

# Роль гладком'язових клітин судинної стінки у морфогенезі змін судин головного мозку при метаболічному синдромі, ускладненому інсультом

**Н.Я. Чуйко**

Івано-Франківський національний медичний університет

У статті представлені результати дослідження гладком'язових клітин стінок артерій головного мозку при метаболічному синдромі, ускладненому ішемічним та геморагічним інсультом, з використанням маркерів Actin Smooth Muscle Ab-1 (Clone 1A4), Desmin (Muscle Cell Marker) Ab-1 (Clone D33), Vimentin Ab-2 (Clone V9). Установлено, що при атеросклеротичному ураженні артерій головного мозку при метаболічному синдромі в стінці присутні субпопуляції гладком'язових клітин, для яких характерна експресія десміну, гладком'язові клітини здатні змінювати свій фенотип із скоротливого на синтетичний і ця зміна фенотипу є одним із ключових моментів патогенезу атеросклерозу.

**Ключові слова:** гладком'язові клітини, судинна стінка, метаболічний синдром, ішемічний інсульт, геморагічний інсульт.

Однією з найбільш актуальних проблем сучасної медицини є метаболічний синдром (МС), складовими компонентами якого є артеріальна гіпертензія, дисліпідемія, цукровий діабет 2-го типу та абдомінальне ожиріння [3]. Основним морфологічним субстратом ураження артерій при описаних проявах МС є атеросклероз (АС), у морфогенезі виникнення якого на сьогоднішній день основну роль відводять імунній теорії [1, 8]. Уважають, що гладком'язові клітини (ГМК) судинної стінки беруть участь в імунних реакціях при АС. При електронно-мікроскопічному дослідженні атеросклеротичних бляшок людини і експериментальних тварин було встановлено, що поряд з типовими ГМК, цитоплазма яких заповнена мікрофіламентами, а ендоплазматичний ретикулум локалізується у перинуклеарному просторі, також є клітини, що містять добре розвинений ендоплазматичний ретикулум і апарат Гольджі при невеликій кількості мікрофіламентів [2, 5]. Такі клітини визначили як модифіковані або секреторні ГМК. У подальшому в серії експериментальних досліджень було встановлено, що ГМК судинної стінки можуть змінювати свій фенотип із скоротливого на синтетичний, з перебудовою ультраструктурних компонентів клітин, у яких змінюється експресія низки білків [4]. Білками, експресія яких змінюється при перебудові фенотипу ГМК, є актин, десмін і виментин [7]. При дослідженні маркерів модуляції ГМК було встановлено, що в атеросклеротичних бляшках аорти людини з'являються ГМК, які містять десмін [6].

**Мета дослідження:** визначення маркерів модуляції ГМК в стінках артерій головного мозку при МС, ускладненому інсультом.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліджені судини головного мозку 30 померлих з геморагічним інсультом на фоні МС, 30 – з ішемічним інфарктом на фоні МС і 20 померлих від причин, не пов'язаних із цереброваскулярними захворюваннями (група порівняння). Се-

редній вік померлих з геморагічним інсультом становив  $52,6 \pm 2,8$  року, з ішемічним інсультом –  $54,8 \pm 3,6$  року, групи порівняння –  $50,4 \pm 4,7$  року. Досліджували артерії двох структурно-функціональних рівнів: магістральні – сонні артерії і екстрацеребральні – артерії основи мозку. Гістологічні препарати судин фарбували гематоксилін-еозинном, а також проводили імуногістохімічне дослідження з використанням маркерів Actin Smooth Muscle Ab-1 (Clone 1A4), Desmin (Muscle Cell Marker) Ab-1 (Clone D33), Vimentin Ab-2 (Clone V9).

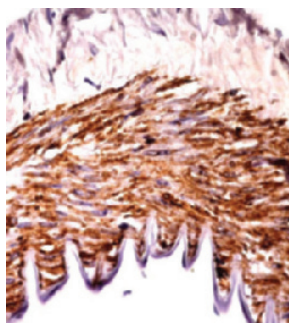
Матеріал фіксували у 10% розчині нейтрального забуфреного формаліну, проводили за загальноприйнятою методикою. Для проведення імуногістохімічних реакцій зрізи товщиною 5 мкм монтували на адгезивні скельця Super Frost Plus (фірми Menzel), депарафінували, гідратували і обробляли 3% розчином перекису водню для блокування ендогенної пероксидази. У якості других антитіл використовували набір Ultra Vision Detection System (фірми Thermo Scientific).

