Тодоров С. С.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

РОЛЬ ГЛАДКИХ МЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК И МАКРОФАГОВ В РАЗВИТИИ ОСЛОЖНЕННЫХ ФОРМ АТЕРОСКЛЕРОЗА АРТЕРИЙ

Ключевые слова: атеросклероз, гладкие мышечные клетки, макрофаги, нестабильная бляшка.

Ссылка для цитирования: Тодоров С. С. Роль гладких мышечных клеток и макрофагов в развитии осложненных форм атеросклероза артерий. Кардиология. 2019;59(1):57–61.

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Морфогистохимическое и иммуногистохимическое изучение нестабильных атеросклеротических бляшек артерий для оценки состояния гладких мышечных клеток (ГМК) и макрофагов. **Материалы и методы.** Исследовали операционный материал периферических артерий (бедренная, подколенная, наружная сонная), полученный от 50 больных в возрасте старше 60 лет, с последующим выполнением морфогистохимического, иммуногистохимического исследований. **Результаты.** В нестабильной атеросклеротической бляшке отмечались гиперплазия секреторных ГМК, новообразование тонкостенных сосудов капиллярного типа. Макрофагальная инфильтрация выявлялась в интима артерий, в местах скопления пенистых клеток. **Выводы.** Нестабильная атеросклеротическая бляшка представляет собой клеточно-межклеточный процесс с участием липидов, макрофагов, с преобладанием ГМК и новообразованных сосудов.

Todorov S. S.

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

THE ROLE OF SMOOTH MYOCYTES AND MACROPHAGES IN DEVELOPMENT OF COMPLICATED FORMS OF ARTERIAL ATHEROSCLEROSIS

Keywords: atherosclerosis, smooth myocytes, macrophages, unstable plaque

For citation: Todorov S. S. The Role of Smooth Myocytes and Macrophages in Development of Complicated Forms of Arterial Atherosclerosis. Kardiologiia. 2019;59(1):57–61.

SUMMARY

Purpose: to conduct morphohistochemical and immunohistochemical study of arterial unstable atherosclerotic plaques for assessment of the state of smooth muscle cells (SMC) and macrophages. **Materials and methods.** The surgical material of the peripheral arteries (femoral, popliteal, external carotid) was obtained from 50 patients aged over 60 years, followed by morphohistochemical, immunohistochemical studies. **Results.** Hyperplasia of secretory smooth muscle cells (SMC), and new formation of thin-walled capillary vessels was noted in unstable atherosclerotic plaques. Macrophagic infiltration was detected in the intima of arteries, in places of accumulation of foam cells. **Conclusion.** Unstable atherosclerotic plaque is a cellular-intercellular process with the participation of lipids, macrophages, and with predominance of SMC and newly formed vessels.

Согласно данным ВОЗ, сердечно-сосудистые заболевания остаются ведущей причиной смерти во всем мире, при этом 7,3 млн человек умирают ежегодно от ишемической болезни сердца, 6,2 млн – от инсульта. К 2030 г. экспертами ВОЗ прогнозируется увеличение числа умерших от данной патологии до 23,3 млн [1–3].

Как известно, основной причиной развития сердечно-сосудистых заболеваний является атеросклероз артерий, который сопровождается прогрессирующим сужением их просветов с формированием тромбоза, что приводит к тяжелым трофическим расстройствам сердца, головного мозга, нижних конечностей.

Типичная атеросклеротическая бляшка (АСБ) представлена липидно-некротическим центром (дном) и покрывкой. В свою очередь покрывка бляшки имеет гетерогенную структуру, которая состоит из гладкомышечных клеток (ГМК), коллагеновых волокон, иммунокомпетентных клеток (моноциты, Т-лимфоциты, тучные клетки), неповрежденных клеток эндотелия. В зависимости от наличия или отсутствия повреждения покрывки различают стабильные и нестабильные формы АСБ. Американская ассоциация сердца предлагает различать АСБ в зависимости от толщины покрывки (менее 65 нм) и наличия разрывов [4, 5].

