

УДК 616-091.8

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ В ОБЛАСТИ НЕСТАБИЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК КАРОТИДНОГО СИНУСА

Евдокименко А.Н.*ФГБУН «Научный центр неврологии», Москва, e-mail: fortune83@gmail.com*

Проведено гистологическое и электронно-микроскопическое исследование 6 нестабильных атеросклеротических бляшек, удаленных при операции каротидной эндартерэктомии. 2 бляшки были симптомными, 4 – асимптомными. Установлен широкий спектр ультраструктурных изменений эндотелия. Часто встречались дефекты эндотелиального пласта, преобладали гипертрофированные эндотелиоциты с повышенной метаболической активностью, а также признаками гидропической дистрофии различной степени. Доля активированных клеток увеличивалась со снижением количества эластической ткани, с повышением отека и распада волокон в субэндотелиальном слое, объемной доли атероматоза в атеросклеротической бляшке. При этом отмечалось усложнение люминальной и базальной поверхностей клеток вследствие формирования цитоплазматических выростов, гиперплазия гранулярного эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи, повышение количества и размера митохондрий, повышение или снижение количества микропинноцитозных пузырьков с тенденцией к формированию скоплений и мультивезикулярных комплексов, набухание клеток, упрощение и укорочение межэндотелиальных контактов, ослабление связей эндотелиоцитов с подлежащим матриксом. Установлено, что в доля активированных эндотелиоцитов была значимо выше в симптомных бляшках по сравнению с асимптомными.

Ключевые слова: эндотелий, атеросклероз, сонная артерия, ультраструктурное исследование

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF ENDOTHELIUM IN UNSTABLE ATHEROSCLEROTIC PLAQUES OF CAROTID SINUS

Evdokimenko A.N.*Center of Neurology, Moscow, e-mail: fortune83@gmail.com*

6 unstable atherosclerotic plaques obtained from subjects undergoing carotid endarterectomy were examined using light and electron microscopy. There were 2 symptomatic and 4 asymptomatic plaques. A wide range of endothelium ultrastructural changes was established. Deendothelized areas were common, hypertrophied endotheliocytes with increased metabolic activity and features of hydropic degeneration of various degrees predominated. The fraction of activated cells increased with a reduction of elastica quantity, increase of oedema and fiber decomposition in subendothelial layer, volume fraction of atheromatosis in the atherosclerotic plaque. Activated endotheliocytes were characterized of an amplification of luminal and basal surface associated with cytoplasmic processes formation, hyperplasia of rough endoplasmic reticulum and Golgi complex, increase in both the number and the size of mitochondria, increase or decrease in the number of micropinocytotic vesicles with a tendency towards clustering and multivesicular complexes formation, swelling of cells, simplification and shortening of interendothelial junctions, weakening of connections to underlying matrix. It has been established that the fraction of activated endotheliocytes was significantly higher in symptomatic compared to asymptomatic plaques.

Keywords: endothelium, atherosclerosis, carotid artery, ultrastructural study

В настоящее время нарушению функции эндотелия отводится ключевая роль в развитии атеросклероза, поскольку он принимает активное участие в многочисленных процессах, вовлеченных в его патогенез, включая поддержание тонуса сосуда и атромбогенности сосудистой стенки, систему гемостаза, воспаление, контроль пролиферации гладких миоцитов и образования сосудов в атеросклеротической бляшке, проницаемость сосудистой стенки. Ross и Glomset предположили, что в основе развития атеросклероза в рамках гипотезы «ответа на повреждение» лежит выраженное повреждение структуры эндотелия [18]. Однако в последующих исследованиях на экспериментальных моделях атеросклероза, а также в исследованиях атеросклеротических бляшек у людей не удалось документально доказать данное

предположение. На текущий момент мнения ученых сходятся на том, что развитию и прогрессированию атеросклероза способствует не столько структурные изменения эндотелия, сколько нарушение его функции [9,13]. Наиболее распространенными методами количественного определения степени эндотелиальной дисфункции являются молекулярно-биологические и биохимические методы, использующиеся для измерения продукции молекул адгезии и провоспалительных медиаторов [24,27], а также нарушения регуляции системы синтазы оксида азота [17]. Однако указанные методы, как правило, требуют выделения и последующего разрушения эндотелиоцитов, в результате чего утрачиваются данные по морфологии и топографическому распределению изменений эндотелия. Результаты измерения маркеров эндотелиальной дисфункции

в периферической крови предоставляют общую информацию о состоянии эндотелия в сосудистом русле в целом и требуют проведения сопоставления с морфологическими данными для наиболее точного установления их пороговых величин. В последние годы широкое распространение получило изучение уровня циркулирующих в крови эндотелиальных клеток и эндотелиальных микрочастиц в качестве биомаркеров эндотелиальной дисфункции и риска развития острых сердечно-сосудистых нарушений [20,22], однако механизмы их формирования и высвобождения изучены недостаточно. Несмотря на столь широкое освещение эндотелиальной дисфункции в клинической практике, на биохимическом и молекулярном уровнях, имеется весьма ограниченное количество данных по структурным изменениям эндотелия при атеросклерозе у людей, что определяет актуальность дальнейшего всестороннего исследования эндотелия, особенно его ультраструктурной патологии.

