

УДК 547.922:616-005.6-092.4

А.Е.Поляков

Кристаллический холестерин как фактор тромбообразования

Застосовуючи розроблену модель тромбоутворення з використанням як індуктора тромбоза кристалічного холестерину в експерименті на тваринах (барани, кролики) одержано тромби, які є тотожними за морфологічною мікроструктурою обтуруючим тромбам уражених атеросклерозом артерій людини. «Головка» (конглютинаційна частина) таких тромбів складається з маси тромбоцитів, яка утворює розгалужені трабекули, що оточені лейкоцитарною каймою. Подовжена (коагуляційна) частина сформована з фібрину та еритроцитів й утворює іншу частину тромбів. Одержані результати дозволяють розглядати кристалічний холестерин атероматозних бляшок як вірогідний пусковий фактор тромбоутворення при атеросклерозі.

Введение

Тромбоз пораженных атеросклерозом артерий является непосредственной причиной развития инфаркта миокарда, мозгового инсульта и других острых патологических состояний [4, 9, 18, 19]. Основную роль в образовании тромба играют, так называемый «местный» фактор, способный локально иницировать адгезию и агрегацию тромбоцитов; изменение электрического заряда поврежденного эндотелия, поверхность фибриллярного коллагена и гладкомышечных клеток, тромбин, аденозиндифосфат, серотонин, тромбоксан A₂, адгезивные белки (фактор Виллебранда, фибриноген, фибронектин) и ряд других физиологически активных веществ [2, 6—8, 13, 15]. Однако триггерные механизмы тромбоза окончательно не выяснены. Гистопографическими исследованиями установлено, что практически всегда местом тромбообразования является изъязвленная атерома (стадия осложненных поражений атеросклероза). При этом атероматозный детрит, в том числе кристаллический холестерин (ХС), имеет непосредственную морфологическую связь с «головкой» тромба [4, 17—19].

Целью нашей работы было выяснение роли кристаллического ХС в тромбогенезе.

Методика

Исследования выполнены на 3 баранах массой 36 (6 опытов), 39 (8 опытов) и 44 кг (8 опытов) в возрасте 1,2 и 5 лет и на 20 кроликах-самцах (20 опытов) массой от 2 до 2,6 кг в возрасте 5—8 мес. Тромбоз моделировали [14] с помощью силиконированного устройства (рис. 1), состоящего из пункционной металлической иглы с внутренним диаметром 1 мм для опытов на баранах и 2 мм — на кроликах (1), спаянной с гладкостенной стеклянной трубкой с внутренним диаметром 2,5 мм, длиной 150 мм (2), просвет трубки сообщался с емкостью для кристаллического ХС. (3) через отверстие диаметром 2 мм (4) (имитация изъязвленной атеросклеротической бляш-

ки). Иглой устройства пунктировали предварительно выведенный в кожный лоскут общий ствол правой сонной артерии барана или обнаженную бедренную артерию кролика (5). Кровь, пропущенная через устройство, выливалась наружу до тех пор, пока в месте ее контакта с кристаллическим ХС не образовывался тромб.

Препараты тромбов исследовали в световом микроскопе. Для изучения ультраструктуры тромботических масс использовали электронный микроскоп «Н-11 Е-1» фирмы «Hitachi» (Япония).

Результаты

В каждом из проведенных опытов в месте контакта крови с кристаллическим ХС образовывался обтурирующий просвет (6) стеклянной трубки устройства для моделирования тромбоза (см. рис. 1). Время образования тромбов варьировало в экспериментах на баранах от 8 мин до 12 мин 40 с ($10 \text{ мин } 12 \text{ с} \pm 23 \text{ с}$), на кроликах — от 2 мин 55 с до 5 мин 20 с ($3 \text{ мин } 44 \text{ с} \pm 10 \text{ с}$). Протяженность тромбов составила 16 — 25 мм ($19,0 \text{ мм} \pm 0,5 \text{ мм}$) и 10 — 15 мм ($12 \text{ мм} \pm 0,4 \text{ мм}$) соответственно.

При исследовании тромбов в световом микроскопе установлено, что начальная их часть состояла из базофильных зернистых масс протяженностью 2 — 4 мм, которые образовывали ветвящиеся трабекулы в виде «кораллового рифа». На поверхности таковых определяли клетки белой крови, главным образом, нейтрофильные лейкоциты в виде лейкоцитарной «каймы». Продолженная часть состояла из фибрина и эритроцитов, заполняла пространство между трабекулами и составляла остальную массу тромбов (рис. 2). При исследовании в электронном микроскопе базофильные зернистые массы представляли собой находившиеся в процессе вязкого метаморфоза частично дегранулированные, вакуолизированные, слипшиеся друг с другом тромбоциты (рис. 3).

