

Aneta Dymecka¹, Mieczysław Pokorski¹, Michał Walski²

¹Zakład Neurobiologii Oddychania, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie

²Zakład Ultrastruktury Komórki, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie

Starzenie się kłębków szyjnych a miażdżycza tętnic szyjnych u szczura

Aging of carotid bodies and atherosclerosis of carotid arteries

Abstract

Background. Carotid arteries supply blood to the carotid bodies, organs that generate respiratory responses to hypoxia. Carotid body parenchyma undergoes degenerative changes with age. The aim of the present study was to investigate the hypothesis that atherosclerosis of the carotid arteries, leading to blood flow obstruction and consequently hypoxia, could underlie age-changes in the carotid bodies.

Material and methods. The study was performed on anesthetized rats in two age groups: young — 2 months and old — 24 months of age. Fragments of the carotid body bifurcation were dissected for an ultrastructural evaluation.

Results. There were only minor changes in the elastin layer of the arterial wall with breaks in this layer continuity, increased number of collagen fibrils, and changed fenotype of smooth muscle cells.

Conclusions. Relatively small age-changes in the carotid arteries, which cannot cause blood flow obstruction, do not seem to explain profound degeneration of aged carotid bodies. Age-changes in the carotid bodies may thus reflect a process of true physiological aging.

key words: atherosclerosis, carotid artery, carotid body, chemoreceptors

Wstęp

Kłębki szyjne, zlokalizowane w pobliżu rozwidlenia się tętnicy szyjnej wspólnej na tętnicę szyjną zewnętrzną i wewnętrzną, odgrywają kluczową rolę w stymulacji oddychania w odpowiedzi na hipoksję. Stymulację zapoczątkowują komórki chemoreceptorowe kłębków, które są ułożone w „gronka” otoczone tkanką łączną i gęstą siecią naczyń kapilarnych. W badaniach przeprowadzonych na szczurach wykazano, że ultrastruktura kłębków szyjnych wraz z wiekiem ulega zmianom degeneracyjnym [1]. Przyczyna tych zmian pozostaje jednak niejasna. Może ona zależeć od niedo-

tlenienia parenchymy kłębków w wyniku upośledzonego przepływu krwi w naczyniach doprowadzających do nich krew, którymi są tętnice szyjne. Tym bardziej, iż wiadomo, że tętnice te, zwłaszcza rejon rozwidlenia tętnicy szyjnej wspólnej, jest u ludzi szczególnie podatny na zmiany miażdżycowe. Wynika to z szybkości i turbulencji przepływu krwi, co powoduje uszkodzenie komórek śródbłonna [2]. Zmiany w kłębkach mogą też być wyrazem procesu starzenia się organu *per se*.

Celem niniejszej pracy była próba rozróżnienia między tymi dwoma mechanizmami przez porównanie zależnych od wieku zmian w tętnicach szyjnych u szczura.

Materiał i metody

Badaniem objęto 10 szczurów rasy Wistar, płci męskiej w wieku 2 i 24 miesiące. Zwierzęta poddano narcozie α -chloralozowo-uretanowej podanej dootrzew-

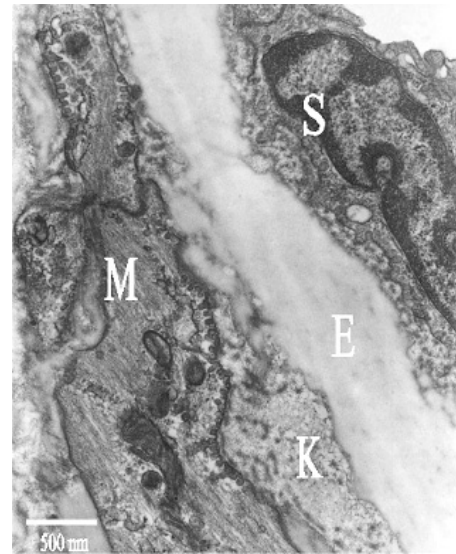
Adres do korespondencji: mgr Aneta Dymecka
Zakład Neurobiologii Oddychania, Instytut Medycyny
Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN
ul. Pawińskiego 5, 02–106 Warszawa
e-mail: dymeckaa@cmdik.pan.pl
tel./faks: (022) 668 54 16

nowo w dawce 15 i 75 mg/100 g mc. (dla młodych zwierząt) oraz 10 i 50 mg/100 g mc. (dla starych zwierząt). Szczury pochodziły ze zwierzętarni instytutowej, gdzie hodowane były przy zachowaniu 12-godzinnego cyklu dzień/noc, karmione standardową paszą V1324-000 (SSniff Spezialdiäten GmbH, Niemcy). Zwierzęta miały nieograniczony dostęp do wody. Badania zaakceptowała Lokalna Komisja Etyczna (zezwoienia nr 109, 137).

