

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ НЕСТАБИЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ СЕРДЦА

Тодоров С.С.¹, Дерибас В.Ю.¹, Сидоров Р.В.¹, Казьмин А.С.¹, Тодоров С.С.(мл.)¹

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, setodorov@yandex.ru

Выполнено морфологическое исследование нестабильных атеросклеротических бляшек (АБ) коронарных артерий сердца. На секционном материале были изучены 20 коронарных артерий у 12 мужчин и 8 женщин в возрасте 67±5 лет с макроскопическим и микроскопическим описанием. Показано, что наиболее часто при атеросклерозе поражаются устье левой коронарной артерии, передняя межжелудочковая ветвь левой коронарной артерии с развитием стеноза, вторичных изменений (кальциноза, кровоизлияния в бляшку). Полученные морфологические данные позволили выделить пять вариантов нестабильных АБ коронарных артерий сердца: 1) с преобладанием пенистых клеток (макрофагов); 2) с внутрестеночным кровоизлиянием в бляшку; 3) с дистрофическими изменениями и кальцинозом бляшки; 4) с признаками неоангиогенеза в бляшке; 5) с хроническим воспалением в бляшке. Основными морфологическими ориентирами, позволившими выделить данные варианты нестабильной АБ, были: площадь атеромы, площадь фиброзной покрышки, площадь кальциноза, площадь кровоизлияний, количество пенистых клеток (макрофагов), количество лимфоцитов, количество сосудов. Наши данные дополняют ранее выполненные работы, посвященные строению АБ различных артерий, и помогают по-новому взглянуть на их структурные особенности. Представленное морфологическое исследование особенностей строения нестабильных АБ коронарных артерий сердца дополняет представление о возможных морфотипах, в которых важную роль, по-видимому, играют пенистые клетки (макрофаги). Изучение клеточно-межклеточных взаимоотношений в АБ коронарных артерий в морфогенезе ее нестабильности позволит уточнить механизмы прогрессирования и регрессирования атеросклероза, что имеет большое практическое значение при прогнозировании течения ИБС.

Ключевые слова: атеросклероз, коронарные артерии сердца, нестабильная бляшка, морфология, пенистые клетки, воспаление, неоангиогенез.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE STRUCTURE OF UNSTABLE ATHEROSCLEROTIC PLATES OF THE CORONARY HEART ARTERIES

Todorov S.S.¹, Deribas V.Yu.¹, Sidorov R.V.¹, Kazmin A.S.¹, Todorov S.S.(jr.)¹

Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, setodorov@yandex.ru

A morphological study of unstable atherosclerotic plaques of the coronary arteries of the heart was performed. Sectional material was used to study 20 coronary arteries in 12 men and 8 women aged 67±5 years with a macroscopic and microscopic description. It has been shown that the mouth of the left coronary artery, the anterior interventricular branch of the left coronary artery with the development of stenosis, secondary changes (calcification, hemorrhage into the plaque) are most often affected in atherosclerosis. The obtained morphological data made it possible to identify five variants of unstable AB of the coronary arteries of the heart: 1) with a predominance of foam cells (macrophages); 2) with intramural hemorrhage into the plaque; 3) with degenerative changes and calcification of the plaque; 4) with signs of plaque neoangiogenesis; 5) with chronic inflammation in the plaque. The main morphological landmarks that made it possible to identify these variants of unstable AB were: atheroma area, fibrous cap area, calcification area, hemorrhage area, number of foam cells (macrophages), number of lymphocytes, number of vessels. Our data supplement the previously performed work on the structure of atherosclerotic plaques of various arteries and helps to look at their structural features in a new way. The presented morphological study of the structural features of unstable AB of the coronary arteries of the heart complements understanding of possible morphotypes, in which foam cells (macrophages) seem to play an important role. The study of the cell-intercellular relationships in the AB of the coronary arteries in the morphogenesis of its instability will make it possible to clarify the mechanisms of progression and regression of atherosclerosis, which is of great practical importance in predicting the course of coronary artery disease.