Материалы и методы исследования

Материалом исследования послужили 6 биоптатов – фрагментов стенки общей и внутренней сонных артерий с атеросклеротическими бляшками в них, удаленных при операции каротидной эндартерэктомии у 6 пациентов со стенозирующим атеросклерозом каротидного синуса. После иссечения все биоптаты немедленно помещали в фиксирующий раствор (18-20°C) – 2,5% раствор глутарового альдегида на фосфатном буфере. Через 1 час фиксации каждый биоптат разрезали на поперечные блоки толщиной 3-5мм. Для световой микроскопии брали 1-2 блока из проксимальной, дистальной частей биоптата, из области максимального атеростеноза и пограничных с бляшкой участков сосуда. Данные блоки фиксировали в 10% растворе формалина в течение 1 суток, обезживали, заливали в парафин и изготавливали гистологические срезы толщиной 4-5мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по методам ван Гизона и Вейгерта для определения гистологической структуры атеросклеротической бляшки. Для ультраструктурного анализа брали 1-2 поперечных среза биоптата, соседних с таковыми, взятыми для гистологического исследования. Из данных поперечных срезов вырезали 2-5 прямоугольных блока с размерами сторон 0,2-0,4 см, которые дополнительно фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере в течение 2-3 часов, после чего промывали в фосфатном буфере 30 минут, обрабатывали 1%-м раствором OsO₄ на фосфатном буферном растворе (рН 7,35) 1-1,5 часа и подвергали обезвоживанию в спиртах возрастающей концентрации (30, 50, 70, 80, 96% и абсолютный спирт) и пропиленоксиде. Заливку проводили в смесь эпоксидных смол (Epon 812, Epon DDSA и Epon MNA). Блоки выдерживали в течение 1-2 суток в термостате при температуре 37°C и 1 сутки – при температуре 60°C. Полутонкие и ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме LKB III-8800 (Швеция). Полутонкие срезы толщиной до 1мкм окрашивали метиленовым синим или толудиновым синим, и они служили для оценки

эндотелия и субэндотелиального слоя. С выбранного на полутонких срезах участка приготавливали ультратонкие срезы, которые окрашивали уранил-ацетатом и цитратом свинца и анализировали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония).

Количественную оценку объемной доли компонентов атеросклеротической бляшки на гистологических срезах проводили точечным методом с наложением сетки [1]. Оценка ультраструктурных изменений эндотелиоцитов, степени отека и компонентов субэндотелиального слоя осуществляли полуколичественным методом с применением шкалы 0-5, где 0 – отсутствие компонента, 5 – компонент занимает более 80% объема. Статистическую обработку данных с оценкой достоверности различий проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, достоверность корреляционных связей проверяли с использованием коэффициента корреляции Спирмана в программе StatSoft Statistica версии 10.0 (США) при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

2 пациента из 6 ранее перенесли нарушение мозгового кровообращения в бассейне соответствующей внутренней сонной артерии, у 4 пациентов бляшки были «асимптомными». Преобладающим компонентом 1 бляшки являлся атероматоз с кристаллами холестерина, который занимал до половины ее объема. В 2х бляшках наряду с крупными очагами атероматоза (до 40% объема) выявлялись многочисленные крупные, мелкие и пылевидные кальцификаты, распространенные на некоторых участках практически на всю толщу бляшки и занимавшие в одной из них суммарно до трети объема. 2 бляшки являлись фиброзными и содержали большое количество сосудов, в 1 из них также обнаруживались небольшие очаги атероматоза и мелкие кальцификаты. 1 бляшка была фиброзно-кальцинозной (крупные, мелкие и пылевидные кальцификаты занимали до трети ее объема). Во всех бляшках выявлялся 1 или несколько признаков, свидетельствующих об их «нестабильности»: изъязвление покрышки в области атероматоза, резкое истончение покрышки до нескольких коллагеновых волокон в области расположения атероматоза и крупных кальцификатов, большое скопление тонкостенных сосудов в поверхностных отделах с плазматическим пропитыванием окружающей ткани и признаками старых кровоизлияний, массивная инфильтрация покрышки липофагами, лейкоцитами, резкий отек поверхностных отделов с разрыхлением и деструкцией соединительнотканых волокон, липидная инфильтрация покрышки. Атеростеноз составлял от 50% до 90%.

При электронно-микроскопическом исследовании обнаружено значительное разнообразие изменений эндотелия как в об-

ласти различных частей самой бляшки, так и в пограничных с ней участках артерии. В 96 % полутонких срезов выявлялось от 1 до 4 дефектов эндотелиального пласта размером от нескольких клеток до 3,45мм, в области которых часто располагались фрагменты эндотелиоцитов, эритроциты или микротромбы (рис. 1). На минимально измененных участках артерии (проксимальные и дистальные отделы бляшки и пограничные с бляшкой участки стенки), где толщина интимы не превышала 0,5 мм, также обнаружены дефекты пласта, достигавшие 1,48 мм, местами с формированием «микроэрозий», когда наряду с эндотелием отсутствовал фрагмент субэндотелиального слоя с выпадением фибрина и скоплением эритроцитов в этой области (рис. 1б). При этом значимые различия в размере или количестве дефектов эндотелия между участками выраженных и минимальных изменений, а также в области симптомных и асимптомных бляшек отсутствовали ($p > 0,44$).

Эндотелиальный пласт был очень неоднородным – отмечено значительное разнообразие размера, формы, плотности цитоплазмы и ядер эндотелиоцитов, на основании чего было выделено 3 основных типа эндотелиоцитов. В первую группу вошли темные клетки уплощенной формы с ровной поверхностью, плотность цитоплазмы которых примерно совпадала с плотностью ядра, что затрудняло диффе-

ренцировку ядра и цитоплазмы на полутонком срезе (рис. 2а,б).

