

Р.Ф. Абуталіпов
О.М. Ломаковський
М.І. Лутай

ДУ «ННЦ «Інститут кардіології
 ім. М.Д. Стражеска»
 НАМН України», Київ

Ключові слова:

атеросклероз, коронарні
 артерії, інтима, клітинна
 запальна інфільтрація

ОСОБЛИВОСТІ ЗАПАЛЬНОЇ КЛІТИННОЇ ІНФІЛЬТРАЦІЇ ІНТИМИ КОРОНАРНИХ АРТЕРІЙ ПРИ ПОЧАТКОВИХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧНИХ УРАЖЕННЯХ

Мета роботи — вивчення участі клітин запалення в атерогенезі на основі оцінки розповсюдженості та вираженості запальної клітинної інфільтрації в інтимі коронарних артерій при початкових атеросклеротичних ураженнях. Дослідження проведено на аутопсійному матеріалі 193 сегментів коронарних артерій пацієнтів чоловічої статі, які померли від різних форм ішемічної хвороби серця у віці 35–74 років. Встановлено, що структурно-метаболичні зміни ендотелію виявляють вже при відносно інтактних коронарних артеріях. Імунне запалення наявне при самих ранніх проявах атеросклеротичного ураження коронарних судин. Інтенсивність запальної клітинної інфільтрації інтимі прямо пов'язана з вираженістю атеросклеротичного ураження коронарних артерій. Слабка і помірна клітинна інфільтрація лімфоцитами/макрофагами спостерігається у 33% випадків і типу атеросклеротичного ураження. В ділянці ліпідних плям (II тип) — у 71%, а при III типі — у 83% випадків має місце інтенсивна і помірна запальна клітинна інфільтрація. У складі клітинної інфільтрації початкових проявів атеросклерозу коронарних судин лімфоцити переважають у 45%, а макрофаги/моноцити — лише у 17% випадків. Прогресування початкових форм атеросклерозу супроводжується зростанням концентрації в інтимі тучних клітин.

ВСТУП

Запалення, спричинене будь-яким подразником, є основною складовою функції імунної системи (Nathan C., 2002). Гострий запальний процес характеризується швидкою міграцією гранулоцитів (нейтрофілів, еозинофілів, базофілів) до запального вогнища. Міграція гранулоцитів до запального вогнища є необхідною умовою для нейтралізації та видалення чужорідних речовин. Завершення запалення відбувається шляхом усунення гранулоцитів і повернення мононуклеарних клітин (макрофагів (Мф) і лімфоцитів (Лц)) до вихідних рівнів (Serhan C.N. et al., 2007). Для ефективного завершення запалення має відбуватися припинення прозапальних сигналів. Під час спонтанного завершення запалення нейтрофіли і Мф підлягають апоптозу (Savill J.S. et al., 1989a; b). Процес завершення запалення активний і регулюється біохімічними і клітинними механізмами. Обмеження гострої запальної реакції зазвичай приводить до відновлення тканин і повернення тканинного гомеостазу. Стійкі запальні стимули або порушення регуляції механізмів запалення призводять до розвитку хронічного запалення, що визнано ключовим фактором прогресії ряду захворювань, в тому числі атеросклерозу (Serhan C.N. et al., 2007).

Атерогенез тісно пов'язаний із запальним процесом у судинній стінці, характеризується нако-

пиченням атерогенних ліпопротеїнів, лейкоцитів (особливо моноцитів (Мц)/Мф) і експресією прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкін-1 β і фактор некрозу пухлини- α (Libby P., 2002; Weber C., Noels H., 2011; Libby P. et al., 2013; Sadat U. et al., 2014). Результати дослідження свідчать, що порушення механізмів усунення запалення може лежати в основі формування атеросклеротичних бляшок і порушенні їх цілісності з усіма наслідками (Hansson G.K. et al., 2006; Merched A.J. et al., 2008; Ho K.J. et al., 2010; Tabas I., 2010). У зв'язку з участю постійного та інтенсивного локального запального процесу в розриві бляшки, розуміння механізмів, які контролюють запалення і сприяють його успішному завершенню при атеросклерозі, має істотне значення у визначенні нових клінічно значущих терапевтичних мішеней для зниження частоти летальних серцево-судинних подій.