Keywords: atherosclerosis, coronary arteries of the heart, unstable plaque, morphology, foam cells, inflammation, neoangiogenesis.

Атеросклероз коронарных артерий представляет собой хроническое прогрессирующее заболевание, приводящее к развитию ишемической болезни сердца (ИБС), которая является наиболее частой причиной смерти больных в мире [1].

Для понимания патогенеза и возможных осложнений атеросклероза коронарных артерий (КА) необходимо оценивать строение атеросклеротической бляшки (АБ). Известно, что АБ состоят из трех основных компонентов: 1) клеток, включая гладкомышечные клетки, макрофаги и Т-лимфоциты; 2) экстрацеллюлярного матрикса (ЭКМ), включающего коллаген, эластические волокна, протеогликаны; 3) липидов, которые могут локализоваться внутри- и внеклеточно [2]. Типичная АБ состоит из фиброзной покрышки, представленной плотным коллагеном, гладкомышечных клеток и липидного ядра, содержащего холестерин и его эфиры, а также клеточный детрит, пенные клетки (нагруженные липидами макрофаги), белки плазмы крови [3–5].

Известно, что в динамике развития АБ могут быть стабильными и нестабильными. АБ, содержащие большие участки, выполненные пенными клетками, внеклеточными липидами, а также с тонкой фиброзной покрышкой или покрышкой, содержащей небольшое количество гладкомышечных клеток или кластеры воспалительных клеток, называют нестабильными. Важно подчеркнуть, что понятие «нестабильность АБ» является неоднозначным, подразумевающим, в том числе, нарушение гемодинамической функции коронарной артерии [6–8].

Основными структурными компонентами АБ, сохраняющими целостность стенки коронарной артерии и предупреждающим от воздействия гемодинамических факторов (таких как артериальное давление, белки плазмы крови, вазоспазм), являются фиброзная покрышка и коллаген. В синтезе и деградации коллагена фиброзной покрышки АБ принимают участие гладкомышечные клетки и макрофаги [9–11]. Особое значение придают макрофагам, которые способны продуцировать матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы [12, 13]. Воспаление, возникающее в нестабильной АБ, представленное Т-лимфоцитами, может также инициировать деструкцию фиброзной покрышки АБ КА [12]. Все эти вопросы требуют своего обсуждения и оценки роли тех или иных клеточных и экстрацеллюлярных компонентов в морфогенезе нестабильной АБ.

В связи с этим целью исследования послужил анализ морфологических особенностей нестабильных АБ КА сердца.

Материал и методы исследования. Проведено морфологическое исследование нестабильных АБ КА, полученных во время выполнения аутопсий у 20 пациентов. Среди умерших было 12 мужчин и 8 женщин, средний возраст которых составил 67 ± 5 лет. Из истории болезни умерших было известно, что больные поступали в кардиологическое

отделение клиники РостГМУ с признаками нестабильной стенокардии (11 случаев), острого инфаркта миокарда (9 случаев).

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта», Федеральным законом от 21.11.2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (п. 4 ст. 67).

При вскрытии КА обращали внимание на топографию поражения, диаметр артерии, степень выраженности стеноза (в %), размеры АБ, наличие или отсутствие вторичных изменений АБ (тромбоза, кальциноза). Для гистологического, гистохимического исследования вырезали наиболее измененный участок КА с наличием в ней АБ и после фиксации в забуференном 10%-ном растворе формалина, обезвоживания в изопропиловом спирте с использованием гистопроцессора Milestone (Италия), заливки в парафин выполняли гистологические срезы на ротационном микротоме фирмы Leica (Германия). Микропрепараты окрашивали гематоксилином-эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, Хочкиссу (ШИК-реакция). Микроскопия и микрофотографирование осуществлялись на микроскопе Leica DM 1000 (Германия) со встроенной фотокамерой.