Прогрессирование роста и стабильность АСБ определяются ее клеточным составом. В последние годы в литературе большое внимание уделяется роли различных типов макрофагов (M1, M2, Mox), ГМК, протеогликанам, генетическим нарушениям в стенке артерий при прогрессировании атеросклероза [6–8]. Однако результаты этих исследований в основном базируются на экспериментальном материале, что не всегда дает возможность адекватно оценить клинико-морфологические признаки развития атеросклероза, его осложнений (разрыв, тромбоз, кальциноз, стеноз). Особенно актуальной становится данная проблема после выполнения реконструктивных операций на сердце (аортокоронарное шунтирование, стентирование коронарных артерий).

Целью нашего исследования было морфологическое, гистохимическое, иммуногистохимическое изучение нестабильных АСБ для оценки состояния ГМК и макрофагов.

Материалы и методы

Материалом послужили хирургически удаленные фрагменты артерий с признаками атеросклероза (бедренная, подколенная, наружная сонная) у 50 больных преимущественно мужского пола (75%) в возрасте старше 60 лет. Средний возраст больных составил 62,5 года. До выполнения операций проходимость сосудов оценивали с помощью ультразвукового исследования с доплерометрией, ангиографического исследования. Были изучены фрагменты артерий, поступивших с клиническими проявлениями осложненного атеросклероза, включающего прогрессирующую ишемию нижних конечностей, сосудистыми нарушениями в области шеи без признаков острого развития патологического процесса, что было подтверждено при выполнении ультразвукового и ангиографического исследований. Все больные поступали в стационар на лечение в плановом порядке, экстренных состояний не было. В выбранных нами 50 клинических случаях преобладали клинические проявления, обусловленные медленным сужением просветов артерий с признаками нарастающей ишемии, атрофии ткани, развитием хронической сосудистой недостаточности. Признаков развития быстрой окклюзии сосудов тромбами, эмболами не было.

Однако во всех наблюдениях обнаруживались морфологические признаки осложненных форм атеросклероза (согласно определению Национального руководства по патологической анатомии 2011 г.), т. е. наличия изъязвления, кальциноза фиброзной или атероматозной бляшки [9].

Для морфологического исследования вырезали кусочки артерий в виде колец, которые фиксировали в забуференном 10% нейтральном растворе формалина в течение

12 ч и после обычной спиртовой проводки заливали в парафин. После этого выполняли микротомии с толщиной срезов не более 2,5 мкм и окраской полученных гистологических препаратов гематоксилином и эозином, по Массону, по Хочкиссу с докраской альциановым синим при pH 2,0 для выявления коллагеновых волокон и протеогликанов. Иммуногистохимический этап исследования включал окраску готовых гистологических срезов ручным способом с использованием моноклональных (ready-to-use) антител: CD34 (клон QBEnd), CD68 (клон KP1), SMA (клон 1A4), α -актина (клон HNF35).

Результаты

Данная группа больных была отобрана в связи с наличием после морфологического исследования признаков нестабильной атеросклеротической бляшки для оценки состояния макрофагов, гладкомышечных клеток, липидов, сосудов в ее структуре. Гистологическое исследование артерий выявило разрыв внутренней оболочки с образованием пристеночного тромба смешанного строения, со скоплением во внутренних отделах стенки пенистых макрофагов, единичных гигантских многоядерных клеток типа инородных тел. Кроме того, отмечалась неравномерная гиперплазия ГМК (рис. 1).

В средней оболочке артерий отмечалась диффузная инфильтрация кислыми гликозаминогликанами с признаками выраженной гиперплазии ГМК, окруженных тонкостенными новообразованными сосудами капиллярного типа (рис. 2). Наряду с этим вокруг очагов гиперплазии ГМК имелись участки неравномерного скопления кристаллов холестерина, очаги кальциноза.