Мета роботи полягала у вивченні участі клітин запалення в атерогенезі на основі оцінки розповсюдженості та вираженості запальної реакції в інтимі коронарних артерій (КА) при початкових атеросклеротичних ураженнях.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на аутопсійному матеріалі 193 сегментів КА пацієнтів чоловічої статі, які

померли від різних форм ішемічної хвороби серця у віці 35–74 років. Проаналізовано 30 сегментів з відносно інтактними КА, 30 сегментів з I типом (ранні прояви атеросклеротичного ураження), 42 сегменти — з ІІА типом (юні ліпідні плями), 62 сегменти — з ІІБ типом (проміжні ліпідні плями), 29 сегментів — із ІІІ типом (класичні ліпідні бляшки) атеросклеротичних уражень КА.

Відносно інтактні та ушкоджені атеросклерозом сегменти КА фіксували 10% нейтральним розчином формаліну, зневоджували у спиртах і занурювали в парафін. Гістологічні зрізи фарбували гематоксиліном і еозином, за методом Ван Гізона, Гоморі, Гейденгайна, Вейгерта, виявляли рибонуклеопротейни (РНП) — РНК, ДНК, кисл. й нейтральні глікозаміноглікани (ГАГ), визначали вміст глікогену зі всіма контролями. На нефікованих кріостатних зрізах виявляли ліпіди суданом ІІІ і ІV. У 12 випадках не пізніше 5 год після констатації смерті визначали активність Mg²⁺-залежної АТФази, сукцинат-(СДГ), малат-(МДГ), лактат-(ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегідрогеназ (Г-6-ФДГ), НАДН-, НАДФН-діафораз. За допомогою окулярної лінійки і планіметричної сітки визначали товщину інтими й медіа КА та їх співвідношення, об'ємну щільність клітин запалення на площі 0,1 мм² інтими у 5 полях зору при збільшенні у 280 разів. До слабого ступеня запальної клітинної інфільтрації відносили наявність 10–20 клітин, до помірного — 21–40 клітин, до інтенсивного ступеня — більше 40 клітин.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Характерним для відносно інтактних КА нарівні з потовщенням інтими є поліморфізм ендотеліальних клітин (ЕК) та їх ядер, порушення неперервності шару і серозний набряк деяких клітин. Ці клітини відрізнялися між собою різним вмістом гранул глікогену і РНП, активністю ряду ферментів енергетичного обміну. Ліпіди виявляли у вигляді пілоподібних і дрібнодисперсних включень переважно у цитоплазмі клітин або дрібних крапель в основній речовині.

Ранні прояви атеросклеротичного ураження КА (I тип атеросклеротичного ураження) виражалися у дезорганізації та гомогенізації позаклітинного матриксу, порушенні цито- і загальної архітектоники сполучної тканини (СТ), дистрофічних змінах і лізису клітинних елементів, появі клітин запалення і базофілів, накопиченні внутрішніх і позаклітинних ліпідів. Ці зміни частіше спостерігали під ендотелієм і/або на деякій відстані від субендотеліального шару потовщеної інтими судин. Відзначено випинання субендотеліального шару в просвіт судини у вигляді сосочків і суттєві зміни рельєфу внутрішньої поверхні судин. У деяких сегментах КА відзначали вазоконстрикцію або вазодилатацію.

При аналізі сегментів КА з ранніми проявами атеросклеротичного ураження виявлено характерні зміни основної речовини в інтимі — підвищення вмісту сульфатованих ГАГ — хондроїтин-4, -6 — і дерматансульфат. Відзначали істотне зменшення кількості гіалуронової кислоти (гіалуроніну), осо-

бливо в ділянках просвітлення і деструкції інтими, малий вміст гепаран-сульфатів, зі зміною функціональних властивостей яких пов'язана активність фактора росту фібробластів (ФБ), активація та проліферація гладком'язових клітин (ГМК).

У сегментах із ранніми проявами атеросклеротичного ураження ГМК і ФБ розташовувалися в основному поодинокі. При цьому зміни клітин виражалися в гіпертрофії, гіпернуклеозі та гіперхромії ядер. У більшій частині клітин відзначали активацію ферментів циклу Кребса, зокрема МДГ, ЛДГ і Г-6-ФДГ, НАДН-, НАДФН-діафораз і АТФази, що могло свідчити про напружений біосинтез і високу здатність мітохондрій клітин до субстратного окиснення. При цьому метаболічна активність ГМК інтими була істотно вищою, ніж активність ГМК середньої оболонки судини. Серед активованих ГМК і ФБ виявляли клітини з ознаками деструкції та порушення синтетичної функції.

Структурно-метаболічні зміни ЕК характеризувалися зниженою активністю СДГ, МДГ і АТФази, активацією ЛДГ і Г-6-ФДГ, що свідчило про утворення енергії за гліколітичним шляхом. Це супроводжувалося зниженням вмісту гранул глікогену і РНП в ЕК та їх дистрофічними змінами. Відзначали часткову вакуолізацію цитоплазми ЕК, серозний, серозно-фібринозний набряк клітин та субендотеліального шару, що свідчило про порушення судинної проникності. Спостерігали адгезію на ендотелії поодиноких Лц та Мц.