Для проведения морфометрического анализа применяли программное обеспечение с открытым исходным кодом ImageJ (National Institutes of Health, USA) и фотографии препаратов с увеличением объектива x20 или x40. Во всех случаях проводили измерение общей площади гистологического среза стенки коронарной артерии и ее просвета. Для препаратов, окрашенных гематоксилином-эозином, выполняли измерение суммарной площади липидной инфильтрации, кровоизлияний, отложений солей кальция, новообразованных сосудов, количества клеточных элементов в инфильтрате (пенистых клеток, лимфоцитов). Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью статистических инструментов программы MedCalc Statistical Software version 19.1.3. Характер распределения выборочных значений проверили с использованием W-критерия Шапиро–Уилка ($p < 0,05$)

Результаты исследования и их обсуждение

При макроскопическом исследовании КА нами были обнаружены следующие изменения (табл. 1).

Таблица 1

Макроскопическая характеристика коронарных артерий сердца при атеросклерозе
(средние значения)

Топография поражения коронарной артерии	Диаметр коронарной артерии (мм)	Степень выраженности стеноза (%)	Размеры АБ (мм)	Вторичные изменения в АБ
ПКА	3,1 мм	42% ($\pm 1,53$)	1,6 мм	нет
ЛКА	2,2 мм	75% ($\pm 1,84$)	2,4 мм	есть
ПМЖВ	2,3 мм	80% ($\pm 2,38$)	2,5 мм	есть
ОВ	1,9 мм	67% ($\pm 1,3$)	1,9 мм	нет

Примечание: ПКА – правая коронарная артерия, ЛКА – левая коронарная артерия, ПМЖВ – передняя ветвь левой коронарной артерии, ОВ – огибающая ветвь левой коронарной артерии. Стандартное отклонение (\pm).

Как видно из таблицы 1, наиболее выраженные признаки атеросклеротического поражения были в ЛКА в области устья ПМЖВ ЛКА, что сопровождалось развитием выраженного стеноза данных артерий (75%, 80% соответственно), большими размерами АБ, наличием вторичных изменений в бляшке (кровоизлиянием, кальцинозом).

Гистологическое исследование АБ позволило уточнить морфологические особенности их строения. В 8 наблюдениях (40%) в стенках КА обнаруживались нестабильные АБ, представленные крупными атеромами (рис. 1). Атеромы занимали более 2/3 стенки артерии, содержали тонкую фиброзную покрывку с участками резкого истончения коллагеновых волокон. В отдельных участках интимы встречались очаги расслоения и повреждения со скоплением пенистых клеток (макрофагов, наполненных липидами), немногочисленных лимфоцитов.