Рис. 1. Нестабильная АСБ: разрыв интимы артерии с образованием пристеночного смешанного тромба, скоплением пенистых макрофагов, единичной гигантской многоядерной клеткой типа инородного тела. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200.

Здесь и на рис. 2–5: АСБ – атеросклеротическая бляшка.

Рис. 2. Нестабильная АСБ: в средней оболочке артерии – ГМК, инфильтрация кислыми гликозаминогликанами, неоваскуляризация. Окраска по Хочкиссу с докраской альциановым синим. Ув. 200.

Здесь и на рис. 3–5: ГМК – гладкие мышечные клетки.

Рис. 4. Нестабильная АСБ: экспрессия гладкомышечного актина в ГМК секреторного типа (перинуклеарное просветление цитоплазмы ГМК). Иммуногистохимическая реакция с антителом к SMA. Ув. 400.

Рис. 3. Нестабильная АСБ: во внутренней и средней оболочках артерии отмечается неоангиогенез. Иммуногистохимическая реакция с антителом к CD34. Ув. 200.

Рис. 5. Нестабильная АСБ: во внутренних слоях АСБ выявляются макрофаги. Иммуногистохимическая реакция с антителом к CD68. Ув. 200.

Детальное изучение структурных элементов АСБ позволило установить новообразованные тонкостенные сосуды капиллярного типа (неоангиогенез) внутренней и средней оболочек артерии в местах гиперплазии ГМК, что давало положительную реакцию с белком CD34 (рис. 3).

При изучении морфоиммунофенотипа ГМК в местах гиперплазии клеток было отмечено, что они давали яркую цитоплазматическую реакцию с гладкомышечным актином (SMA), слабую реакцию с α -актином, имели перинуклеарные просветления цитоплазмы (рис. 4). Принимая во внимание тот факт, что в участках гиперплазии ГМК отмечалось увеличение количества гликозаминоглика-

нов, а сами клеточные элементы имели округлую форму с перинуклеарным просветлением цитоплазмы и слабую экспрессию α -актина, мы полагаем, что данный тип ГМК является секреторным. Весьма вероятно, что этот тип ГМК может принимать участие в неоангиогенезе, о чем свидетельствовало обнаружение тонкостенных сосудов капиллярного типа в местах гиперплазии ГМК, что не противоречит данным литературы [9].

Макрофагальная инфильтрация в виде яркой цитоплазматической экспрессии с белком CD68 выявлялась в виде дискретных скоплений клеток преимущественно в интима артерии, в местах скоплений пенистых макрофагов (рис. 5).

Обсуждение

Атеросклероз артерий представляет собой хроническое прогрессирующее заболевание, приводящее к тяжелым сосудистым осложнениям, нередко заканчивающимся летальным исходом. В этой связи представляет особый интерес изучение особенностей строения атеросклеротической бляшки, особенно ее нестабильной формы. Работы, посвященные изучению данной проблемы, основаны, в основном, на изучении атеросклеротического поражения артерий в эксперименте, поэтому возрастает ценность таких исследований на клиническом материале.

В рамках нашего исследования было проведено морфологическое, гистохимическое, иммуногистохимическое исследование артерий, полученных во время операций по поводу атеросклеротического поражения, которое показало, что в нестабильной атеросклеротической бляшке, наряду с липидами и макрофагами, в достаточно большом количестве присутствуют ГМК. Эти ГМК имеют округлую форму, перинуклеарное просветление цитоплазмы, экспрессируют белок SMA, слабо экспрессируют α -актин, окружены большим количеством гликозаминогликанов и тонкостенных сосудов капиллярного типа (Cd34 позитивная реакция). Мы полагаем, что данный тип ГМК является секреторным, который вероятно может принимать участие в процессах неоангиогенеза нестабильной АСБ.