При ультраструктурном анализе в указанных клетках обнаруживалось небольшое количество органелл – преимущественно немногочисленные мелкие митохондрии, умеренно или слабо развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум (гЭПР) с равномерным расположением прикреплённых рибосом, отдельными несколько расширенными цистернами. Цитоплазма имела среднюю электронную плотность, в ряде клеток вдоль люминальной поверхности плотность была увеличена – довольно часто в таких областях наблюдалось скопление микропиноцитозных везикул (рисунок 3а). Ядра имели среднюю плотность и несколько зазубренный контур, содержали большое количество конденсированного хроматина, который располагался в виде широкой полосы вдоль ядерной мембраны и в виде глыбок в кариоплазме. Межэндотелиальные контакты были преимущественно извитые с широкими зонами слипания. Корреляционный анализ продемонстрировал, что количество эндотелиоцитов данного типа увеличивалось с повышением количества эластических волокон и аморфного эластина в субэндотелиальном слое, а также уменьшалось с увеличением размера дефекта пласта ($p < 0,05$). Кроме того, их количество в асимптомных бляшках было значимо выше, чем в симптомных ($p = 0,031$).

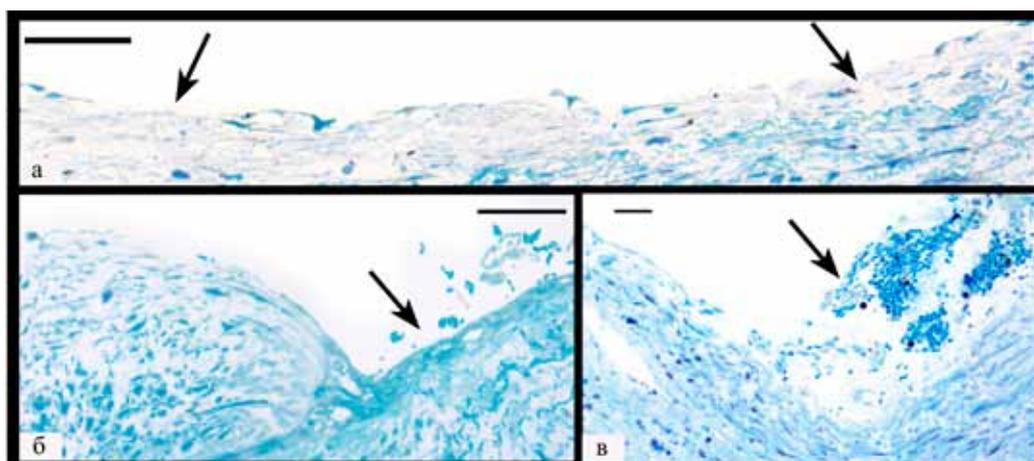


Рис. 1. Очаги нарушения целостности эндотелиального пласта. Окраска метиленовым синим, линия равна 50 мкм:

а – множественные небольшие дефекты эндотелия (указаны стрелками); б – микроэрозия (отсутствует эндотелий и часть субэндотелиального слоя) с наложениями фибрина и скоплением эритроцитов (указана стрелкой); в – пристеночный тромб в области дефекта эндотелия (указан стрелкой)

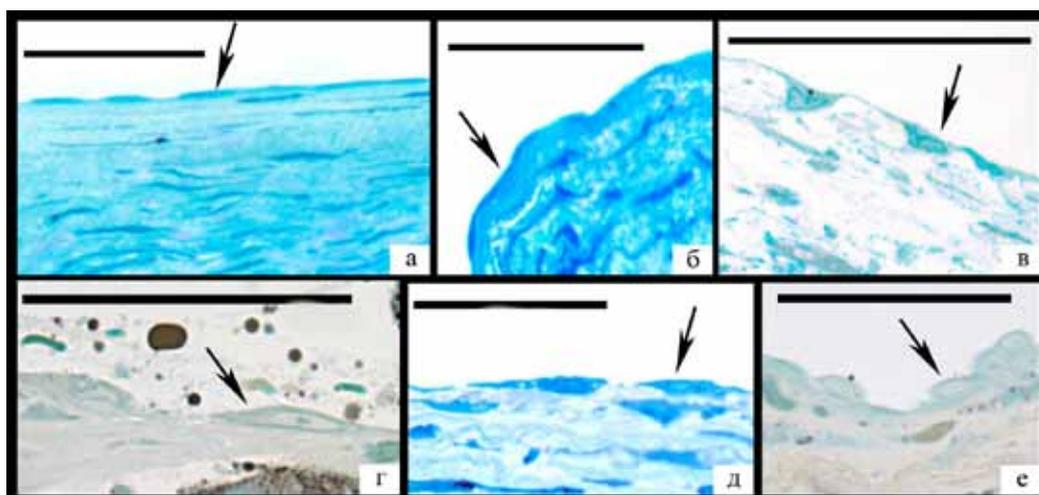


Рис. 2. Различные типы эндотелиальных клеток (указаны стрелками), линия равна 50 мкм: а, б – темные уплотненные клетки; в, г, д – увеличенные в размере эндотелиоциты неправильной формы с просветленным ядром, имеющим подчеркнутый контур и хорошо различимое ядрышко; е – резко набухшие эндотелиоциты с пузырьковидным ядром и высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением.