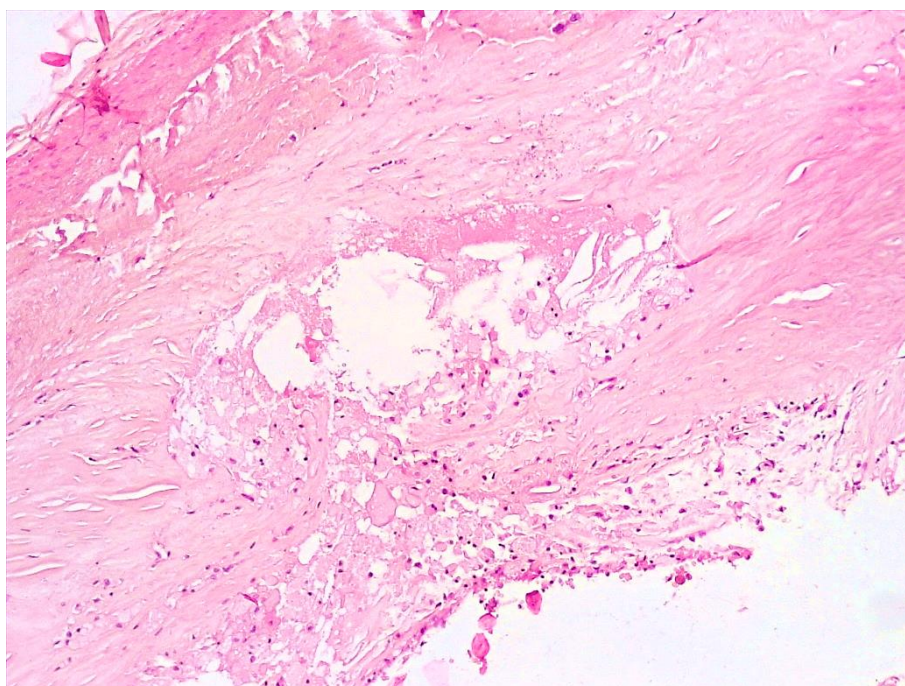


Рис. 1. Нестабильная АБ коронарной артерии сердца: вокруг атеромы отмечаются повреждение интимы артерии со скоплением пенистых клеток (макрофагов), немногочисленных лимфоцитов, резкая атрофия мышечной оболочки. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение x200

В 4 наблюдениях (20%) в стенках КА под истонченной фиброзной покрывкой, представленной тонкими коллагеновыми, имелось скопление пенистых клеток (макрофагов) с очаговым повреждением фиброзной покрывки АБ. Субэндотелиально в стенке КА обнаруживали субэндотелиальное кровоизлияние, представленное лизированными эритроцитами, с деформацией и резким сдавлением мышечной оболочки (рис. 2).

В 4 случаях (20%) просвет КА был резко сужен до 85%, имел вид щелевидного отверстия за счет резко выраженного атероматоза, атерокальциноза (рис. 3). Строение стенок КА было нарушено в связи с отложением липидных масс и крупных депозитов солей кальция, которые локализовались субинтимально, в меди, со сдавлением и выраженной атрофией гладкомышечных клеток. В этих же участках встречались скопления кислых мукополисахаридов (ШИК+), что указывало на повышение сосудистой проницаемости стенок КА.

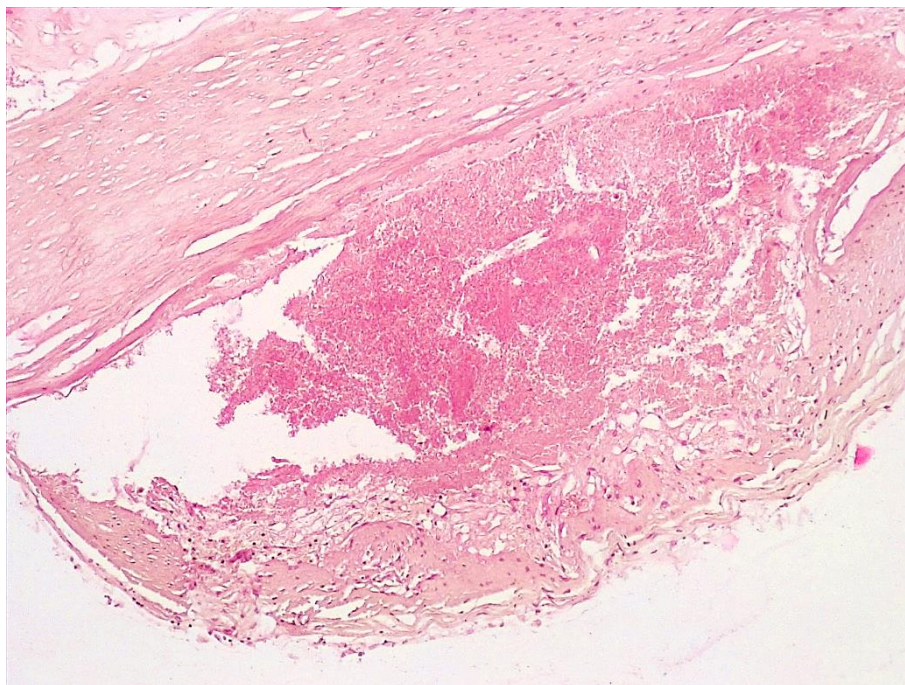


Рис. 2. Нестабильная АБ коронарной артерии сердца: под резко истонченной фиброзной покрывкой имеется интрамуральное кровоизлияние со скоплением пенистых клеток (макрофагов). Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение x100

