

УДК 616-018;616-092.9;616.132.2

Н.С. Трясак, Ю.В. Силкина

ГУ «Днепропетровская медицинская академия» МЗ Украины

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АНТИГЕН-ИНДУЦИРОВАННОГО РАЗВИТИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА ВЕНЕЧНЫХ СОСУДОВ У ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

Исследовали особенности структуры венечных артерий крыс в условиях антиген-стимулированной модели атеросклероза. Животным вводили нативные липопротеины низкой плотности человека. Дендритные клетки метили антителами к протеину S-100. Специфические изменения в интиме венечных сосудов наблюдали уже на 12-й неделе в виде лимфоцитарно-гистиоцитарной инфильтрации, увеличения толщины интимы преимущественно за счет значительного количества липидных капель, что соответствовало стадии липоидоза. В максимальные сроки исследования наблюдались явления липосклероза.

Ключевые слова: венечные сосуды, развитие атеросклероза, липосклероз, крысы.

Атеросклероз, как многофакторное хроническое заболевание, связанное с накоплением избыточного количества липидов в интиме артерий, остается одной из самых частых причин снижения качества жизни населения во многих развитых странах. Несмотря на большое число исследований, единой теории относительно инициации и механизма развития атеросклероза нет. Длительная доклиническая стадия процесса, завуалированность симптоматики на раннем этапе не позволяют выделить главный фактор, запускающий патологический процесс. В настоящее время известны три основные теории возникновения атеросклеротического повреждения сосудов:

- теория липопротеиновой инфильтрации, согласно которой основной причиной атеросклероза является нарушение липидного обмена;

- аутоиммунная, согласно которой запуск атеросклеротического процесса вызывают не столько липопротеины, сколько аутоиммунные комплексы, содержащие липопротеины в качестве антигена [1];

- эндотелиальной дисфункции, говорящая о первичном нарушении защитных свойств эндотелия и его медиаторов. Сюда относят и первичное вирусное повреждение эндотелия *S. Pneumoniae*, *H. pylori*, в результате которого нарушается функционирование эндотелия,

сопровожающееся повышенной экспрессией молекул межклеточной адгезии и селектинов [2].

В последние десятилетия экспериментальные и клинические исследования показали, что концепция развития атеросклероза, основанная лишь на факте избыточного накопления липидов в интиме, не может полностью объяснить многогранность процессов, происходящих при формировании атеросклеротических бляшек [3]. По мнению ученых, хронический воспалительный процесс в артериальной стенке протекает на фоне нарушения обмена липидов, однако немаловажная роль принадлежит компонентам врожденного и адаптивного иммунитета, что открывает возможности для обнаружения новых методов профилактики и лечения атеросклероза [4].

Согласно этой гипотезе, воспаление в артериях возникает вследствие образования аутоантител на окисленные липопротеины низкой плотности (ЛПНП). В свою очередь, окисленные ЛПНП, как аутоантигены, подлежат фагоцитозу и презентуются дендритными клетками и макрофагами Т-лимфоцитам, вызывая их активацию и размножение [5]. Экспериментально доказано, что развитие иммунной реакции против ЛПНП человека у лабораторных животных сопровождается появлением дислипидемии, атеро-

© Н.С. Трясак, Ю.В. Силкина, 2016

склеротическими повреждениями стенки сосудов, подобных тем, что наблюдаются при атеросклерозе человека.

В связи с тем, что иммунная теория становится все более аргументированной, иммуномодуляция как стратегия профилактики атеросклероза является перспективной. Несмотря на сложность и неоднозначность находок, вскрывающих природу и функции дендритных клеток, их роль в развитии атеросклероза требует дальнейшего изучения.

Материал и методы. Для моделирования атеросклероза лабораторным крысам вводили гетерологичные (человеческие) нативные ЛПНП [5]. Иммунизировали 30 беспородных белых крыс возрастом 8–10 недель. Животные в период эксперимента находились на стандартном корме с относительно низким содержанием жиров. В рацион добавляли рыбкоостную муку. Нативные ЛПНП (ProSpec, США) вводили внутривенно в комплексе с неполным адьювантом Фрейнда однократно в дозе 200 мкг независимо от веса. Ампулу, содержащую нативные ЛПНП, вскрывали в день иммунизации. Группой контроля служили животные, которым вводили неполный адьювант Фрейнда. С 4-й по 20-ю неделю после введения препарата производили забор сердец для исследования стенки венечных сосудов с целью изучения развития атеросклеротического повреждения на доклиническом этапе. Наличие антител против нативных ЛПНП определяли по методу, описанному В.Н. Хлюстовым [6]. Гистологическую обработку ткани проводили по стандартной методике. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином, суданом III. Для идентификации дендритных клеток использовали моноклональные антитела к протеину S-100 (Dako, США) [7].

Результаты и их обсуждение. При макроскопическом исследовании стенки сердца иммунизированных крыс начиная с 12-й недели было выявлено изменение количества жировой ткани в составе наружной его оболочки в области верхушки, что является объективным критерием развития атеросклероза коронарных артерий.

При анализе иммуногистохимически обработанных срезов венечных сосудов на 4-й–6-й неделях после иммунизации отмечались незначительные скопления дендритных клеток в субэндотелиальном слое, связанные с единичными лимфоцитами и макрофагами, которые формировали так на-

зываемую «сосудисто-ассоциированную лимфоидную ткань». Структура стенки артерий мало чем отличалась от таковой группы контроля.