Обсуждение

Тромбы, образующиеся при атеросклерозе человека, имеют смешанную (конглоутинационно-коагуляционную) структуру [10]. «Головка» (конглоутинационная часть) таких тромбов состоит из массы тромбоцитов, которая формирует ветвящиеся трабекулы, окруженные лейкоцитарной «каймой». Продолженная (коагуляционная) часть состоит из фибрина и эритроцитов, заполняет пространство между трабекулами и часто распространяется до ближайшего ответвления артерии, а в 1/3 случаев коронарного тромба заполняет весь ее просвет. Тесная анатомическая связь тромба с элементами атероматозного содержимого, в том числе кристаллами ХС, часто включенными в тромбоцитарную его часть, позволяет предположить, что тромбообразование происходит в момент разрыва «покрышки» бляшки и контакта атероматозного детрита с кровью [4].

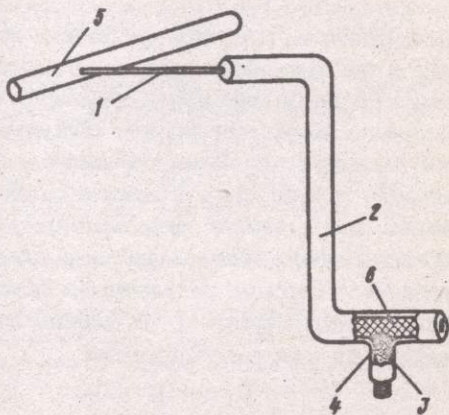


Рис. 1. Схема моделирования тромбоза (объяснения в тексте).

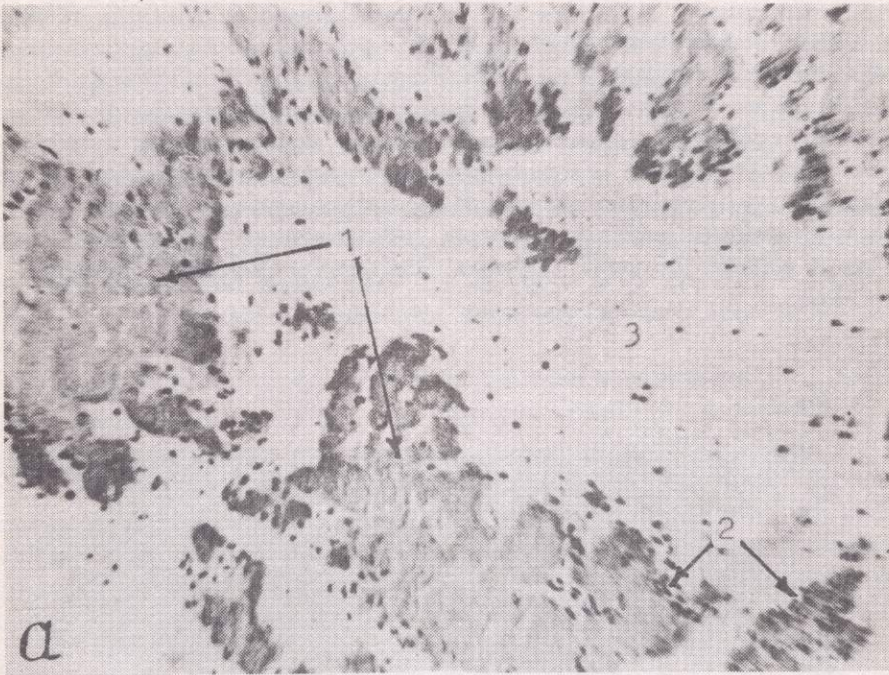


Рис. 2. Микроструктура тромба полученного в эксперименте на баране (а) и на кролике (б). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 180: 1 — тромбоцитарные трабекулы, 2 — лейкоцитарная «кайма», 3 — фибрин, 4 — эритроциты.

Формирование тромбоцитарной «головки» легло в основу представления о том, что тромбоз возникает как феномен адгезии и агрегации кровяных пластинок в результате нарушения эндотелиального барьера, обнажения субэндотелия и его контакта с компонентами крови [13]. Однако следует отметить, что в пораженных атеросклерозом артериях при наличии значительного числа очагов десквамации эндотелия, обтурирующий тромбоз возникает исключительно в изъязвленных атероматозных бляшках. Об этом свидетельствуют патологоанатомические исследования, в том числе и работы, выполненные методом серийных гистологических срезов коронарных артерий сердца умерших больных вследствие инфаркта миокарда [4, 17—19].

