

А.В. Балацкий, П.А. Тюрин-Кузьмин, М.Н. Балацкая

ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
факультет фундаментальной медицины, г. Москва, Россия.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ УНИКАЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ПОПУЛЯЦИИ В ТИПИЧНЫХ МЕСТАХ РАЗВИТИЯ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ

Несмотря на огромную медицинскую значимость атеросклероза, его молекулярные и клеточные механизмы до конца не ясны. Хорошо известно, что атеросклероз чаще всего развивается в типичных местах – изгибах и бифуркациях артериального русла. Однако подавляющее большинство атерогенных факторов, таких как возраст, гиперлипидемия, ожирение и курение действуют системно, и, следовательно, существует механизм индукции формирования атеросклеротического поражения. Современные представления об атерогенезе значительную роль в формировании атеросклеротических бляшек в конкретных местах отводят напряжению сдвига, меняющемуся при переходе ламинарного потока крови в турбулентный в изгибах и разветвлениях сосудов. Действительно, при изменении напряжения сдвига меняется уровень экспрессии различных генов в сосудистой стенке, однако в организме человека существуют относительно прямые участки артерий, где атеросклеротические поражения возникают достаточно часто – например, средний сегмент передней нисходящей коронарной артерии. Примечательно, что у ApoE-дефицитных мышей (модель атеросклероза у животных) коронарный атеросклероз не развивается, хотя анатомия их коронарного русла принципиально не отличается от таковой у человека.

Мы предположили, что в типичных местах развития атеросклеротических поражений располагаются клетки, оказывающие существенное влияние на начальные стадии этого процесса. Наиболее вероятными кандидатами на эту роль являются перициты – прогениторные клетки интимы, формирующие скопления под эндотелием и обладающие, в частности, способностью аккумулировать липиды, а также запускать внутриклеточную кальциевую сигнализацию под действием ангиотензина II, являющегося проатерогенным фактором. Однако иммунофенотип перицитов интимы крупных сосудов изучен мало, что затрудняет их идентификацию.

Цель работы - идентификация популяций клеток, расположенных в типичных местах развития атеросклеротических поражений и потенциально вовлечённых в их развитие, а также изучение реакции этих клеток на ангиотензин II.

Материалы и методы. В работе использовались мыши C57BL/6, а также трансгенные мыши, несущие ген GFP под промотором нестина. После эвтаназии при

помощи CO₂ из животных выделялись аорты от сердца до почечных артерий, после чего аорты вскрывались продольно для иммуногистохимической окраски целиком или замораживались для последующего изготовления срезов. Для окраски использовались антитела к маркерам перицитов – протеогликану NG2, рецептору тромбоцитарного фактора роста бета (PGFR β) а также антитела к eGFP для лучшей идентификации нестина и к CD31 для визуализации эндотелия. Визуализация проводилась при помощи конфокального микроскопа Zeiss LSM780. Субэндотелиальные прогениторные клетки выделялись в культуру для оценки внутриклеточного кальциевого ответа на действие ангиотензина II. Для этого клетки нагружались флуоресцентным кальциевым сенсором Fluo-8 и обрабатывались ангиотензином II, после чего проводилась серийная съёмка при помощи высокоскоростной системы для прижизненной съёмки клеток на основе инвертированного флуоресцентного микроскопа Nikon Ti.

Результаты. Известно, что в различных тканях перициты могут быть как нестин-положительными, так и нестин-отрицательными. Нами было продемонстрировано, что нестин-положительные клетки локализуются в адвентиции аорты и её крупных ветвей, однако они не встречаются в субэндотелиальном слое. В то же время при окраске срезов аорты антителами к NG2 были выявлены клетки, экспрессирующие большое количество данного антигена и располагающиеся в местах отхождения от аорты её крупных ветвей. Также при окраске аорт целиком было выявлено концентрическое расположение NG-2 положительных клеток вокруг устьев мелких сосудов, а также на малой кривизне дуги аорты. Эти клетки также экспрессируют PGFR β , что позволяет идентифицировать их как прогениторные клетки мезенхимального происхождения (перициты или незрелые гладкомышечные клетки). В ответ на действие ангиотензина II культуре данные клетки демонстрируют внутриклеточную кальциевую сигнализацию.

Заключение. Мы идентифицировали уникальную популяцию прогениторных клеток мезенхимального происхождения, локализованную в типичных местах развития атеросклеротических поражений. Эти клетки реагируют на ангиотензин II, являющийся проатерогенным фактором, что свидетельствует об их возможной роли в атерогенезе. Свойства прогениторных клеток мезенхимального происхождения, локализованных в интима артерий, нуждаются в дальнейшем изучении.