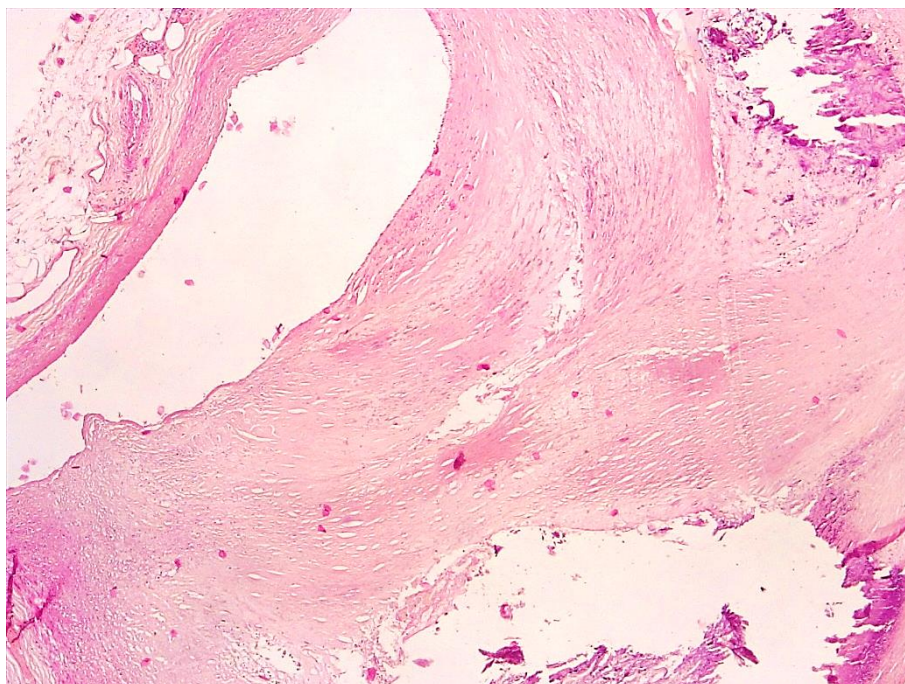


Рис. 3. Нестабильная АБ коронарной артерии сердца: стеноз просвета артерии, атероматоз с крупными депозитами солей кальция в меди, резкая атрофия гладкомышечных клеток. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение x50

В 2 случаях (10%) наблюдали своеобразные морфологические изменения в стенках КА при атеросклерозе. Просветы КА были неравномерно сужены за счет резко утолщенной интимы, содержащей массы липидов, некротизированные клеточные элементы, с резкой атрофией фиброзной покрышки и меди. В глубоких отделах АБ имелись новообразованные тонкостенные сосуды капиллярного типа (рис. 4). Подобный процесс отражает неоангиогенез в связи с возможным формированием сосудов из адвентициальных *vasa vasorum*, в то время как васкулогенез отражает их развитие в процессе эмбриогенеза.