Wstępna preparatyka chirurgiczna polegała na wykonaniu tracheostomii i kaniulacji naczyń udowych. Następnie wykonywano dostęp do rozwidlenia tętnic szyjnych oraz otwierano klatkę piersiową — przygotowując w ten sposób do perfuzji przez lewą komorę serca. Perfuzję, równoznaczną z uśmierceniem zwierzęcia, wykonywano za pomocą mieszaniny utrwalającej o składzie: 2,5% glutaraldehyd (Merck) i 2% paraformaldehyd (Fluka) na bazie 0,1 M buforu kakodylanowego (Serva) o pH równym 7,4. Następnie dokonywano gwałtownej resekcji fragmentów tętnic szyjnych. Pobrany materiał poddawano standardowej procedurze do mikroskopii elektronowej techniką *post-embedding* [1], polegającej na sekwencyjnym odwadnianiu tkanki, zatapianiu w żywicy Spurr oraz wykonaniu ultracienkich (50 μ m) skrawków. Preparaty oceniano pod mikroskopem elektronowym typu JEM 1200 Ex (Japonia).

Wyniki

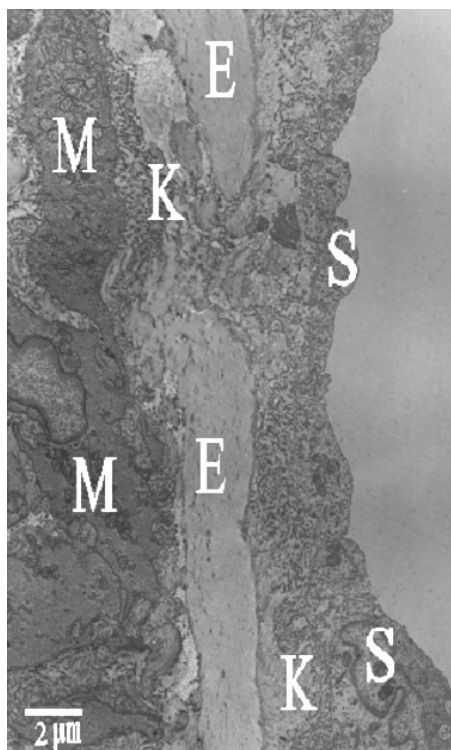
Fragmenty tętnic pochodzące od młodych, 2-miesięcznych zwierząt są przykładem naczyń o prawidłowej strukturze i dlatego stanowią materiał kontrolny służący do dalszych porównań. Ściana tętnic szyjnych składa się z kilku warstw i typów komórek. Wewnętrzną warstwę, od strony światła naczynia, stanowią komórki śródbłonkowe typu płaskiego. Charakteryzują się one licznymi pęcherzykami pinocytarnymi, pojedynczymi mitochondriami, kanałami siateczki cytoplazmatycznej, a także pojedynczymi ciałami Weibla-Palade'a (ryc. 1). Poniżej znajduje się cienka warstwa tkanki łącznej włóknistej oraz błona podstawna. Warstwa środkowa jest zbudowana głównie z włókien elastynowych tworzących blaszkowatą strukturę dającą litą warstwę. Bezpośrednio do warstwy elastynowej przylegają komórki mięśni gładkich. Komórki te są otoczone od zewnątrz przez włókna kolagenowe, tworzące przydanek. Tętnice mięśniowe, do jakich zaliczane są tętnice szyjne zewnętrzne i wewnętrzne, charakteryzują się dobrze rozbudowaną błoną środkową. Składa się ona z kilku warstw mięśni gładkich, których liczba wzrasta wraz ze wzrostem średnicy naczynia. Jest to prawidłowy obraz ultrastruk-



Rycina 1. Przekrój przez ścianę tętnicy szyjnej, pochodzącej od młodego (2-miesięcznego) szczura. Warstwy od światła tętnicy: komórki śródbłonkowe (S) z licznymi pęcherzykami pinocytarnymi, włókienka elastynowe (E), komórki mięśni gładkich (M) otoczone włóknami kolagenowymi (K). Powiększenie pierwotne 15 000