Десмін, альфа-гладком'язовий актин, виментин оцінювали як питомий об'єм імунопозитивних клітин на одиницю площі. Результати імуногістохімічної реакції оцінювали напівкількісним методом у балах від 0 до 6 по загальноприйнятій методиці з урахуванням зафарбованих клітин [1]. Нуль (0) балів визначали при відсутності зафарбовування, 1 бал – до 10% зафарбовування, 2 бали – до 20%, 3 бали – до 30%, 4 бали – до 40%, 5 балів – до 50%, 6 балів – більше 50% зафарбованих клітин. Крім того, оцінювали ступінь інтенсивності забарвлення: 0 – відсутність забарвлення, 1 (+) – слабе забарвлення світло-коричневого кольору, 2 (++) – помірне забарвлення коричневого кольору, 3 (+++) – виражене забарвлення темно-коричневого кольору. Гістологічне дослідження і фотозйомку мікропрепаратів проводили на мікроскопі AxioScop 40 (Zeiss).

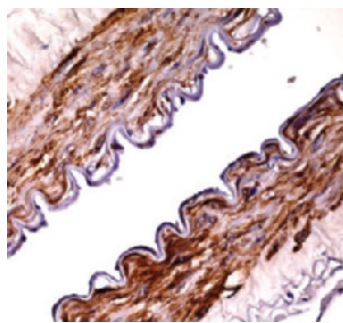
## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Імуноморфологічний аналіз стінок артерій засвідчив, що за виключенням ендотелію усі клітини інтими і медії реагують з антитілами до виментину (мал. 1, 2) і альфа-актину (мал. 3, 4).

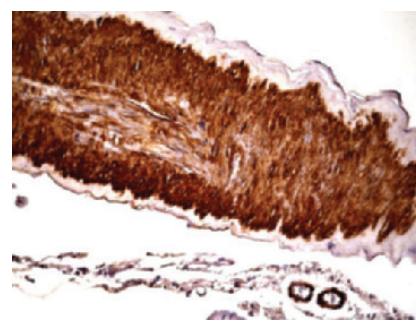
Під час дослідження виментину в стінці артерій у групі хворих з ішемічним інсультом на фоні МС його експресія становила  $59,6 \pm 4,8\%$  ( $p > 0,05$ ) відносно загальної площі; у групі з геморагічним інсультом на фоні МС –  $52,8 \pm 3,7\%$  ( $p > 0,05$ ). У групі порівняння експресія виментину складала  $54,2 \pm 6,4$  ( $p > 0,05$ ), у групі умовного контролю –  $56,3 \pm 5,1$  ( $p > 0,05$ ), отже немає достовірної різниці кількісного вмісту виментину в усіх чотирьох групах. При імуногістохімічній реакції з виментином спостерігали наявність сполучнотканинних компонентів, а також виражений фіброз стінки артерії. Відзначали міграцію гладком'язових клітин із медії в інтиму судини, незважаючи на відсутність сквенджер-рецепторів, вони інтенсивно погли-



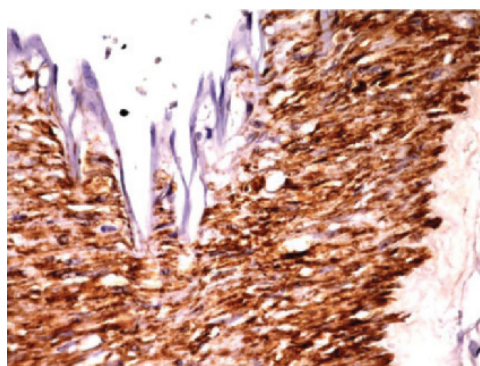
**Мал. 1.** Експресія маркера Vimentin Ab-2 у стінці артерії пацієнта з ішемічним інсультом.  $\times 200$



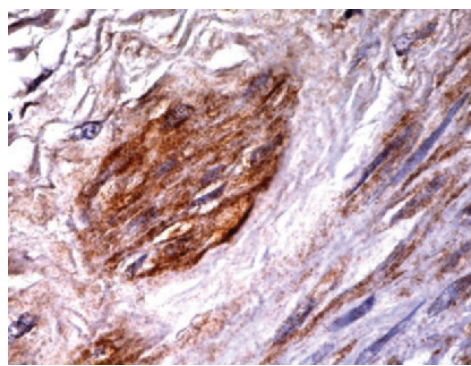
**Мал. 2.** Експресія маркера Vimentin Ab-2 у стінці артерії пацієнта з ішемічним інсультом.  $\times 200$



**Мал. 3.** Експресія маркера Actin Smooth Muscle Ab-1 у стінці артерії пацієнта з ішемічним інсультом.  $\times 200$



**Мал. 4.** Експресія маркера Actin Smooth Muscle Ab-1 у стінці артерії пацієнта з геморагічним інсультом.  $\times 200$



**Мал. 5.** Експресія маркера Desmin у стінці артерії пацієнта з ішемічним інсультом.  $\times 400$

нають модифіковані ліпопротеїди, перетворюючись на пінисті клітини.

