

Юзефович Н. А., Студеникина Т. М., Мельников И. А.

ИЗУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА СТЕНКИ АОРТЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА ЩЕЛОЧНОЙ ДИССОЦИАЦИИ

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Изучение компонентов стенки аорты и проведение их морфометрического анализа на серийных срезах не всегда дает возможность получения объективных морфологических параметров. Тесная интеграция клеток и экстрацеллюлярного матрикса при обычных методах окраски не позволяют определить форму и границы самих клеток. При анализе серийных срезов в поле зрения попадают различные срезы: косые, поперечные и продольные, которые дают большой разброс значений. Поэтому для получения достоверной информации на обычных срезах необходима большая выборка. Кроме того, неточное представление о строении тех или иных структур при организации и взаимодействии их в тканях затрудняет интерпретацию полученных результатов.

Цель исследования: апробировать метод щелочной диссоциации для изучения клеточных компонентов стенки брюшного отдела аорты человека.

Материал и методы. Для проведения исследования использован аутопсийный материал участков стенки брюшного отдела аорты 20 человек обоих полов в возрасте от 50 до 70 лет. Апробированный метод щелочной диссоциации включал в себя длительную (14–20 суток) фиксацию ткани аорты в 10 % формалине, диссоциацию в 50 % водном растворе КОН в течение 24 часов, гомогенизацию полученного материала, промывку полученной суспензии и нанесение ее на предметное стекло с последующей окраской азур-эозином.

Проводился морфометрический анализ выделенных изолированных гладкомышечных клеток средней оболочки аорты. В каждом случае измерялись площадь, периметр, максимальный и минимальный диаметр клеток и их ядер, рассчитывалось ЯЦО. Вычислялись логарифм их площади, а также их фактор формы и элонгация. Для каждой из указанных количественных характеристик рассчитывалась описательная статистика: среднее, стандартное отклонение, стандартная ошибка, и пр. (дисперсия, коэффициент вариации, асимметрия, эксцесс) [1, 2].

В результате проведения щелочной диссоциации были получены отдельные изолированные компоненты стенки аорты: фрагменты эластических мембран и клетки (гладкие мышечные клетки — ГМК и фибробласты) (рис. 1). Среди выделенного клеточного материала наиболее интересной нам показалась культура гладкомышечных клеток.

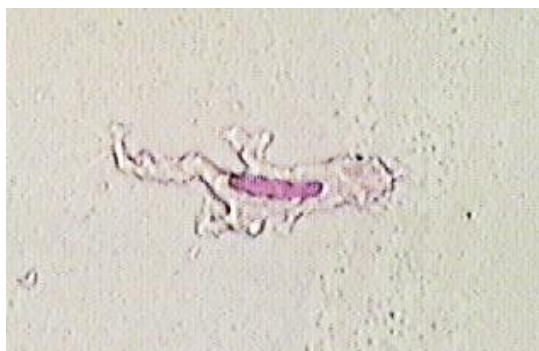




Рис. 1. Клеточный состав стенки брюшного отдела аорты человека. Окраска азур-эозин 2, об. 40×

Гладкие миоциты сосудов являются гетерогенной клеточной популяцией [3, 4]. В соответствие с клеточным фенотипом и функцией выделяют две основные клеточные линии: сократительные (или контрактильные) и синтетические ГМК сосудов. Сократительные клетки обеспечивают тургор сосудов и механические свойства сосудистой стенки в целом. Клетки синтетического типа способны к пролиферации и участвуют в синтезе компонентов экстрацеллюлярного матрикса.

Учитывая различные значения качественных характеристик полученных изолированных гладких миоцитов (встречались клетки как с менее, так и с более вытянутыми уплощенными ядрами), мы решили проанализировать их количественные показатели. Мы изучили гистограммы распределения ядер гладкомышечных клеток по фактору формы и логарифму площади. При анализе логарифма площади выявлялись разные по размерам ядра (несколько вершин на гистограмме), что позволяет предположить наличие двух популяций ГМК (рис. 2).