Figure 1. Carotid artery wall section in a young (aged 2 months) rat. Layers — from the artery lumen: endothelial cells (S) with many vacuoles, elastin fibres (E), smooth muscle cells (M) surrounded by collagen fibres (K). Original magnification 15 000 \times

turalny ściany tętnicy szyjnej umożliwiający dostarczenie tlenu i substancji odżywczych do struktury kłębkowej w ilościach uzależnionych od zapotrzebowania metabolicznego tkanki. Przekrój przez ściany tętnic szyjnych pochodzących od starych, 24-miesięcznych szczurów był odmienny (ryc. 2). Warstwa elastynowa była zróżnicowana. Można było w niej wyróżnić ogniskowe uszkodzenia z brakiem zachowanej ciągłości. Charakterystycznym elementem ściany tych tętnic szyjnych były liczne pęczki kolagenowe przerastające warstwę elastynową oraz przestrzenie między komórkami mięśni gładkich. W warstwie utworzonej przez elastynę i włókienka kolagenowe sporadycznie występowały niewielkie złogi wapniowe. Ponadto komórki mięśni gładkich charakteryzowały się dość nieregularnym kształtem wynikającym z rozbudowy wypustek plazmatycznych. Powyższe zmiany w ścianach tętnic szyjnych starych szczurów były umiarkowane i nie powodowały zaburzeń w warstwie komórek śródbłonkowych, które mogłyby wskazywać na ich dysfunkcję. Nie obserwowano też płytek krwi ani makrofagów załączających na powierzchni luminalnej śródbłonnków, które mogłyby przyczyniać się do zmniejszenia przepływu krwi lub powstawania komórek piankowych.



Rycina 2. Przekrój przez ścianę tętnicy szyjnej, pochodzącej od starego (24-miesięcznego) szczura. Komórki śródbłonkowe (S) zachowane w prawidłowej formie, ogniskowe zmiany w obrębie włókien elastynowych (E), proliferacja włókienek kolagenowych (K) wciskających się między komórki mięśni gładkich (M). Powiększenie pierwotne 3000 **Figure 2.** Carotid artery wall section in an old (aged 24 months) rat. Unchanged endothelial cells (S), focal changes in elastin fibres (E), proliferation of collagen fibres (K) intruding between smooth muscle cells (M). Original magnification 3000 ×

Dyskusja

Stosunkowo nieznaczne zmiany w obrazie ultrastrukturalnym tętnic szyjnych starych szczurów, w porównaniu z młodymi, nie potwierdziły założonej w badaniach hipotezy, że upośledzenie przepływu krwi w naczyniach doprowadzających do kłębków szyjnych, z następową hipoksją, mogłoby tłumaczyć degenerację parenchymy kłębków, rozwijającą się wraz z wiekiem [1]. Lowe i wsp. [3] na podstawie wyników badań przeprowadzonych na ludziach zasugerowali, że miażdżycza, zwłaszcza tętnic szyjnych zewnętrznych, prowadząca do częściowej okluzji tych naczyń może wpływać na zmiany w strukturze kłębków szyjnych. U ludzi, rozwidlenie tętnic szyjnych jest miejscem szczególnie podatnym na rozwój zmian morfologicznych

w wyniku mechanicznych turbulencji w przepływie krwi i stosunkowo cienkiej warstwy mięśniowej ściany naczyń [2]. Stwierdzono, że w takim miejscu wzrasta synteza czynników mitogennych, zwiększa się zdolność adhezyjna monocytów, a także nasilają się procesy oksydacyjne wskutek mniejszej aktywności dysmutazy nadtlenkowej, co prowadzi do rozwoju stanu zapalnego ściany naczynia i typowych zmian miażdżycowych.

