VN. [Quantitative determination of autoantibodies to low-density lipoprotein]. *Clinical laboratory diagnostics*. 1999;4:17-20. Russian.

22. Bobryshev YV, Lord RS. S-100 positive cells in human arterial intima and in atherosclerotic lesions. *Cardiovascular Research*. 1995;4:689-96.

23. Frostegard J. Autoimmunity, oxidized LDL and cardiovascular disease. *Autoimmunity Reviews*. 2002; 2(3):233-7.

**Трясак Н.С., Сілкіна Ю.В. Особливості гістоморфології компонентів стінки вінцевих артерій в умовах експериментального атеросклерозу.**

**Реферат.** Досліджували особливості будови стінки вінцевих артерій щурів в умовах антиген-індукованої моделі атеросклерозу. Тваринам вводили нативні ліпопротеїни низької щільності людини. Дендритні клітини мітили антитілами до протеїну S-100. Специфічні зміни, характерні для атеросклерозу, спостерігали з 12-го тижня у вигляді потовщення інтими за рахунок значної кількості ліпідних крапель і лімфоцитарно-гістіоцитарної інфільтрації. Концентрація дендритних клітин зростала паралельно з прогресуванням атеросклеротичних уражень. Помітили перерозподіл клітинних популяцій в інтимі в залежності від стадії атеросклерозу. У максимальні терміни дослідження спостерігалися явища ліпосклерозу.

**Ключові слова:** вінцеві судини, дендритні клітини, атеросклероз, експеримент.