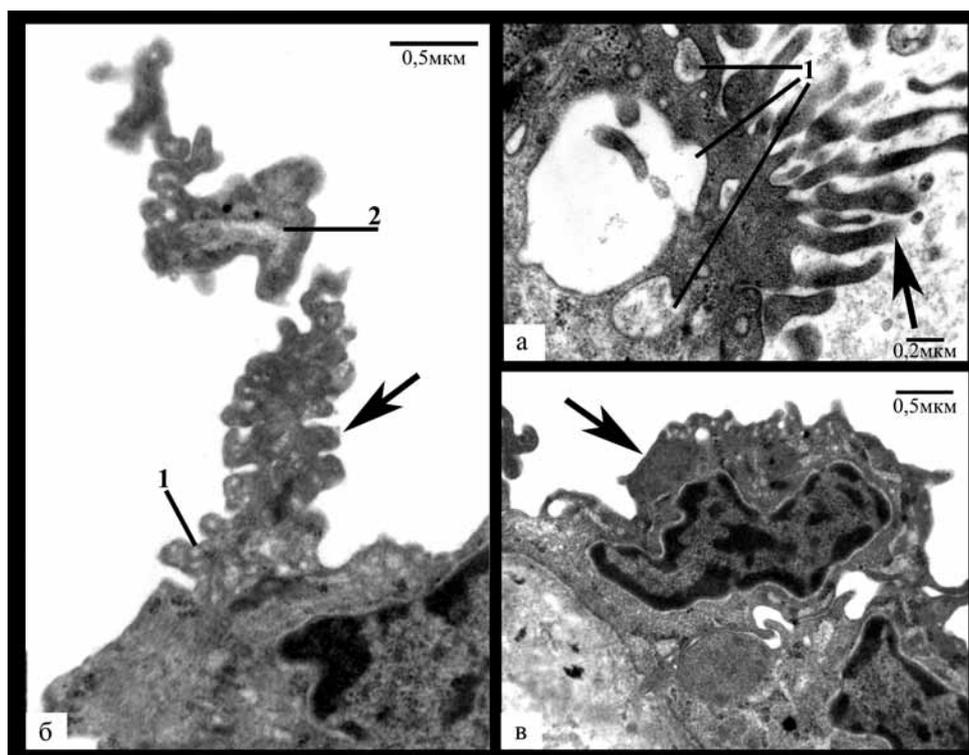


Рис. 3. Ультраструктурные изменения эндотелиоцитов: а – эндотелиоцит уплощенной формы с плотным расположением цитоплазматических филаментов и скоплением микропиноцитозных везикул по люминальной поверхности (указано стрелкой); б – мультивезикулярные комплексы (указаны стрелкой); в – расширенные цистерны аппарата Гольджи с деструкцией мембран (указано стрелкой); г – резко расширенная цистерна гЭПР с нарушением целостности мембраны и немногочисленными прикрепленными рибосомами; д – расширенные цистерны гЭПР (1) с неравномерно расположенными на мембране прикрепленными рибосомами, между которыми находятся многочисленные митохондрии (2) в вакуолях; е – резко разрыхленный хроматин в ядре, очень низкая плотность расположения цитоплазматических филаментов, расширенная цистерна гЭПР и небольшие дефекты плазматической мембраны (указан стрелкой)