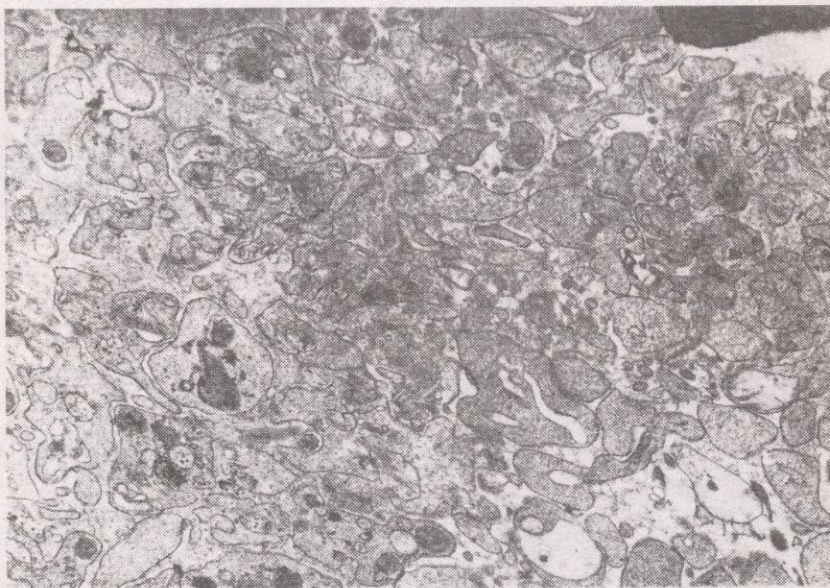


Рис. 3. Ультраструктура конглотинационной части тромба, полученного в эксперименте на баране. Ув. 7900.

По данным электронной микроскопии в участках интимы с поврежденным эндотелием прилипание кровяных пластинок к элементам сосудистой стенки носит весьма ограниченный характер [5, 12]. Сходные результаты получены в опытах *in vitro*. Так, плотность адгезии на поверхности эндотелиальных клеток артерий человека составляет в среднем 2 700 [7], фибриллярного коллагена — 16 000 [6], гладкомышечных клеток из меди — 10 000 — 20 000 тромбоцитов на 1 мм^2 [2]. Таким образом, плотного насыщения подложки кровяными пластинками не происходит, клетки располагаются поодиночке и редко в виде содержащих до 50 тромбоцитов микроагрегатов, что, собственно, отличает адгезию от образования тромба, конглотинационная часть которого, согласно расчетам включает $1 \cdot 10^9$ — $2 \cdot 10^9$ кровяных пластинок. Данные результаты, свидетельствующие об участии «местных» факторов в адгезии тромбоцитов, не являются достаточными для вывода о том, что эти же факторы имеют определяющее значение

ние в образовании обтурирующих конглоутационно-коагуляционных тромбов.

Осуществляемое на животных *in vivo* экспериментальное моделирование тромбообразования, где для индукции процесса используют повреждение сосудистой стенки, обеспечивает воспроизведение коагуляционных тромбов [16]. При хирургических травмах артерий человека также образуются тромбы с фибрин-эритроцитарной структурой [9].

С другой стороны, использование в качестве индуктора тромбообразования кристаллического ХС, при исключении предусмотренном методикой влияния каких-либо других факторов адгезии и агрегации тромбоцитов, позволяет воспроизвести смешанные (конглоутационно-коагуляционные) тромбы.

Способность кристаллов ХС к электрической поляризации [3] и наличие электростатических зарядов у тромбоцитов, лейкоцитов и эритроцитов побуждает рассматривать интимные механизмы тромбообразования, индуцированного кристаллическим ХС, как электрическое взаимодействие последнего с форменными элементами крови. Можно предположить, что различный заряд и, следовательно, различная электрофоретическая подвижность клеток — максимальная у тромбоцитов, менее выраженная у лейкоцитов и минимальная у эритроцитов [1, 11] — обуславливает определенную последовательность их участия в образовании тромба: формирование тромбоцитарной «головки», лейкоцитарной «каймы» и эритроцитарной (продолженной) части.

Таким образом, кристаллы ХС при контакте с потоком крови экспериментальных животных и, по-видимому, в результате электрического взаимодействия с форменными элементами инициируют образование тромбов, тождественных по морфологической микроструктуре обтурирующим конглоутационно-коагуляционным тромбам при атеросклерозе человека, что позволяет рассматривать кристаллический ХС атероматозных бляшек как вероятный пусковой фактор тромбообразования.