При исследовании интимы венечных артерий на 8-й–10-й неделях после введения нативных ЛПНП наблюдалось постепенное изменение толщины субэндотелиального слоя в сторону увеличения параметра за счет набухания компонентов соединительной ткани, а также нарастающей степени инфильтрации лимфоцитарно-гистиоцитарными элементами, что соответствовало долипидной морфологической стадии атеросклероза. При окраске суданом III в составе внутренней оболочки венечных артерий присутствия интра- и экстрацеллюлярных липидных капель не наблюдалось.

Исследование интимы коронарных артерий на 12-й неделе позволило установить увеличение степени лимфоцитарно-гистиоцитарной инфильтрации, а также толщины интимы не только за счет отека и наличия повышенного содержания лимфоцитов и дендритных клеток, но и за счет появления значительного количества липидных капель как в составе межклеточного вещества, так и в цитоплазме гистиоцитов, что соответствовало липоидозной морфологической стадии атеросклероза.

После 15-й недели наблюдалось локальное нарушение целостности эндотелиальной выстилки коронарных артерий, увеличение количества гладких миоцитов, стирание границы между внутренней и средней оболочками вследствие дезорганизации эластических волокон. Количество гистиоцитов составляло 5–7 клеток на 100 клеток в поле зрения. Большинство из них содержали многочисленные липидные капли. В этот период общее количество клеток, содержащих липидные капли (так называемых пенистых), было значительным.

С 15-й недели до максимального срока эксперимента (20 недель) изменения структуры внутренней оболочки венечных артерий характеризовались увеличением присутствия лимфоцитов, тканевых макрофагов и пенистых клеток, а также явлениями липосклероза (ближе к 20-й неделе).

Таким образом, после иммунизации крыс нативными ЛПНП человека наблюдались стадийные изменения интимы венечных артерий, последовательность которых соответствовала начальным стадиям атеросклероти-

ческого процесса. Специфические изменения наблюдались уже на 12-й неделе в виде лимфоцитарно-гистиоцитарной инфильтрации, увеличения толщины интимы преимущественно за счет значительного количества липидных капель, что соответствовало стадии

липоидоза. В максимальные сроки исследования наблюдались явления липосклероза.

Перспективы дальнейших исследований: планируется изучение ультраструктуры дендритных клеток с определением уровня экспрессии металлопротеиназ.

Литература

1. Бобрышев Ю.В. Дендритные клетки и их роль в иммунных процессах атерогенеза / Ю.В. Бобрышев, В.П. Карагодин, А.Н. Орехов // Цитология. – 2012. – Т. 54, № 11. – С. 793–805.
2. Бобрышев Ю.В. Дендритные клетки и их роль в атеросклерозе / Ю.В. Бобрышев, В.А. Нагорнев // Мед. акад. журнал. – 2009. – Т. 9, № 2. – С. 11–24.
3. Климов А.Н. Методические аспекты этиологии и патогенеза атеросклероза / А.Н. Климов, В.А. Нагорнев // Кардиология. – 1993. – № 2. – С. 5–10.
4. Котюжинская С.Г. Экспериментальное моделирование атеросклероза: перспективы и трудности / С.Г. Котюжинская, А.И. Гоженко // Клиническая и экспериментальная патология. – 2014. – Вып. 1. – С. 178–183.
5. Экспериментальная модель атеросклероза у крыс, вызванного иммунизацией нативными липопротеинами человека / И.В. Меньшиков, К.В. Фомина, Л.В. Бедулева, В.Г. Сергеев // Вестн. Удмурдского ун-та. – 2012. – Вып. 1. – С. 80–86.
6. Бобрышев Ю.В. Дендритные клетки в атерогенезе: идентификация и патофизиологическая значимость / Ю.В. Бобрышев, А.Н. Орехов // Патогенез. – 2013. – Т. 11, № 1. – С. 6–15.
7. Южик Е.И. Медико-биологические аспекты моделирования атеросклеротического процесса / Е.И. Южик, Е.Л. Лушникова // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 10. – С. 176–183.

Н.С. Трясак, Ю.В. Сілкіна

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ АНТИГЕН-ІНДУКОВАНОГО РОЗВИТКУ АТЕРОСКЛЕРОЗУ ВІНЦЕВИХ СУДИН У ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ

Досліджували особливості структури вінцевих судин щурів в умовах антиген-стимульованої моделі атеросклерозу. Тваринам вводили нативні ліпопротеїни низької щільності людини. Дендритні клітини мітили антителами до протеїну S-100. Специфічні зміни в інтимі вінцевих судин спостерігали вже на 12-му тижні у вигляді лімфоцитарно-гістіоцитарної інфільтрації, збільшення товщини інтими переважно за рахунок значної кількості ліпідних крапель, що відповідало стадії ліпоїдозу. У максимальні терміни дослідження спостерігалися явища ліпосклерозу.

Ключові слова: вінцеві судини, розвиток атеросклерозу, ліпосклероз, щури.

N.S. Trysak, Yu.V. Silkina

MORPHOLOGIC FEATURES OF ANTIGEN-INDUCED ATHEROSCLEROSIS OF CORONARY VESSELS IN LABORATORY RATS

The aim of the study was to research the features of coronary arteries structure in laboratory rats in case of antigen-induced atherosclerosis model. All animal was injected by human LPLP. Dendritic cells were marked by antibody to protein S-100. Specific changes of coronary vessels intima were considered on 12 week like lymphocyte-histiocytic infiltration and increase in intimal thickness mainly due to a significant number of lipid droplets, which corresponded to the stage of lipoidosis. The maximum term of the study were characterized by phenomena liposclerosis.

Key words: coronary vessels, evolution of atherosclerosis, liposclerosis, rats.

Поступила 12.05.16