Можно думать, что формирование и прогрессивный рост АСБ представляют собой клеточно-межклеточный процесс с участием липидов, макрофагов, ГМК, новообразованных сосудов капиллярного типа. При этом инициатором роста самой АСБ и ее осложнений, по-видимому, являются ГМК, которые могут претерпевать морфофенотипические изменения с их трансформацией из контрактального в секреторный тип.

В отдельных экспериментальных работах показано, что под влиянием липопротеинов, провоспалительных сигналов, поступающих от клеток эндотелия, макрофагов, ГМК контрактального типа утрачивают маркеры сократительной активности (α -актин) и мигрируют в интиму [11, 12].

В дальнейшем в интиме артерий ГМК пролиферируют, участвуют в продукции фиброзной ткани, формируют покрышку АСБ. Секреторные ГМК могут продуцировать провоспалительные цитокины, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), трансформирующий фактор роста TGF- β , участвуют в кристаллизации молекул гидроксиапатита, что может лежать в основе неоангиогенеза и кальциноза АСБ [13].

Процесс трансформации ГМК контрактального типа в секреторный тип остается до конца не изученным, при этом не исключается роль факторов транскрипции, микроРНК, эпигенетических модификаций.

Есть указания, что ГМК могут служить источником образования макрофагов, миофибробластов, фибробластов в АСБ путем их сложной трансдифференцировки, что может объяснять прогрессирование заболевания [14].

Макрофаги (M1, M2), принимающие участие в развитии атеросклероза, способны продуцировать трансформирующий фактор-альфа (TGF- α), влияющий на рост и пролиферацию ГМК, что объясняет постоянный рост АСБ [15, 16].

В работах отечественных авторов, посвященных вопросам патогенеза атеросклероза в эксперименте, показаны роль и значение иммунологической реактивности в развитии аутоиммунного ответа [17, 18]. В этих трудах авторы продемонстрировали пути и механизмы транспорта атерогенных липопротеинов низкой плотности в стенку артерий, их роль в изменении иммунологической реактивности и развитии аутоиммунного ответа. По-видимому, такие изменения могут возникать на ранних этапах формирования АСБ, когда формируется аутоиммунная воспалительная реакция с участием лимфоцитов, макрофагов при инфильтрации сосудистой стенки липопротеидами низкой плотности, что согласуется с результатами В. А. Нагорнева [18].

По мере накопления липопротеидов в стенке артерии происходит накопление макрофагов с их последующей трансформацией в пенистые клетки, содержащие липиды. В случае развития нестабильной АСБ происходят деструкция ее покрышки, кровоизлияния, разрыв, формирование пристеночного тромба. В этом случае прогрессирование атеросклеротического процесса, по-видимому, «переключается» на клеточные взаимодействия, обусловленные реакциями макрофаг-ГМК с изменениями морфоиммунотипа последних, появлению неоангиогенеза АСБ.

Учитывая тот факт, что в нестабильной АСБ отмечаются гиперплазия ГМК и признаки неоангиогенеза, можно полагать наиболее обоснованным применение патогенетической терапии с применением статинов, ингибиторов циклооксигеназы, антипролиферативных препаратов (например, рапамицин, паклитаксел).

Заключение

Таким образом, атеросклероз артерий на поздних стадиях развития в случаях возникновения осложненных форм представляет собой хронический прогрессирующий патологический процесс с участием макрофагов, гладких мышечных клеток, способствующих неоангиогенезу, кальцинозу бляшки. Мы полагаем, что в нестабильной атеросклеротической бляшке происходит пролиферация гладких мышечных клеток секреторного типа с последующим развитием новообразованных тонкостенных сосудов капиллярного типа, накоплением в ней кислых гликозаминогликанов.