Експресія альфа-актину у групі з ішемічним інсультом на фоні МС становила  $62,8 \pm 7,6\%$  ( $p > 0,05$ ); у групі з геморагічним інсультом на фоні МС –  $58,5 \pm 4,7\%$  ( $p > 0,05$ ); у групі порівняння –  $55,7 \pm 5,2\%$  ( $p > 0,05$ ); у групі умовного контролю –  $60,3 \pm 8,7\%$  ( $p > 0,05$ ).

Експресія десміну не була знайдена в клітинах інтими, а виявлялась лише в частині ГМК медії (мал. 5).

У кількісному відношенні у групі хворих з ішемічним інсультом на фоні МС експресія десміну складала  $14,6 \pm 3,4\%$  ( $p > 0,05$ ) відносно загальної площі; у групі з геморагічним інсультом на фоні МС –  $12,8 \pm 4,7\%$  ( $p > 0,05$ ). У групі умовного контролю експресія десміну складала  $9,3 \pm 3,4\%$  ( $p > 0,05$ ), у групі порівняння –  $3,4 \pm 0,4\%$  ( $p < 0,05$ ). Отже, при МС, ускладненому ішемічним і геморагічним інсультом, у стінці артерій в медії спостерігається достовірно більша експресія десміну в ГМК у порівнянні з контрольною групою.

Ці дані відносно десміну узгоджуються з дослідженнями інших авторів, які встановили, що експресія десміну змінюється з віком: у дітей десмін виявляється в усіх клітинах артерії, у підлітків – лише в частині, а у дорослих десмін ніколи не знаходиться в клітинах інтими, а лише вогнищево в ГМК медії, тобто з віком ГМК медії втрачають здатність до експресії десміну [7]. Тому можна вважати, що поява клітин, які реагують з антитілами до десміну, є наслідком модуляції фенотипу ГМК, що супроводжується активізацією проліферації клітин і синтезу компонентів сполучнотканинного матриксу, що може призвести до утворення фіброзної бляшки. Деякі автори розцінюють факт виявлення десмінпозитивних ГМК у візуально незмінній інтимі аорти осіб молодого віку як початок формування фіброзної бляшки [6]. Під час дослідження моделі первинної культури отримані дані свідчать про те, що зміна фенотипу ГМК інтими аорти людини супроводжується активізацією проліферації і синтезу колагену [9]. Уважають, що модифіковані ГМК з їхньою ви-

сокою активністю проліферації і синтезу компонентів сполучнотканинного матриксу відповідають за формування клітинної маси і фіброзного остову бляшок [5].

## ВИСНОВКИ

У стінці артерій присутні субпопуляції гладком'язових клітин (ГМК), для яких характерна експресія десміну. Отже ГМК здатні змінювати свій фенотип із скоротливого на синтетичний, і ця зміна фенотипу ГМК є одним з ключових моментів патогенезу атеросклерозу.

**Перспективою подальших досліджень** є вивчення механізмів модуляції ГМК, що дасть можливість впливати на цей процес і відкрити перспективи для нових підходів до лікування атеросклерозу як основного морфологічного субстрату ураження артерій при метаболічному синдромі.

## Роль гладком'язових кліток судинної стінки в морфогенезі зміненої судинної стінки головного мозку при метаболічному синдромі, ускладненому інсультом

**Н.Я. Чуйко**

В статтю представлені результати дослідження гладком'язових кліток стенок артерій головного мозку при метаболічному синдромі, ускладненому ішемічним і геморагічним інсультом, з використанням маркерів Smooth Muscle Actin Ab-1 (Clone 1A4), Desmin (Muscle Cell Marker) Ab-1 (Clone D33), Vimentin Ab-2 (Clone V9). Установлено, що при атеросклеротическому ураженні артерій головного мозку при метаболічному синдромі в стінці присутні субпопуляції гладком'язових кліток, для яких характерна експресія десміну, гладком'язові клітки здатні змінювати свій фенотип із скоротливого на синтетичний і це змінювання фенотипу являється одним з ключових моментів патогенезу атеросклерозу.

**Ключові слова:** гладком'язові клітки, судинна стінка, метаболічний синдром, ішемічний інсульт, геморагічний інсульт.

**Role of vascular wall smooth muscle cells in morphogenesis changes of cerebral vessels under the metabolic syndrome complicated by stroke**

**N.Ya. Chuiko**

The article presents the results of the study of smooth muscle cells of the brain's artery walls under the metabolic syndrome complicated by ischemic and hemorrhagic stroke using markers Actin Smooth Muscle

Ab-1 (Clone 1A4), Desmin (Muscle Cell Marker) Ab-1 (Clone D33), Vimentin Ab-2 (Clone V9). It was found that in atherosclerotic lesion of the cerebral arteries under the metabolic syndrome subpopulations of smooth muscle cells appear in the wall, which are characterised by the expression of desmin; smooth muscle cells are able to change their phenotype from contractile to synthetic and this change of the phenotype is one of the key moments in the pathogenesis of atherosclerosis.

