

## ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ МОДУЛЯЦИИ ГЛАДКИХ МИОЦИТОВ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

*Юзефович Н.А., Студеникина Т.М., Мельников И.А.,  
УО «Белорусский государственный медицинский университет»*

*Минск, Беларусь  
histology@bsmu.by*

*Работа посвящена иммуногистохимическому исследованию экспрессии ламинина в средней оболочке стенки интактной брюшной аорты человека в возрастных группах с 1 года до 70 лет у лиц мужского и женского пола. Изучена экспрессия ламинина в разных возрастных группах у мужчин и женщин и установлен характер ее возрастных изменений.*

**Ключевые слова:** *иммуногистохимический анализ; ламинин; аорта.*

## RESEARCH OF PHENOTYPIC MODULATION OF VASCULAR WALL SMOOTH MUSCLE CELLS USING IMMUNOHISTOCHEMICAL METHODS

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

*Belarusian State Medical University  
Minsk, Belarus*

*The work is devoted to the immunohistochemical research of the expression of laminin in abdominal part of the aortic media in normal in the age groups from 1 to 70 years in men and women. The expression of laminin in different age groups in men and women was studied and the nature of its age-related changes was established.*

**Key words:** *immunohistochemical analysis; laminin; aorta.*

На протяжении постнатального периода онтогенеза в сосудистой стенке происходят изменения, связанные, в первую очередь, с функциональными особенностями гладких миоцитов, участвующих в формировании внеклеточного матрикса и являющихся основным источником волокнистых компонентов.

Установлено, что в процессе развития сосудистой стенки и в ответ на повреждение гладкие миоциты способны модулировать свой фенотип [1, 2]. При «созревании» клеток происходит переход гладких миоцитов синтетического типа в сократительный. Этот процесс сопровождается увеличением содержания миофиламентов, уменьшением количества органелл синтеза [6]. В ответ на воздействие повреждающих факторов и механических стимулов гладкие миоциты сократительного типа способны превращаться в гладкие миоциты синтетического типа [7, 8], тем самым изменяя механические свойства сосудистой стенки.

На сегодняшний день в гистологических исследованиях широко применяются иммуногистохимические методы. Наиболее оптимальным способом, с помощью которого можно дифференцировать гладкие миоциты синтетического и сократительного типов, является определение белка базальных мембран ламинина. Главные функции ламинина, как одного из основных белков экстрацеллюлярного матрикса, определяются его способностью не только связывать клетки, но и модулировать клеточное

поведение, обеспечивая тканевой гомеостаз. Он может влиять на рост, морфологию, дифференцировку и подвижность клеток [4, 5]. Сократительные гладкие миоциты сосудов встроены в экстрацеллюлярный матрикс в окружении неполной базальной мембраны [3]. В сосудистой стенке активированные гладкие миоциты при смене сократительного фенотипа на синтетический теряют свои базальные мембраны. Это сопровождается снижением экспрессии ламинина. Возврат гладких миоцитов к сократительному фенотипу сопровождается восстановлением базальных мембран. Таким образом ламинин, являющийся составным компонентом базальных мембран гладких миоцитов, является маркером для изучения морфологических изменений в ходе фенотипической модуляции.

Для проведения иммуногистохимического анализа в работе использованы гистологические препараты аутопсийного материала стенки интактной брюшной аорты 30 человек в возрасте от 1 года до 70 лет. Значения удельной площади ламинина представлены в виде медианы и интерквартильного размаха между 25-й и 75-й процентилями. Достоверность различий оценивалась по критерию Манна-Уитни. В качестве критерия достоверности различий показателей принимали уровень значимости  $p < 0,05$ .

Светомикроскопическое исследование гистологических препаратов стенки интактной аорты выявило неодинаковую экспрессию ламинина в разных возрастных группах. Связываясь с ламинином базальных мембран, формирующихся вокруг гладких миоцитов, окрашенные участки вытягивались в экстрацеллюлярном матриксе между окончатými эластическими мембранами, напоминая очертания гладких миоцитов. При этом большее количество и более интенсивная окраска участков отмечались в возрасте около 40 лет.