У субендотеліальному шарі в ділянці ранніх проявів атеросклеротичного ураження Мц і Лц (Т-клітини) розташовувалися поодинокі чи невеликими групами у співвідношенні 1:1, деякі Мц контактували з Лц. У ділянці скупчення цих клітин відзначали розпушення строми, фрагментацію і лізис волокон СТ. За структурно-гістохімічним і метаболічним показниками Мц і Лц в субендотеліальному шарі були активовані, з чіткими гіперхромними ядрами, характеризувалися значним вмістом РНП, активацією ряду окисно-відновних ферментів і АТФази.

Мц/Мф визначалися і в глибоких шарах інтими, серед ГМК, ФБ і осілих Мф. У цих Мц/Мф спостерігали менш виражену активацію оксидазних ферментів, ніж у Мц/Мф субендотелію. Запальну клітинну інфільтрацію слабого ступеня відмічали в 10 сегментах (33%) (таблиця). Інтенсивної та помірної інфільтрації мононуклеарів не виявили в жодному випадку.

Таблиця

Інтенсивність запальної клітинної інфільтрації інтими КА при різних типах атеросклеротичного ураження

Тип атеросклерозу	Ступінь запальної клітинної інфільтрації інтими КА								
	відсутня		слабка		помірна		інтенсивна		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
I (n=30)	20	67	10	33	0	0	0	0	
IIA (n=42)	19	45	10	24	8	19	5	12	
IIB (n=62)	6	10	2	12	20	21	34	37 ^{1, 2}	
III (n=29)	0	0	1	5	17	6	21	18	62 ^{1, 2, 3}

n – кількість сегментів КА; ¹достовірні різниця порівняно з I типом; ²достовірні різниця порівняно з ІІА типом; ³достовірні різниця порівняно з ІІБ типом.

Ділянки юних ліпідних плям (IIA тип атеросклеротичного ураження) характеризувалися збільшенням кількості в інтимі КА Мф/Мц, Лц і позаклітинних ліпідів порівняно із початковими змінами, трансформацією Мф у пінисті клітини (ПК), перерозподілом ГАГ, сітчастим розпушенням СТ.

При аналізі 42 ділянок юних ліпідних плям у 23 (55%) сегментах виявлена запальна клітинна інфільтрація (див. таблицю). У 12% випадках запальна клітинна інфільтрація була інтенсивного характеру, в 19% — помірною, в 24% — слабкою, що достовірно різниться порівняно з I типом ($p=0,02$). По краю юних ліпідних плям відзначали поодинокі гладкі клітини. Середня щільність популяції гладких клітин становила 5 клітин на $0,1 \text{ мм}^2$. Співвідношення гладких клітин до сумарного числа Лц/Мф становило 1:7.

У ділянках ліпідних плям проміжного типу (IIB тип атеросклеротичного ураження), які є попередниками формування ліпідних бляшок, Мц/Мф і ПК багаточисельні та сконцентровані, збільшена кількість Лц і гладких клітин. Щільність гладких клітин становила 10 на $0,1 \text{ мм}^2$, співвідношення їх до Лц/Мф — 1:13. Ліпіди виявляли в ЕК, у більшості Мф і ГМК, а також за межами клітин.

У більшості ліпідних плям проміжного типу (90%) спостерігалася запальна клітинна інфільтрація. При цьому її інтенсивний характер відзначали у 2,6 рази частіше порівняно з юними ліпідними плямами: відповідно у 23 (37%) і 5 (12%) ділянках ($p=0,006$). Інтенсивний характер запальної клітинної інфільтрації поєднувався із підвищеною адгезією та накопиченням Лц і Мц у субендотеліальному просторі, по краю і у фіброзній частині ліпідних плям проміжного типу. Водночас відсутність запальної клітинної інфільтрації в ділянці ліпідних плям проміжного типу констатували лише у 10% випадків, що у 4,5 рази рідше, ніж у ділянці ліпідних плям проміжного типу — 45% ($p=0,001$). Співвідношення випадків відсутності запальної клітинної інфільтрації до їх наявності в ділянці ліпідних плям проміжного типу становило 1:9, тоді як в ділянці юних ліпідних плям — 1:1 ($p=0,01$).