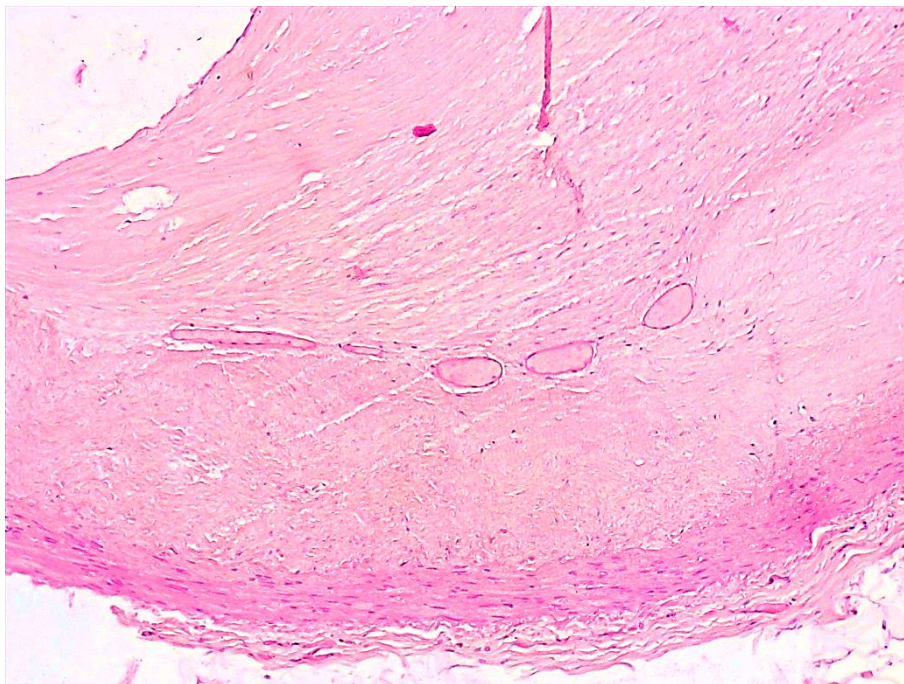


Рис. 4. Нестабильная АБ коронарной артерии сердца: резкое утолщение интимы за счет атероматоза с выраженной атрофией мышечной оболочки. Новообразованные тонкостенные сосуды в бляшке. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение $\times 100$

В 2 наблюдениях (10%) в нестабильных АБ имелись признаки хронического воспаления с наличием лимфоцитарной инфильтрации. При этом атерома, представленная массами липидов, занимала на всем протяжении интимы, вовлекала мышечную оболочку с выраженной атрофией гладкомышечных клеток. Лимфоцитарная воспалительная инфильтрация отмечалась как в поверхностных слоях атеромы, так и в глубоких отделах стенки артерии (в меди, адвентиции), распространялась на окружающую жировую клетчатку (рис. 5).

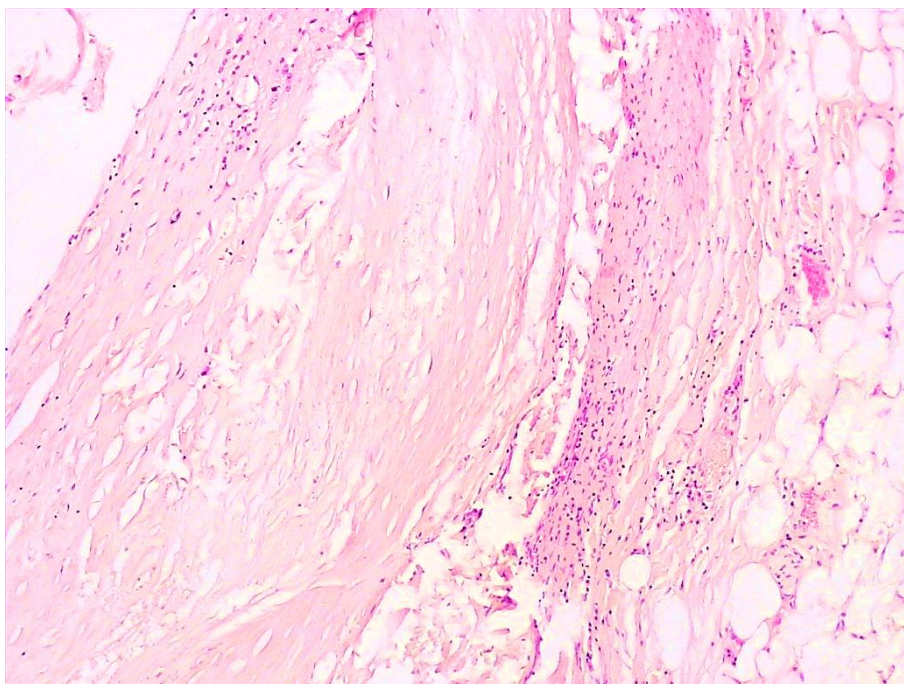


Рис. 5. Нестабильная АБ коронарной артерии сердца: крупная атерома с вовлечением интимы, меди с резкой атрофией мышечной оболочки с окружающей лимфоцитарной инфильтрацией слоев. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение x200

Полученные морфологические данные об особенностях строения нестабильных АБ коронарных артерий сердца обобщены в таблице 2.