**Key words:** smooth muscle cells, vascular wall, metabolic syndrome, ischemic stroke, hemorrhagic stroke.

**Сведения об авторе**

Чуйко Наталья Ярославовна – Ивано-Франковский национальный медицинский университет, 76019, г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2; тел.: (067) 781-91-99

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ**

1. Бобрышев Ю.В. Клеточные механизмы атеросклероза: врожденный иммунитет и воспаление // Ю.В. Бобрышев, В.Н. Карагодин, Ж.И. Ковалевская [и др.] // *Фундаментальные науки и практика*. – 2010. – № 1 (4). – С. 140–148.
2. Бобрышев Ю.В. Клеточные механизмы атеросклероза: Архитектоника атеросклеротических поражений и роль дендритных клеток / Ю.В. Бобрышев, А.Н. Орехов // LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Germany, – 2012. – 172 с.
3. Мычка В.Б. Метаболический синдром / В.Б.Мычка, И.Е.Чазова // *Системные гипертензии*. – 2009. – № 1. – С. 50–53.
4. Bobryshev Y.V., Killingsworth M.C., Orekhov A.N. Increased shedding of microvesicles from intimal smooth muscle cells in athero-prone areas of the human aorta: Implications for understanding of the pre-disease stage / Y.V. Bobryshev, M.C. Killingsworth, A.N. Orekhov // *Pathobiology*. – 2013. – Vol. 80, № 1. – P. 24–31.
5. Bochaton-Piallat ML, Gabbiani G. Modulation of smooth muscle cell proliferation and migration: role of smooth muscle cell heterogeneity // *Handb Exp Pharmacol*. 2005; 170: 645–463.
6. Endothelial progenitor cells, atheroma burden and clinical outcome in patients with coronary artery disease / G.J. Padfield, O. Tura-Ceide, E. Freyter [et al.] // *Heart*. – 2013. – Vol. 99. – P. 791–798. doi:10.1136/heartjnl-2012-302949.
7. Iyemere VP, Proudfoot D, Weissberg PL, Shanahan CM. Vascular smooth muscle cell phenotypic plasticity and the regulation of vascular calcification. // *J Intern Med*. 2006; 260: 192–210.
8. Perrins C.J., Bobryshev Y.V. Current advances in understanding of immunopathology of atherosclerosis /C.J.Perrins, Y.V. Bobryshev // *Virchows Archiv*. – 2011. – Vol. 458, № 2. – P. 117–123.
9. Rzedzic EM, Martin KA, Powell RJ. Regulation of vascular smooth muscle cell differentiation. // *J Vasc Surg*. 2007; 45 (Suppl A): A25–32.

Статья поступила в редакцию 03.07.2014

НОВОСТИ МЕДИЦИНЫ

**УЧЕНЫЕ ОБЪЯСНИЛИ, ПОЧЕМУ ЛЮДИ НЕ ПОМНЯТ СВОЕ РАННЕЕ ДЕТСТВО**

Оказывается, причина - в появлении в мозгу новых нервных клеток. Они быстро формируются после рождения и в раннем детстве, но по мере взросления этот процесс значительно замедляется, и с появлением новых нейронов старые воспоминания стираются, а потому взрослые гораздо больше помнят о своей взрослой жизни, чем о раннем детстве.

К этому выводу ученые пришли после того, как провели эксперимент на мышах. Они переносили мышей в помещение, где те получали легкие разряды тока по лапам. Спустя некоторое время их

помещали туда вновь. Если грызуны узнавали это помещение, то они застывали, опасаясь получить разряд тока. Оказалось, что взрослые мыши помнили помещение почти в течение месяца, тогда как большинство мышат забывали неприятный опыт уже через день. Затем ученые ускорили процесс появления новых клеток в гиппокампе мышей – ключевой области мозга для формирования воспоминаний – и повторили эксперимент. Оказалось, что мыши забывали про свой страх перед помещением гораздо быстрее. И наоборот – когда процесс появления

новых нейронов замедлялся, мыши помнили помещение значительно дольше.

Напомним, что для взрослых существует несколько приятных способов улучшить память. Так, недавно ученые выяснили, что подобным эффектом обладает кофеин. Также известно, что улучшать память может употребление шоколада, вина и чая, причем наиболее заметное влияние оказывает вино. Кроме того, сохранить память помогает регулярный прием витаминов.

С. Лахути  
Источник:

<http://www.vokrugsveta.ru/>