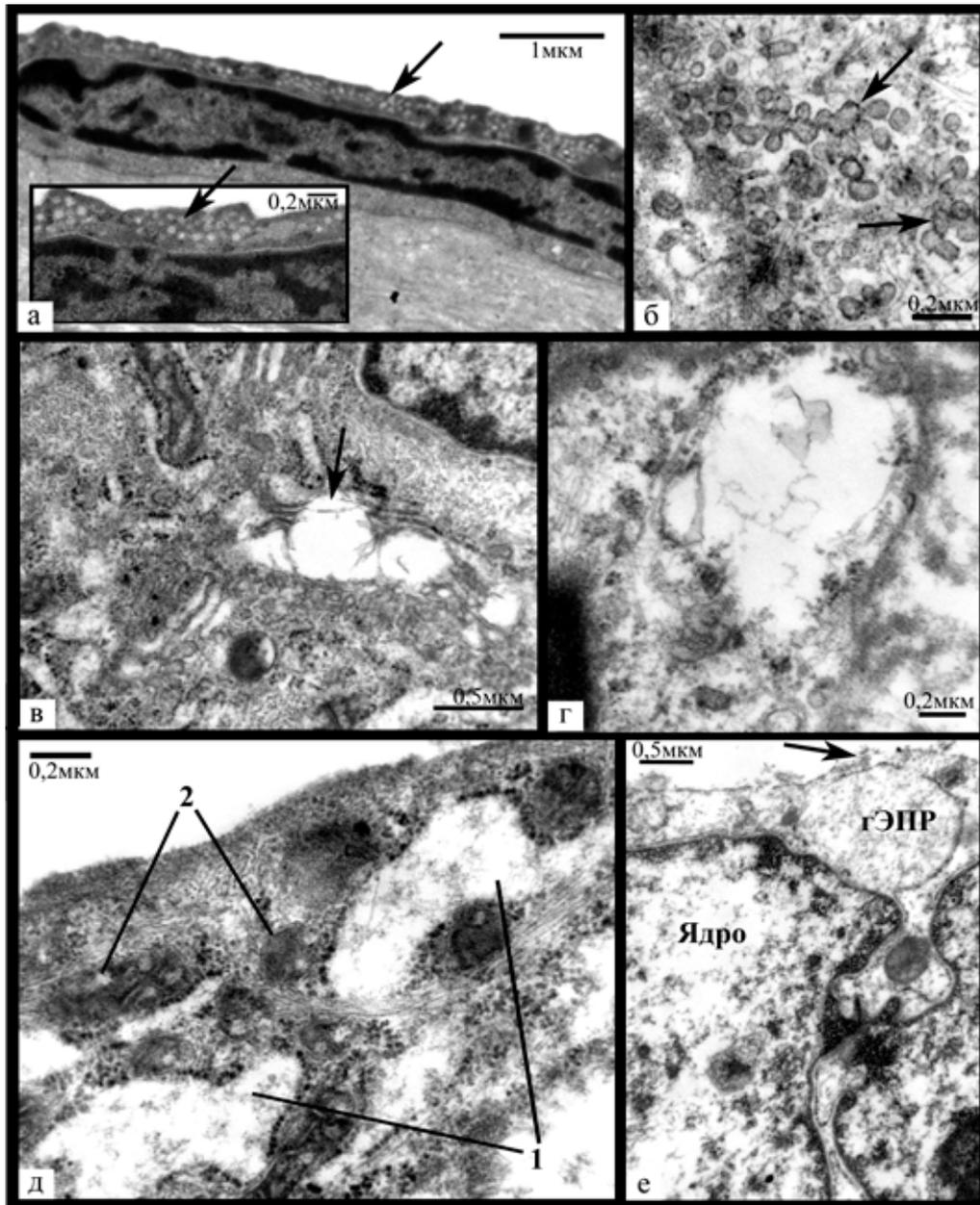


Рис. 4. Увеличение базальной поверхности (1) эндотелиоцита со снижением плотности расположения цитоплазматических филаментов в этой области (вкладка), небольшие формирующие вакуоли (2) выросты цитоплазмы в просвет артерии, гиперплазия аппарата Гольджи (3) и скопление телец Вейбеля Палладе (4) (вкладка)

Вторая группа была наиболее многочисленной и ее составили увеличенные в размере эндотелиоциты, как правило, неправильной, реже веретеновидной формы с увеличенным просветленным ядром и хорошо выраженным в большинстве клеток ядрышком, цитоплазма которых часто имела неоднородную плотность (рис. 2в,г,д). Поверхность эндотелиоцитов была в основном неровной за счет образования выростов

цитоплазмы. По базальной поверхности выросты в подавляющем большинстве случаев имели широкое основание и разную длину, увеличивая поперечный размер эндотелиоцита до 2 и более раз (рис. 4). В этой области наблюдалось снижение плотности расположения цитоплазматических филаментов вплоть до полного отсутствия. При этом установлена прямая зависимость между размером базальной поверхности, выра-

женностью отека субэндотелиального слоя и объемом атероматоза в бляшке ($p < 0,05$). По люминальной поверхности преимущественно обнаруживались тонкие пальцевидные выросты разной длины, которые часто формировали вакуоли (рис/ 5а). В ряде клеток наблюдались длинные разветвленные или массивные ядросодержащие выросты цитоплазмы в просвет артерии (рис. 5б,в).

Количество транспортных везикул варьировало, однако преимущественно они распределялись неравномерно и проявляли склонность к формированию скоплений. В ряде клеток их количество было резко снижено. Довольно часто обнаруживалось слияние везикул с образованием мультивезикулярных комплексов из 3-9 везикул разного размера (рис. 3б). Также выявлена различная степень гиперплазии гЭПР и аппарата Гольджи с частым расширением цистерн (рис. 3д) и участками деструкции мембран (рис. 3в,г), повышение количества и размера митохондрий и количества полисом. Как правило отмечалось неравномерное распределение прикрепленных рибосом

на мембранах гЭПР с уменьшением их количества. Митохондрии имели средний или мелкий размер и располагались чаще всего вблизи цистерн гЭПР (см. рис. 3д). Преобладали митохондрии с различной степенью равномерного уплотнения матрикса, реже в них встречались участки просветления, вакуоли, гомогенизация внутреннего содержимого с его неравномерным уплотнением. Ядра в большинстве случаев имели ровный или незначительно извитой контур, эухроматин был разрыхлен, гетерохроматин был представлен узкой полоской вдоль ядерной мембраны. В основном встречались слабо извитые или щелевидные межэндотелиальные контакты с небольшими зонами или точками слипания, нередко обнаруживались зоны расхождения контактных поверхностей с формированием вакуолей и щелей. Помимо этого выявлялись и немногочисленные сильно извитые соединения, а также участки формирования дополнительных контактных областей за счет пальцевидных выростов цитоплазмы с люминальной или базальной сторон.