Таблица 2

Морфологические особенности строения нестабильных АБ коронарных артерий сердца
(средние значения)

Тип нестабильной АБ	S атеромы (%)	S фиброзной покрышки (%)	S кальциноза (%)	S кровоизлияний (%)	Кол-во пенистых клеток	Кол-во лимфоцитов	Кол-во сосудов
С пенистыми клетками	53 (± 3,43)	14 (± 2,54)	—	—	44 (± 2,54)	5,4 (± 2,07)	—
С кровоизлиянием	62,4 (± 2,4):	14 (± 2,25)	—	47,6 (± 1,14)	54,6 (± 3,04)	—	—
С кальцинозом	94 (± 2,23)	5,2 (± 1,30)	74,80 (± 3,11)	—	—	—	—

С неоангиогенезом	63 (\pm 2,07)	4,40 (\pm 1,14)	–	–	4,40 (\pm 1,51)	–	8,40 (\pm 1,14)
С хроническим воспалением	84 (\pm 2,23)	5 (\pm 1,58)	–	–	–	95,6 (\pm 3,04)	–

Примечание: S – площадь поражения (%); стандартное отклонение (\pm).

Полученные морфологические данные позволили выделить пять вариантов нестабильных АБ КА сердца: 1) с преобладанием пенистых клеток (макрофагов); 2) с внутрисстеночным кровоизлиянием в бляшку; 3) с дистрофическими изменениями и кальцинозом бляшки; 4) с признаками неоангиогенеза в бляшке; 5) с хроническим воспалением в бляшке.

Основными морфологическими ориентирами, позволившими выделить данные варианты нестабильной АБ, были: площадь атеромы, площадь фиброзной покрышки, площадь кальциноза, площадь кровоизлияний, количество пенистых клеток (макрофагов), количество лимфоцитов, количество сосудов. Эти данные дополняют ранее выполненные работы, посвященные строению атеросклеротических бляшек различных артерий [3, 4, 6], и помогают по-новому взглянуть на их структурные особенности.

Принимая во внимание, что нестабильная АБ представляет собой патологический процесс в динамике развития, можно полагать, что выделенные морфологические варианты могут указывать на различную роль как клеточных, так и внеклеточных компонентов КА. Важное значение, на наш взгляд, в морфогенезе нестабильной АБ имеют пенистые клетки (макрофаги), которые могут иметь как моноцитарное происхождение, так и возникать путем трансдифференцировки из гладкомышечных клеток [9, 10, 11]. По-видимому, пенистые клетки могут выступать не только в роли фагоцитов, осуществлять захват липидных частиц, но и участвовать в секреции тканевых металлопротеиназ, вызывающих деградацию структуры сосудистой стенки – гладкомышечных клеток, коллагеновых волокон, протеогликанов или цитокинов (интерлейкинов), фактора роста эндотелия сосудов [13].

Возможно, дефицит энзимов фагоцитов при избыточной липидной инфильтрации стенки КА может вызвать апоптоз самих клеток с последующим накоплением солей кальция в стенке. Однако данное положение требует дальнейшего биохимического и молекулярно-генетического исследования.

Заключение

Представленное морфологическое исследование особенностей строения нестабильных АБ КА сердца дополняет представление о прогрессировании атеросклероза.

Выделены пять морфологических вариантов нестабильных АБ: 1) с преобладанием пенистых клеток (макрофагов); 2) с внутристеночным кровоизлиянием в бляшку; 3) с дистрофическими изменениями и кальцинозом бляшки; 4) с признаками неоангиогенеза в бляшке; 5) с хроническим воспалением в бляшке. Нестабильные АБ с дистрофическими изменениями, кальцинозом не сопровождалось развитием хронического воспаления в бляшке. Данный морфотип нестабильной АБ может играть существенную роль в развитии стенозирования КА.