Полученные данные о морфогистохимических, иммуногистохимических изменениях при атеросклерозе артерий, вероятно, смогут помочь обоснованию локального применения антипролиферативных препаратов, подавляющих клеточную активность (напри-

мер, рапамицин, паклитаксел), что наряду со статинами, ингибиторами циклооксигеназы (ацетилсалициловая кислота) будет являться патогенетической терапией при данной патологии, что активно обсуждается в последние годы в литературе [15].

Information about the author:

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Todorov Sergey S. – MD.

E-mail: sertodorov@gmail.com

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. World Health Organization. Global status report on non-communicable diseases 2010. http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_full_en.pdf
2. World Health Organization. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control 2011. http://www.who.int/nmh/publications/ncd_profiles_report.pdf
3. Mathers C.D., Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PloS Medicine* 2006;3(11):442. DOI: 10.1371/journal.pmed.0030442
4. Usman A., Ribbatti D., Sadat U., Gillard J.H. From lipid retention to immune-mediate inflammation and associated angiogenesis in the pathogenesis of atherosclerosis. *Journal of Atheroscler Thromb* 2015;22(8):739–749. DOI: 10.5551/jat.30460
5. Virmani R., Kolodgie F.D., Burke A.P. et al. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2000;20(5):1262–1275. DOI: 10.1161/01.ATV.20.5.1262
6. Stoger J.L., Gijbels M.J., van der Velden S. et al. Distribution of macrophage polarization markers in human atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012;225(2):461–468. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2012.09.013
7. Tesauro M., Mauriello A., Rovella V. et al. Arterial ageing: from endothelial dysfunction to vascular calcification. *J Int Med* 2017;281(5):471–482. DOI: 10.1111/joim.12605.
8. Tabas I., Bornfeldt K.E. Macrophage phenotype and function in different stages of atherosclerosis. *Circ Res* 2016;118(4):653–667. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.115/306256
9. Pathology. National guidebook. Moscow, 2011. Russian (Патологическая анатомия. Национальное руководство. М., 2011).
10. Marx S.O., Totary-Jain H., Marks A.R. Vascular smooth muscle cell proliferation in restenosis. *Circulation: Cardiovasc Interv* 2011;4(1):104–111. DOI: 10.116/CIRCINTERVENTIONS.110.967332
11. Tabas I., Williams K.J., Boren J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation* 2007;116(16):1832–1844. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.676890
12. Chinetti-Gbaguidi G., Colin S., Staels B. Macrophage subsets in atherosclerosis. *Nature Reviews Cardiology* 2015;12(1):10–17. DOI: 10.1038/nrcardio.2014.173
13. Gomez D., Owens G.K. Smooth muscle cell phenotypic switching in atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2012;95(2):156–164. DOI: 10.1093/cvr/cvs115
14. Allahverdian S., Chehroudi A.C., McManus B.M. et al. Contribution of intimal smooth muscle cells to cholesterol accumulation and macrophage-like cells in human atherosclerosis. *Circulation* 2014;129(15):1551–1559. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.005015
15. Sukhovershin R.A., Toledano Furman N.E. et al. Local inhibition of macrophage and smooth muscle cell proliferation to suppress plaque progression. *Methodist DeBakey Cardiovasc J* 2016;12(3):141–145. DOI: 10.14797/mdcj-12-3-141
16. Todorov S.S. Smooth muscle cells in cardiovascular pathology. *Rossiisky kardiologicheskyy zhurnal* 2009;5(79):91–94. Russian (Тодоров С.С. Гладкие миоциты в патологии сердечно-сосудистой системы. Российский кардиологический журнал 2009;5(79):91–94.)
17. Klimov A.N., Nikulcheva N.G. Exchange of lipids and lipoproteins and its violation. *A Practical Guide*. Moscow.1999. Russian (Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. Практическое руководство. М., 1999).
18. Nagornev V.A. Pathogenesis of atherosclerosis. Moscow, 2006. 240p. Russian (Нагорнев В.А. Патогенез атеросклероза. М., 2006, 240 с).

Поступила 01.03.17 (Received 01.03.17)