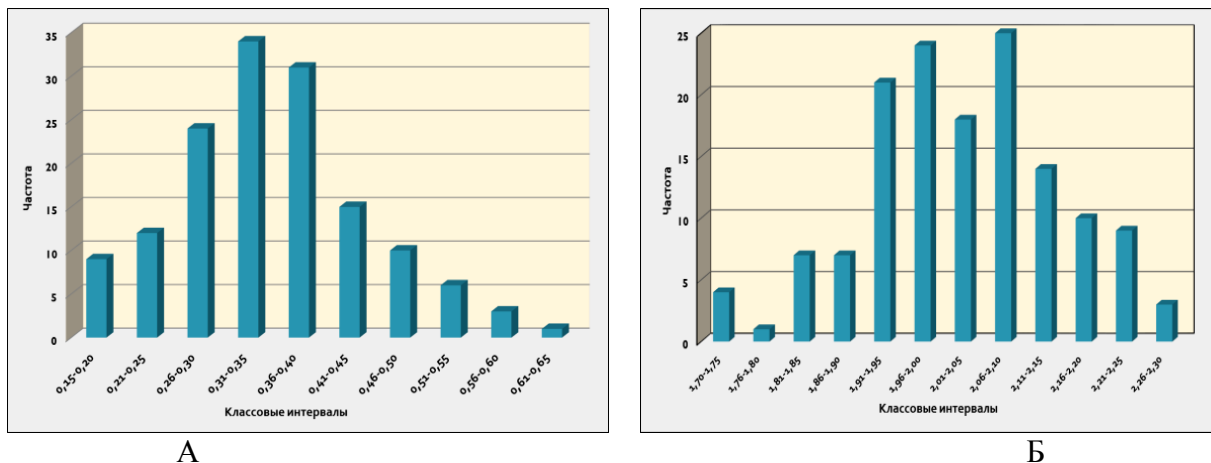


Рис. 2. Гистограммы распределения ядер ГМК клеток стенки аорты человека:

А — гистограммы распределения ядер ГМК по фактору формы; Б — гистограммы распределения ядер ГМК по логарифму площади; по оси абсцисс — интервалы значений фактора формы и логарифма площади, по оси ординат — частота встречаемости значений из этих интервалов

Возможность получения изолированных клеток с четкой визуализацией их границ позволила произвести расчет ядерно-цитоплазматического отношения. Ядерно-цитоплазматическое отношение является важным параметром, отражающим не только взаимосвязи между цитоплазмой и ядром, но и функциональное состояние клетки.

Результаты и обсуждение. При анализе ядерно-цитоплазматического отношения часть клеток имела ЯЦО $0,137 \pm 0,006$ (вероятно, в этих клетках

синтетические процессы проходили более интенсивно и их можно отнести к гладкомышечным клеткам синтетического типа), в других клетках ЯЦО составило $0,072 \pm 0,006$ (возможно в них процессы синтеза протекали менее активно, в связи с чем их можно причислить к гладкомышечным клеткам сократительного типа).

Таким образом, анализ гистограмм позволил выявить гетероморфизм и предположить наличие двух популяций гладкомышечных клеток (сократительного и синтетического типа) в стенке брюшного отдела аорты человека.

Получение изолированного клеточного материала позволило рассчитать ЯЦО. Метод щелочной диссоциации тканей с получением изолированных клеток и их морфометрическим анализом существенно дополняет сведения об особенностях их гистофизиологической структуры.

Выводы:

1. Данный способ позволяет выделять фрагменты тканей стенки аорты, что дает возможность селективного анализа заданных клеток.
2. Анализ результатов применения щелочной диссоциации привел к выводу о наличии двух популяций ГМК в стенке аорты человека.
3. Четкость границ выделенных изолированных клеток обеспечила возможность проведения дополнительных измерений, в частности расчет ядерно-цитоплазматического отношения.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Автандилов, Г. Г.* Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. М. : Медицина, 1990. 384 с.
2. *Гуцол, А. А.* Практическая морфометрия органов и тканей : монография / А. А. Гуцол, Б. В. Кондратьев. Томск : изд-во Томского ун-та, 1988. 134 с.
3. *Archer, S. L.* Diversity of phenotype and function of vascular smooth muscle cells / S. L. Archer // *J. Lab. Clin. Med.* 1996. Vol. 127. P. 524–529
4. *Owens, G. K.* Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease / G. K. Owens, M. S. Kumar, B. R. Wamhoff // *Physiol. Rev.* 2004. Vol. 84. P. 767–801.

Yuzefovich N. A., Studenikina T. M., Melnikov I. A.

Stadying of the cellular composition of an aortic wall by using of the method of alkaline dissociation

Belarusian State Medical University, Minsk

The method of alkaline dissociation in studying of the components of aortic wall was applied. The separate smooth muscle cells of the middle layer of the abdominal part of the aortic wall were received. The morphological analysis was carry out.

Key words: alkaline dissociation, aorta, smooth muscle cells.