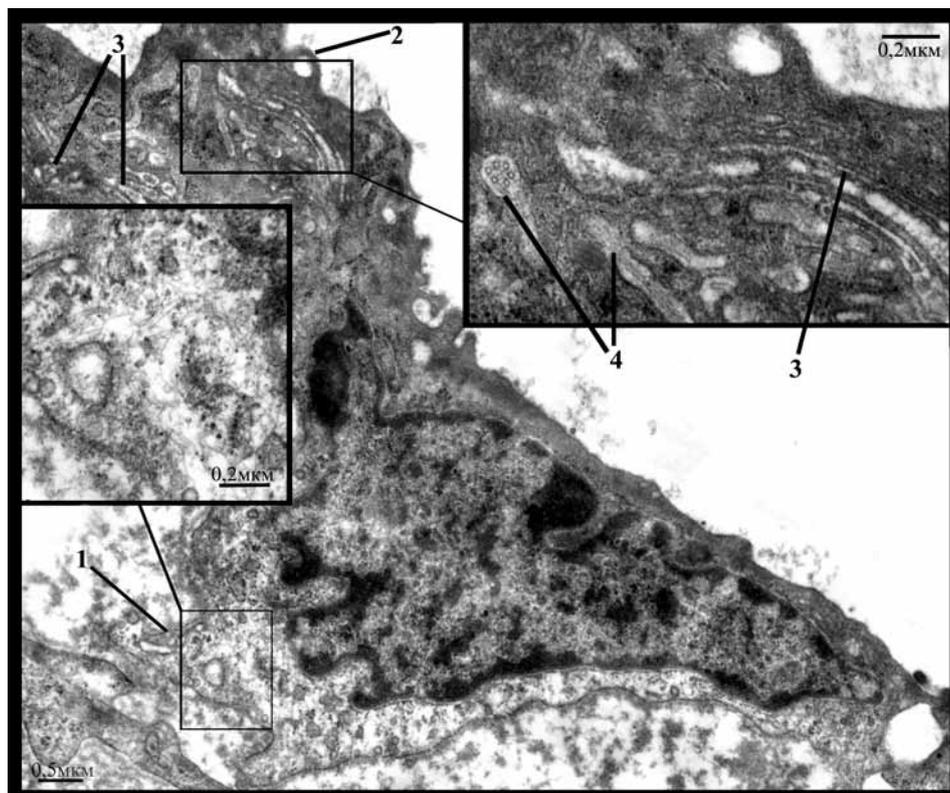


Рис. 5. Увеличение люминальной поверхности эндотелиоцитов (указаны стрелками): а – многочисленные пальцевидные выросты, формирующие вакуоли (1); б – вырост цитоплазмы в просвет артерии, содержащий везикулы (1) и цистерны гЭПР (2); в – ядросодержащие выросты

Третью группу составили очень светлые увеличенные эндотелиоциты с пузырьковым ядром и, как правило, высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением (рисунок 2е). Они обнаруживались преимущественно вблизи или в пределах дефектов эндотелиального пласта, при этом наблюдалась прямая зависимость между их количеством и размером дефекта пласта ($R=0,523$, $p<0,05$). Цитоплазма клеток имела очень низкую электронную плотность, нередко определялись крупные участки цитоплазмы, лишенные органелл и цитоплазматических филаментов, часто обнаруживались дефекты плазматической мембраны, хроматин был резко разрыхлен (рисунок 3е), в основном представлен разреженным хлопьевидным материалом. Органеллы были немногочисленны – в основном расширенные цистерны гЭПР с очагами деструкции мембран, набухшие митохондрии с лизированными кристами или митохондрии с различной степенью конденсации матрикса.

Обсуждение. В проведенном исследовании продемонстрировано значительное повреждение эндотелия в области нестабильных атеросклеротических бляшек каротидного синуса с частым выявлением дефектов эндотелиального пласта, что подтверждает результаты исследования с использованием сканирующей электронной микроскопии [5]. Обратило на себя внимание нередкое нарушение целостности пласта в области минимальных атеросклеротических изменений и пограничных с бляшкой визуально не измененных участках сосуда, а также отсутствие различий в размере деэндотелизированных очагов между участками выраженных и минимальных изменений. Выявленные изменения могут быть связаны с нарушением ламинарного потока крови, появлением зон турбулентности, обратного тока и изменением напряжения сдвига в краевых отделах бляшки [15,28]. Доказано, что гемодинамические характеристики определяют местоположение повреждений и вносят значительный вклад в патогенез атеросклероза [14,26]. Нарушение потока крови изменяет профиль секретируемых эндотелием веществ и экспрессируемых молекул в провоспалительном, прокоагулянтном направлении, активирует апоптоз эндотелиоцитов, увеличивает скорость их обновления [6,10,11]. Признаков апоптоза эндотелиоцитов вблизи или в области дефектов в настоящем исследовании обнаружено не было. Напротив, в этих участках выявлялись преимущественно отечные клетки с резко выраженными дистрофическими изменениями, признаками нарушения биоэнергетической функции и повышения про-

ницаемости плазматической мембраны или подвергающиеся деструкции по типу колликвационного некроза.

Сохраненный эндотелиальный пласт был весьма неоднородным. Преобладали гипертрофированные клетки неправильной формы с признаками стимуляции биосинтеза белка и повышенного энергопотребления, о чем свидетельствовала гиперплазия гЭПР, пластинчатого комплекса, повышение количества полисом, количества и размера митохондрий. Сходные изменения эндотелиоцитов наблюдались на экспериментальных моделях атеросклероза [23], а также при атеросклерозе у людей [4,19]. Согласно данным литературы, такого типа клетки, часто имеющие кубическую форму, могут представлять популяцию «активированных» эндотелиоцитов, демонстрирующих не только протромботический фенотип, на что указывало повышенное содержание фактора фон Виллебранда [4], но также провоспалительный фенотип, о чем свидетельствовал повышенный уровень активированного нуклеарного фактора каппа-В и повышенная экспрессия молекул адгезии [3]. Дополнительный довод в подтверждение того, что кубическая форма эндотелиоцитов отражает провоспалительный и протромботический фенотип, был получен на общепринятой гиперхолестеринемической модели атеросклероза на кроликах [12]. Авторы обнаружили, что по мере нарастания эндотелиальной дисфункции увеличивалось количество кубических клеток, которые через 1 месяц после отмены холестерина снова меняли форму с кубической на уплощенную. В связи с последним можно предположить, что гипертрофические изменения эндотелиальных клеток могут представлять и адаптивный клеточный ответ, вызванный их повреждением.