Розвиток ліпідних бляшок за класичним варіантом (з боку просвіту судини) відповідає III типу атеросклеротичних уражень КА. Над ділянкою ліпідних бляшок ЕК знаходилися у стані розтягнення і деформації. На ділянках розтягнення ЕК виявляли значний вміст у них гранул глікогену і РНП, активацію СДГ, НАДН- і НАДФН-діафораз, що свідчило про напружений біосинтез і здатність мітохондрій до субстратного окиснення.

Важливою відмінністю III типу ураження КА від IIA і IIB типу атеросклеротичного ураження була велика кількість позаклітинних ліпідів і клітин запалення. Так, запальна клітинна інфільтрація відзначена у всіх 29 ділянках ліпідних бляшок, із них у 18 (62%) виявлено її інтенсивний характер, що достовірно більше порівняно з ліпідними бляшками проміжного типу — 37% ($p=0,028$). Щільність гладких клітин становила 19 клітин на $0,1 \text{ мм}^2$, а співвідношення їх до мононуклеарів — 1:18. Кореляційний

аналіз показав зв'язок між вираженістю клітинної запальної інфільтрації і I–III початковими типами атеросклеротичного ураження коронарних судин ($R=0,64$; $p=0,0001$).

У складі запальної клітинної інфільтрації початкових типів атеросклерозу Лц переважали у 45%, а Мц/Мф — лише у 17% випадків, у решті випадків (38%) співвідношення Лц до Мц/Мф становило 1:1.

ВИСНОВКИ

1. Структурно-метаболичні зміни ендотелію виявляють вже при відносно інтактних КА, що проявляється поліморфізмом ЕК та їх ядер, зниженням активності ряду ферментів енергетичного обміну та порушенням неперервності шару.

2. Імунне запалення наявне при самих ранніх проявах атеросклеротичного ураження коронарних судин. Інтенсивність запальної клітинної інфільтрації інтими прямо пов'язана з вираженістю атеросклеротичного ураження КА ($R=0,64$; $p=0,0001$). Слабка і помірна клітинна інфільтрація Лц/Мф спостерігається у 33% випадків і типу атеросклеротичного ураження. В ділянці ліпідних плям (II тип) — у 71%, а при III типі — у 83% випадків відзначено інтенсивну і помірну запальну клітинну інфільтрацію.

3. У складі клітинної інфільтрації початкових проявів атеросклерозу коронарних судин Лц переважають у 45%, а Мф/Мц — лише у 17% випадків. Прогресування початкових форм атеросклерозу супроводжується зростанням концентрації в інтимі гладких клітин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Hansson G.K., Robertson A.K., Söderberg-Nauclér C.** (2006) Inflammation and atherosclerosis. *Ann. Rev. Pathol.*, 1: 297–329.
- Ho K.J., Spite M., Owens C.D. et al.** (2010) Aspirin-triggered lipoxin and resolvin E1 modulate vascular smooth muscle phenotype and correlate with peripheral atherosclerosis. *Am. J. Pathol.*, 177: 2116–2123.
- Libby P.** (2002) Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 420: 868–874.
- Libby P., Lichtman A.H., Hansson G.K.** (2013) Immune effector mechanisms implicated in atherosclerosis: from mice to humans. *Immunity*, 38: 1092–1104.
- Merched A.J., Ko K., Gotlinger K.H. et al.** (2008) Atherosclerosis: evidence for impairment of resolution of vascular inflammation governed by specific lipid mediators. *FASEB J.*, 22: 3595–3606.
- Nathan C.** (2002) Points of control in inflammation. *Nature*, 420: 846–852.
- Sadat U., Jaffer F.A., van Zandvoort M.A.M. et al.** (2014) Inflammation and neovascularization intertwined in atherosclerosis: imaging of structural and molecular imaging targets. *Circulation*, 130(9): 786–794.
- Savill J.S., Henson P.M., Haslett C.** (1989a) Phagocytosis of aged human neutrophils by macrophages is mediated by a novel «charge-sensitive» recognition mechanism. *J. Clin. Invest.*, 84: 1518–1527.
- Savill J.S., Wyllie A.H., Henson J.E. et al.** (1989b) Macrophage phagocytosis of aging neutrophils in inflammation: programmed cell death in the neutrophil leads to its recognition by macrophages. *J. Clin. Invest.*, 83: 865–875.
- Serhan C.N., Brain S.D., Buckley C.D. et al.** (2007) Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. *FASEB J.*, 21: 325–332.

Tabas I. (2010) Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis. *Nat. Rev. Immunol.*, 10: 36–46.

Weber C., Noels H. (2011) Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat. Med.*, 17: 1410–1422.

ОСОБЕННОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ ИНТИМЫ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ ПРИ НАЧАЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЯХ

Р.Ф. Абуталипов, А.Н. Ломаковский, М.И. Лутай

Резюме. Цель работы — изучение участия клеток воспаления в атерогенезе на основе оценки распространенности и выраженности воспалительной клеточной инфильтрации в интиме коронарных артерий при начальных атеросклеротических поражениях. Исследование проведено на аутопсийном материале 193 сегментов коронарных артерий пациентов мужского пола, умерших от различных форм ишемической болезни сердца в возрасте 35–74 лет. Показано, что структурно-метаболические изменения эндотелия проявляются уже при относительно интактных коронарных артериях. Иммунное воспаление присутствует при самых ранних проявлениях атеросклеротического поражения коронарных сосудов. Интенсивность воспалительной клеточной инфильтрации интимы напрямую связана с выраженностью атеросклеротического поражения коронарных артерий. Слабая и умеренная клеточная инфильтрация лимфоцитами/макрофагами наблюдается в 33% случаев I типа атеросклеротического поражения. В области липидных пятен (II тип) — в 71%, а при III типе — в 83% случаев имеет место интенсивная и умеренная воспалительная клеточная инфильтрация. В составе клеточной инфильтрации начальных проявлений атеросклероза коронарных сосудов лимфоциты преобладают в 45%, а макрофаги/моноциты — только в 17% случаев. Прогрессирование начальных форм атеросклероза сопровождается ростом концентрации в интиме тучных клеток.

Ключевые слова: атеросклероз, коронарные артерии, интима, клеточная воспалительная инфильтрация.

FEATURES OF INFLAMMATORY CELL INFILTRATION OF THE INTIMA OF THE CORONARY ARTERIES IN EARLY ATHEROSCLEROTIC LESIONS

R.F. Abutalipov, A.N. Lomakovsky, M.I. Lutay

Summary. Purpose — to study the participation of inflammatory cells in atherogenesis, based on estimates of the prevalence and severity of inflammatory cell infiltration in the intima of the coronary arteries in primary atherosclerotic lesions. The study was conducted on 193 autopsy material segments of the coronary arteries of male patients who died from various forms of ischemic heart disease at the age of 35–74 years. It is shown that the structural and metabolic changes in the endothelium appear even at relatively intact coronary arteries. Immune inflammation is present at the earliest manifestations of atherosclerotic lesions of the coronary vessels. The intensity of the inflammatory cell infiltration of the intima is directly related to the severity of the atherosclerotic lesions of the coronary arteries. Weak and mild cellular infiltration of lymphocytes/macrophages is observed in 33% of cases of type I atherosclerotic lesion. In the field of lipid spots (II type) — in 71%, and at the III type — in 83% of cases, there is an intense and moderate inflammatory cell infiltration. As part of the cellular infiltration of coronary atherosclerosis initial manifestations lymphocytes prevail in 45%, and macrophages/monocytes — only 17% of cases. The progression of the initial forms of atherosclerosis is accompanied by increasing concentration in the intima of mast cells.

Key words: atherosclerosis, coronary artery, intima, the cellular inflammatory infiltration.

Адреса для листування:

Ломаковський Олександр Миколайович
03680, Київ, вул. Народного ополчення, 5
ДУ «Національний науковий центр
«Інститут кардіології ім. М.Д. Стражеска»
НАМН України»

РЕФЕРАТИВНА ІНФОРМАЦІЯ

Статины (СТ) снижают смертность у больных псориатическим артритом (ПсА)

Применение СТ связано с повышением риска развития сахарного диабета II типа, формирования тяжелой катаракты и др. На пленарном заседании в рамках Ежегодной встречи Американского ревматологического колледжа (ACR) в Вашингтоне, США, представлены результаты исследования: применение СТ у больных ПсА и серонегативной спондилоартропатией, в том числе анкилозирующим спондилитом (АС), или болезнью Бехтерева. Проанализированы данные о 2904 пациентах с АС или ПсА, применявших СТ (основная группа — ОГ), и такого же количества больных с аналогичными патоло-

гиями и соответствующим общим состоянием здоровья, не применявших СТ (контрольная группа — КГ). За 5 лет в ОГ отмечен 271 смертельный исход, а в КГ — 376. Частота летальных исходов составила 17,62 и 25,14 на 1000 человеко-лет соответственно. Относительный риск (ОР) смертности от всех причин в ОГ был на 33% ниже, чем в КГ (ОР — 0,68; 95% доверительный интервал 0,57–0,81). Величина оказанного эффекта превышает таковую для ревматоидного артрита (21%) и в общей популяции (9–14%), согласно предыдущим исследованиям и метаанализам. Пациенты с АС и ПсА могут получать двойную пользу от применения СТ с учетом их гиполипидемического и противовоспалительного действия.