A.E. Polyakov

CRYSTALLINE CHOLESTEROL AS THE THROMBOGENIC FACTOR DURING ATHEROSCLEROSIS

The model using crystalline cholesterol as the thrombogenic process inductor was developed. Thrombi that are morphologically equivalent to the human arterial thrombi under atherosclerosis were created in experiment on standard animals. It was shown that the «head» (conglutination part) of such thrombi includes the thrombocyte mass, organised into the system of branched trabeculae surrounded by leucocytic lymph. The «caudal» (coagulation part) of the experimentally obtained thrombi consists of fibrin and erythrocytes. Data obtained make it possible to consider crystalline cholesterol of atheromatous plaques as the most probable trigger factor of thrombogenesis during atherosclerotic process.

N.I. Pirogov Odessa Medical Institute
Ministry of Public Health of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Березовский В.А., Колотилев Н.Н. Биофизические характеристики тканей человека: Справочник / Под ред. П.Г.Костюка. — К.: Наук. думка, 1990. — 224 с.
2. Герасимова Е.Н., Климов А.Н., Репин В.С. Молекулярные и клеточные аспекты атерогенеза и тромбогенеза: Кардиология в СССР / Под ред. Е.И.Чазова. — М.: Медицина, 1982. — С. 81—100.
3. Губкин А.Н. Электреты. — М.: Наука, 1978. — 192 с.
4. Жданов В.С. Современные вопросы патологической анатомии ишемической (коронарной) болезни сердца // Кардиология. — 1987. — № 10. — С. 5—12.
5. Крымский Л.Д., Нестайко Г.В., Рыбалов А.Г. Растровая электронная микроскопия сосудов и крови. — М.: Медицина, 1976. — 168 с.
6. Лейтин В.Л., Миссельвиц Ф., Любимова Е.В., Домогатский С.П. Взаимодействие тромбоцитов с иммобилизованными коллагенами сосудистой стенки (модель для постадийного изучения образования пристеночных тромбов : Кардиология. — 1989. — № 9. — С. 74—77.
7. Любимова Е.В., Орехов А.Н., Лебедева Л.Л., Лейтин В.Л. Сравнение адгезивных и тромбогенных свойств клеток сосудистой стенки человека в культуре // Стенка сосуда в атерогенезе / Под ред. Е.И.Чазова, В.Н.Смирнова. — М.: Медицина, 1983. — С. 182—190.
8. Марков Х.М. Простаглицин-тромбоксановый баланс и факторы риска ишемической болезни сердца // Кардиология. — 1989. — № 9. — С. 5—12.
9. Могош Г. Тромбозы и эмболии при сердечно-сосудистых заболеваниях. — Бухарест: Науч. и энциклопедич. изд-во, 1979. — 576 с.
10. Пожариский И.Ф. Основы патологической анатомии. — Варшава: Типогр. Варшав. учебн. округа, 1914. — Т. I. — 348 с.
11. Попов М.П. К методике микроэлектрофореза клеток крови // Лаб. дело. — 1976. — № 9. — С. 520—523.
12. Репин В.С., Долгов В.В., Зайкина О.Э., Поздняков О.М. Полиморфизм и повреждение эндотелия: количественная оценка методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) : Стенка сосуда в атерогенезе и тромбогенезе / Под ред. Е.И.Чазова, В.Н.Смирнова. — М.: Медицина, 1983. — С. 14—31.
13. Струкова С.М., Струков А.И. Морфологические и молекулярные аспекты взаимодействия тромбоцитов с элементами сосудистой стенки // Арх. патологии. — 1989. — № 6. — С. 3—12.
14. А.с. 943819 СССР, МКИ³ G 09 В 23/28. Способ моделирования тромбообразования / А.Е.Поляков (СССР). Оpubл. 15.07.82, Бюл. 26.
15. Chesebro J.H., Fuster V. Dynamic thrombosis and thrombolysis. Role of antithrombins // Circulation. — 1991. — 83, № 5. — P. 1815—1817.
16. Day H.G., Molony B.A., Nishizawa E.E., Rynbrandt R.H. Thrombosis animal and clinical models. — New York: Plenum Press, 1978. — 337 с.
17. Fuster V., Stein B., Ambrose J.A. et al. Atherosclerotic plaque rupture and thrombosis. Evolving concepts // Circulation. — 1990. — 82, suppl. 3. — P. 1147—1159.
18. Horie T., Sekiguchi M., Hirose K. Coronary thrombosis in pathogenesis of acute myocardial infarction. Histopathological study of coronary arteries in 108 necropsied cases using section // Brit. Heart. — 1978. — 40, № 2. — P. 153—161.
19. Ridolfi R.L., Hutchins G.M. The relationship between coronary artery lesion and myocardial infarcts: Ulceration of atherosclerotic plaques precipitating coronary thrombosis // Amer. Heart J. — 1977. — 93, № 4. — P. 468—486.

Одес. мед. ин-т им.Н.И.Пирогова
М-ва здравоохранения Украины

Материал поступил
в редакцию 06.06.94