Кубическая форма эндотелиальных клеток в проведенном исследовании являлась не самой распространенной – преобладали клетки неправильной, амебовидной формы, хотя четких различий в их ультраструктурной организации не наблюдалось. Все клетки отличались повышенной метаболической активностью, различалась лишь ее степень и выраженность дистрофических изменений. Форма клеток как таковая в основном определялась характером базальной поверхности эндотелиоцитов – в большинстве клеток она была сильно увеличена за счет многочисленных выростов цитоплазмы на широком основании, причем степень увеличения площади поверхности коррелировала с выраженностью отека субэндотелиального слоя и объемом атероматоза в бляшке. Сходные результаты были полу-

чены на экспериментальной модели атеросклероза – отмечено увеличение базальной поверхности по мере накопления липидов и пенистых клеток в интима, отека и разрушения субэндотелиального слоя [23]. Авторы предполагали, что данный феномен направлен на укрепление связи эндотелиоцитов с межклеточным матриксом и внутренней эластической мембраной, учитывая повышенную плотность цитоплазматических филаментов в области выростов. В настоящем исследовании, напротив, плотность расположения филаментов в этой области была снижена, причем ее снижение было пропорционально степени выраженности отека и распада волокон в субэндотелиальном пространстве. Данный феномен может обуславливать утрату контактов эндотелиоцитов с подлежащим веществом, способствуя их слущиванию, и, как следствие, повысить уровень циркулирующих эндотелиальных клеток в крови, который, согласно литературным данным, коррелирует с величиной комплекса интима-медиа в сонной артерии, может непосредственно отражать степень повреждения сосуда и являться независимым прогностическим показателем риска развития инфаркта головного мозга [7]. Косвенным доказательством данного предположения могут служить периодами обнаруживаемые частично слущенные с поверхности и находящиеся в просвете артерии эндотелиоциты.

Люминальная поверхность многих клеток также претерпевала значительные изменения вследствие образования пальцевидных выростов, что согласовалось с данными сканирующей электронной микроскопии [25]. Наличие выростов на поверхности эндотелиоцитов может служить мембранным резервом для предотвращения любого повышения давления на мембрану при изменении гидродинамических параметров [21]. Это также может отражать повышенную проницаемость эндотелия вследствие активации неспецифического эндо-/экзоцитоза, в пользу чего свидетельствовали различные этапы формирования вакуолей пальцевидными выростами, а также повышение в цитоплазме количества крупных вакуолей, содержимое которых было сходным по составу с фибриллярным или хлопьевидным материалом, находящимся в субэндотелиальном слое или в просвете артерии. В дополнение, на повышение проницаемости эндотелия также указывает часто выявлявшееся слияние микропиноцитозных везикул в гроздь или розетки, что может считаться признаком усиления транспорта макромолекул через стенку сосуда [2]. Так, выросты цитоплазмы эндотелиоцитов в просвет

артерии также обнаруживались в областях повышенной проницаемости аорты, выявляемых с использованием красителя синего Эванса [8]. Эндотелиоциты в данных участках были увеличены в размере, имели хорошо развитый гЭПР, межэндотелиальные контакты упрощались и укорачивались, часто встречались контакты «конец в конец», их расширение с образованием вакуолей, что также было характерно для эндотелиоцитов с повышенной метаболической активностью в настоящем исследовании. Кроме того, выросты цитоплазмы по люминальной поверхности эндотелиоцитов по типу микроворсинок или более крупных выростов могут служить источником циркулирующих эндотелиальных микрочастиц, уровень которых, по данным литературы, повышается у пациентов с симптомными атеросклеротическими бляшками в сонной артерии [20] и инсультом [22]. Данные частицы несут на своей поверхности антигены и рецепторы исходной клетки и таким образом способны активировать клетки-мишени, изменять их фенотип и функцию [16].

Реже всего встречались уплощенные клетки с низким уровнем обменных процессов, а именно со слабым развитием гЭПР, аппарата Гольджи, немногочисленными органеллами, в том числе малым количеством небольших митохондрий, большим количеством гетерохроматина. Данные «неактивные» клетки или клетки со слабой метаболической активностью преимущественно располагались в областях с большим количеством эластических волокон и аморфного эластина в субэндотелиальном пространстве, и их количество резко снижалось с усилением дестабилизирующих структуру бляшки деструктивных процессов параллельно с увеличением доли «активированных» клеток. На основании этого можно предположить, что данный тип клеток может быть показателем стабильности структуры бляшки, в пользу чего также свидетельствует значимо меньшее их количество в симптомных атеросклеротических бляшках с изъязвлением поверхности в области атероматоза.

Границы между тремя основными выделенными типами эндотелиоцитов были несколько стертыми – так, в ряде темных клеток отмечалось повышение объемной доли гЭПР, количества и размера митохондрий, просветление цитоплазмы, ядра, упрощение межэндотелиальных контактов. В активированных клетках нередко наблюдались признаки нарушения внутриклеточных обменных процессов в виде участков деструкции мембран и расширения цистерн аппарата Гольджи, гЭПР со снижением ко-

личества и неравномерным расположением прикрепленных рибосом, набухание митохондрий с лизисом крист, вакуолизация и конденсация межмембранного пространства митохондрий. Ядра ряда клеток были набухшими, цитоплазма сильно просветлена. Крайняя степень изменений обнаруживалась в отечных клетках третьего типа. На основании этого можно предположить, что указанные типы клеток представляют лишь последовательные стадии одного процесса – под действием различных стимулов происходит повышение метаболической активности эндотелиоцита с его гипертрофией в качестве приспособительной реакции. В случае исчезновения или снижения интенсивности стимулов клетка возвращается в исходное «неактивное» состояние. Если же стимулы не исчезают, по мере истощения адаптивных возможностей в эндотелиоците появляются дистрофические изменения, которые в определенный момент становятся необратимыми, и клетка подвергается некрозу.

Заключение

Таким образом, проведенное исследование свидетельствует о значительных ультраструктурных изменениях эндотелия сонных артерий при атеросклерозе, что может отражаться в его дисфункции, выявляемой в клинических условиях. Обнаруженные многочисленные и разнообразные изменения не ограничивались только областью атеросклеротической бляшки, распространяясь и на пограничные с ней участки артерии, и в наибольшей степени проявлялись в симптомных бляшках. Ряд изменений может лежать в основе повышения уровня циркулирующих эндотелиоцитов и эндотелиальных микрочастиц в крови по мере прогрессирования атеросклероза и усиления дестабилизирующих структуру бляшки процессов. Для установления патогенеза этих изменений необходимы дальнейшие морфологические исследования с использованием как электронной микроскопии, так и иммуногистохимии, а также клинко-биохимических и морфологических сопоставлений.