W niniejszych badaniach, u starych, 24-miesięcznych szczurów, co odpowiada 7–8 dekadzie życia człowieka, nie obserwowano zmian morfologicznych w ścianach tętnic szyjnych, charakterystycznych dla ludzi. Stwierdzona przebudowa ściany tętnic, polegająca na proliferacji włókien kolagenowych, zmianie fenotypowej komórek mięśni gładkich oraz ogniskowym uszkodzeniu błony elastycznej była umiarkowana i nie mogła skutkować upośledzonym przepływem krwi. Ponadto, przebudowa taka, prowadząca do usztywnienia ściany naczynia, jest procesem fizjologicznym trwającym od wczesnego okresu rozwojowego. Stopniowa przebudowa ściany naczyniowej wiąże się z aktywacją elastazy, co prowadzi do stopniowej fragmentacji elastyny. Natomiast włókna kolagenowe ulegają stabilizacji, co czyni je mniej podatnymi na działanie kolagenaz. Zmiany te, zachodzące wewnątrz ściany naczyniowej nie prowadzą do ultrastrukturalnych zaburzeń komórek śródbłonkowych, co może chronić szczury przed rozwojem miażdżycy. Potwierdzają to opisy znalezione w literaturze wskazujące, że szczury są zwierzętami, u których nie występuje typowa endogenna miażdżycza naczyń [4]. Wiadomo jednak, że w wyniku egzogennie wywołanego uszkodzenia śródbłonnków proces miażdżycowy u szczurów rozwija się. Błaski miażdżycowe tworzą się już po 7 dniach od momentu uszkodzenia śródbłonnków, nawet przy umiarkowanie podwyższonym stężeniu cholesterolu (150 mg%) we krwi [5]. Uszkodzony, dysfunkcyjny śródbłonek stanowi „wrota” dla związków lipidowych, które migrują tą drogą do wnętrza ścian naczyń.

Wnioski

Podsumowując, można stwierdzić, że obraz morfologiczny tętnic szyjnych starych szczurów nie wskazuje na możliwość miażdżycowo upośledzonego przepływu krwi jako przyczynę zmian degeneracyjnych rozwijających się wraz z wiekiem w parenchymie kłębków szyjnych. Degeneracja kłębków może więc wiązać się z naturalnym procesem starzenia się organu.

Streszczenie

Wstęp. Tętnice szyjne doprowadzają krew do kłębków szyjnych — chemicznych kontrolerów oddychania reagujących na hipoksję. Parenchyma kłębków szyjnych ulega zmianom degeneracyjnym wraz z wiekiem. Celem pracy było zbadanie, czy miażdżycza tętnic szyjnych, która może upośledzać przepływ krwi i w konsekwencji powodować hipoksję kłębków szyjnych, mogłaby stanowić podłoże zmian degeneracyjnych w starzejących się kłębkach.

Materiał i metody. Badania wykonano na uśpionych szczurach w dwóch grupach wiekowych: młode — 2 miesiące i stare — 24 miesiące. Od szczurów pobierano fragmenty rozwidlenia tętnic szyjnych w celu porównania zmian ultrastrukturalnych.

Wyniki. Stwierdzono, że tętnice szyjne starych szczurów nie wykazują zmian miażdżycowych charakterystycznych dla ludzi — pod postacią blaszek miażdżycowych lub uszkodzeń komórek śródbłonkowych. Niewielkiej przebudowie ulegała z wiekiem jedynie warstwa elastynowa ściany tętnic, wykazując braki w ciągłości, przyrost włókien kolagenowych oraz zmianę fenotypową komórek mięśni gładkich.

Wnioski. Stosunkowo niewielkie zmiany w tętnicach szyjnych, nieupośledzające przepływu krwi, nie tłumaczą poważnych zmian degeneracyjnych w starzejących się kłębkach szyjnych. Zmiany w kłębkach szyjnych pojawiające się z wiekiem mogą więc być wyrazem fizjologicznego procesu starzenia się.

słowa kluczowe: tętnice szyjne, miażdżycza, kłębki szyjne, chemoreceptory

PIŚMIENICTWO

1. Dymecka A., Walski M., Marczak M., Pokorski M.: *Ultrastrukturalne zmiany w chemoreceptorach tętnicznych związane z wiekiem.* Gerontol. Pol. 2002; 10: 132–135.
2. Zarins C.K., Giddens D.P., Bharadvaj B.K., Sottirai V.S., Mabon R.F., Glagov S.: *Carotid bifurcation atherosclerosis.* Circ. Res. 1983; 53: 502–514.
3. Lowe P., Heath D., Smith P.: *Relationship between histological age-changes in the carotid body and atherosclerosis in the carotid arteries.* J. Laryngol. Otol. 1987; 101: 1271–1275.
4. Robert L.: *Aging of the vascular wall and atherogenesis: role of the elastin-laminin receptor.* Atherosclerosis 1996; 123: 169–179.
5. Constantinides P.: *The morphological basis for altered endothelial permeability in atherosclerosis.* Adv. Exp. Med. Biol. 1977; 82: 969–974.