Нестабильные АБ с наличием хронического воспаления, неоангиогенеза и внутристеночного кровоизлияния, вероятно, могут иметь значение в генезе расслоения бляшки с последующим тромбообразованием.

Дальнейшее изучение клеточно-межклеточных взаимоотношений в АБ КА с выделением их морфотипов позволит уточнить патогенез нестабильности, что имеет большое практическое значение при прогнозировании течения ИБС.

Список литературы

1. World Health Organization Media Centre: Cardiovascular Disease. [Электронный ресурс]. URL: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) (дата обращения: 27.07.2021).
2. Kádár A., Glasz T. Development of atherosclerosis and plaque biology. Cardiovascular surgery. 2001. vol. 9 no.2. P. 109-21. DOI: 10.1016/s0967-2109(00)00097-1.
3. Hafiane A. Vulnerable Plaque, Characteristics, Detection, and Potential Therapies. Journal of cardiovascular development and disease. 2019. vol. 6 no. 3 P. 26. DOI: 10.3390/jcdd6030026.
4. Moreno P.R. Vulnerable plaque: definition, diagnosis, and treatment. Cardiology clinics. 2010. vol. 28. no. 1. P. 1-30. DOI: 10.1016/j.ccl.2009.09.008.
5. Ponticos M., Smith B.D. Extracellular matrix synthesis in vascular disease: hypertension, and atherosclerosis. Journal of biomedical research. 2014. vol. 28 no. 1. P. 25-39. DOI: 10.7555/JBR.27.20130064.
6. Mushenkova N.V, Summerhill V.I., Zhang D., Romanenko E.B., Grechko A.V., Orekhov A.N. Current Advances in the Diagnostic Imaging of Atherosclerosis: Insights into the Pathophysiology of Vulnerable Plaque. International journal of molecular sciences. 2020. vol. 21. no. 8. P. 2992. DOI: 10.3390/ijms21082992.

7. Mohammad Mirzaei N., Weintraub W.S., Fok P.W. An integrated approach to simulating the vulnerable atherosclerotic plaque. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. 2020. vol. 319 no. 4. P. 835-846. DOI: 10.1152/ajpheart.00174.2020.
8. Stefanadis C., Antoniou C.K., Tsiachris D., Pietri P. "Coronary Atherosclerotic Vulnerable Plaque: Current Perspectives. *Journal of the American Heart Association* 2017. vol. 6. P. e005543. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/JAHA.117.005543> (дата обращения: 27.07.2021). DOI: 10.1161/JAHA.117.005543.
9. Тодоров С.С. Роль гладких мышечных клеток и макрофагов в развитии осложненных форм атеросклероза артерий // *Кардиология*. 2019. Т. 59 № 1 С. 57-61. DOI: 10.18087/cardio.2019.1.10207.
10. Woollard K.J., Frederic Geissmann. Monocytes in atherosclerosis: subsets and functions. *Nature reviews. Cardiology* 2010. vol. 7 no.2. P. 77-86. DOI: 10.1038/nrcardio.2009.228.
11. Allahverdian S., Chehroudi A.C., McManus B.M., Abraham T., Francis G.A. Contribution of intimal smooth muscle cells to cholesterol accumulation and macrophage-like cells in human atherosclerosis. *Circulation*. 2014 . vol. 129. no. 15 P. 1551-1559. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.005015.
12. Sun D., Ma T., Zhang Y., Zhang F., Cui B. Overexpressed miR-335-5p reduces atherosclerotic vulnerable plaque formation in acute coronary syndrome. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2021. vol. 35. no. 2. P. e23608. [Электронный ресурс]. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcla.23608> (дата обращения: 27.07.2021). DOI: 10.1002/jcla.23608.
13. Пигаревский П.В., Снегова В.А., Назаров П.Г. Макрофаги и их роль в дестабилизации атеросклеротической бляшки // *Кардиология*. 2019. Т. 5. № 4. С. 88-91. DOI: 10.18087/cardio.2019.4.10254.