Список литературы

1. Автандилов. Основы количественной патологической анатомии. – М: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Нагорнев В.А., Яковлева О.А. Микроциркуляция липопротеидов низкой плотности через эндотелий в норме и при атеросклерозе // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2002. – Т.1, №. 1. – С. 14-19.
3. Brand K, Page S, Rogler G et al. Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion // J Clin Invest. – 1996. – Vol. 97, № 7. – P. 1715-1722.
4. Burring K.F. The endothelium of advanced arteriosclerotic plaques in humans // Arterioscler Thromb. – 1991. – Vol. 11, № 6. – P. 1678-1689.
5. Congiu T. et al. Scanning electron microscopy examination of endothelium morphology in human carotid plaques // Micron. – 2010. – Vol. 41, № 5. – P. 532-536.
6. Davies P.F. et al. Turbulent fluid shear stress induces vascular endothelial cell turnover in vivo // Proc Natl Acad Sci. – 1986. – Vol. 83. – P. 2114-2117.
7. Gao Y. et al. Circulating endothelial cells as potential markers of atherosclerosis // Can J Neurol Sci. – 2008. – Vol. 35, № 5. – P. 638-642.
8. Gerrity R.G. et al. Endothelial cell morphology in Areas of In Vivo Evans Blue Uptake in the Aorta of Young Pigs. I. Ultrastructure of the Intima in Areas of Differing Permeability to Proteins// American Journal of Pathology – 1974. – Vol. 21, № 1. – P. 102-117.
9. Gimbrone M.A. Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherosclerosis// Thromb Haemost. – 1999. – Vol. 82, № 2. – P. 722-726.
10. Heo K.S. et al. De-SUMOylation enzyme of sentrin/SUMO-specific protease 2 regulates disturbed flow-induced SUMOylation of ERK5 and p53 that leads to endothelial dysfunction and atherosclerosis // Circ. Res. – 2013. – Vol. 112, № 6. – P. 911-923.
11. Heo K.S. et al. PKCzeta mediates disturbed flow-induced endothelial apoptosis via p53 SUMOylation // J. Cell Biol. – 2011b. – Vol. 193, № 5. – P. 867-884.
12. Kockx M.M. et al. Cell composition, replication, and apoptosis in atherosclerotic plaques after 6 months of cholesterol withdrawal// Circ Res. – 1998. – Vol. 83, № 4. – P. 378-387.
13. Landmesser U., Drexler H. The clinical significance of endothelial dysfunction// Curr. Opin. Cardiol. – 2005. – Vol. 20, № 6. – P. 547-551.
14. Malek A.M., Alper S.L., Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis // JAMA. – 1999. – Vol. 282, № 21. – P. 2035-2042.
15. Martin D. et al. Analysis of haemodynamic factors involved in carotid atherosclerosis using computational fluid dynamics // The British Journal of Radiology. – 2009. – Vol. 82. – P. 33-38.
16. Mause S.F., Weber C. Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange // Circulation Research. – 2010. – Vol.107., № 9. – P. 1047-1057.
17. Perrotta I. et al. Inducible and endothelial nitric oxide synthase expression in human atherogenesis: an immunohistochemical and ultrastructural study // Cardiovasc. Pathol. – 2008. – Vol. 18, № 6. – P. 361-368.
18. Ross R., Glomset J., Harker L. Response to injury and atherogenesis // Am J Pathol. – 1977. – Vol. 86, № 3. – P. 675-684.
19. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s // Nature. – 1993. – Vol. 362, № 6423. – P. 801-809.
20. Schiro A. et al. Endothelial microparticles as conveyors of information in atherosclerotic disease // Atherosclerosis. – 2014. – Vol. 234, № 2. – P. 295-302.
21. Sheetz M.P., Dai J. Modulation of membrane dynamics and cell motility by membrane tension // Trends Cell Biol. – 1996. – Vol. 6, № 3. – P. 85-89.
22. Simak J. et al. Circulating endothelial microparticles in acute ischemic stroke: a link to severity, lesion volume and outcome // J Thromb Haemost JTH. – 2006. – Vol. 4, № 6. – P. 1296-1302.
23. Taylor K.E., Glagov S., Zarins C.K. Preservation and structural adaptation of endothelium over experimental foam cell lesions. Quantitative ultrastructural study // Arteriosclerosis. – 1989. – Vol. 9, № 6. – P. 881-894.
24. True A.L., Rahman A., Malik B. Activation of NF-kappaB induced by H(2)O(2) and TNF-alpha and its effects on ICAM-1 expression in endothelial cells // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. – 2000. – Vol. 279, № 2. – P. L302-L311.
25. Walski M. et al. Ultrastructural alterations of endothelium covering advanced atherosclerotic plaque in human carotid artery visualised by scanning electron microscope// J Physiol Pharmacol. – 2002 – Vol. 53., № 4., Pt 1. – P. 713-723.
26. Wootton D.M., Ku D.N. Fluid mechanics of vascular systems, diseases, and thrombosis // Annu Rev Biomed Eng. – 1999. – Vol. 1. – P. 299-329.
27. Zhang C. The role of inflammatory cytokines in endothelial dysfunction // Basic Res. Cardiol. – 2008. – Vol.103, № 5. – P. 398-406.
28. Zand T. et al. Endothelial adaptations in aortic stenosis. Correlation with flow parameters // Am J Pathol. – 1988. – Vol. 133, № 2. – P. 407-418.