Для объективизации данных мы определяли удельную площадь ламинина. Отмечалось постепенное увеличение значений удельной площади от 1 года до 40 лет, после чего показатели экспрессии ламинина стали уменьшаться. Максимальные значения удельной площади при сохранении вариационного разброса отмечались в возрасте около 40 лет как у мужчин, так и у женщин.

Учитывая характер возрастной динамики удельной площади ламинина у мужчин и женщин, проводилось сравнение соседних возрастных групп. На основании изучения точечных диаграмм для мужчин изучались группы 1-15, 16-40, и 41-70 лет, для женщин - 1-25, 26-40 и 41-70 лет. Медианные значения удельной площади ламинина у мужчин составили: в возрасте 1-15 лет – 2,35 (1,54-2,64), 16-40 лет – 5,34 (3,97-5,62), 41-70 лет – 3,19 (1,82-4,04). Медианные значения удельной площади ламинина у женщин составили: в возрасте 1-25 лет – 2,14 (1,97-2,38), 26-40 лет – 4,31 (3,05-5,43), 41-70 лет – 2,68 (2,23-3,06).

Возрастная динамика экспрессии ламинина в средней оболочке интактной аорты отличается у мужчин и у женщин. Сравнение по критерию Манна-Уитни выявило статистически значимые различия между возрастными группами 1-15 и 16-40 лет у мужчин, 1-25 и 26-40 лет у женщин. Значения удельной площади ламинина достоверно увеличиваются у мужчин раньше (после 15 лет,  $p=0,02$ ), чем у женщин (после 25 лет,  $p=0,037$ ). Это, вероятно,

свидетельствует о том, что у мужчин процессы фенотипической модуляции гладких миоцитов начинаются раньше, чем у женщин. После указанного возраста независимо от пола этот показатель не изменяется до 40 лет ( $p > 0,05$ ), а после 40 лет отмечается тенденция к его снижению. Следовательно, до 15 лет у мужчин и до 25 лет у женщин превалирует синтетический фенотип, затем увеличивается количество гладкомышечных клеток сократительного типа, после 40 лет соотношение вновь смещается в пользу синтетического фенотипа.

Таким образом, на протяжении постнатального периода онтогенеза от 1 до 70 лет у мужчин и женщин гладкие миоциты средней оболочки интактной брюшной аорты характеризуются морфологической и функциональной гетерогенностью с преобладанием синтетического или сократительного фенотипа в определенные возрастные периоды.

### Список литературы

1. Alexander, M. R. Epigenetic control of smooth muscle cell differentiation and phenotypic switching in vascular development and disease / M. R. Alexander, G. K. Owens // *Annu. Rev. of Physiol.* – 2012. – Vol. 74. – P. 13–40.
2. Davis-Dusenbery, B. N. Micromanaging vascular smooth muscle cell differentiation and phenotypic modulation / B. N. Davis-Dusenbery, C. Wu, A. Hata // *Arterioscler. Thromb. and Vasc. Biol.* – 2011. – Vol. 31, № 11. – P. 2370–2377.
3. Extracellular matrix of the human aortic media: an ultrastructural histochemical and immunohistochemical study of the adult aortic media / K. P. Dingemans [et al.] // *The Anat. Rec.* – 2000. – Vol. 258, № 1. – P. 1–14.
4. Extracellular matrix protein laminin induces matrix metalloproteinase-9 in human breast cancer cell line mcf-7 / S. Pal [et al.] // *Cancer Microenviron.* – 2014. – Vol. 7, № 1-2. – P. 71–78.
5. Harisi, R. Extracellular matrix as target for antitumor therapy / R. Harisi, J. Jeney // *Onco Targets and Ther.* – 2015. – Vol. 8. – P. 1387–1398.
6. Moiseeva, E. P. Adhesion receptors of vascular smooth muscle cells and their functions / E. P. Moiseeva // *Cardiovasc. Res.* – 2001. – Vol. 52, № 3. – P. 372–386.
7. Nicotine exposure alters human vascular smooth muscle cell phenotype from a contractile to a synthetic type / S. Yoshiyama [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2014. – Vol. 237, № 2. – P. 464–470.
8. Regional dependency of the vascular smooth muscle cell contribution to the mechanical properties of the pig ascending aortic tissue / D. Tremblay [et al.] // *The J. of Biomech.* – 2010. – Vol. 43, № 12. – P. 2448–2451.