

Cechy ultrastrukturalne prawidłowego i dysfunkcyjnego śródbłónka naczyń krwionośnych

Ultrastructural features of normal and dysfunctional endothelium of the blood vessels

Michał Walski, Małgorzata Frontczak-Baniewicz

Zakład Ultrastruktury Komórki, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk, Centrum Biostruktury Akademii Medycznej, Warszawa

Streszczenie: Śródbłonek naczyń krwionośnych odgrywa kluczową rolę w krążeniu krwi, stanach zapalnych miażdżycy oraz progresji nowotworów. Opisujemy morfologiczne cechy komórek śródbłonkowych na poziomie ultrastrukturalnym, ich funkcję oraz udział w formowaniu nowych naczyń krwionośnych w procesach regeneracji oraz w stanach zapalnych dorosłego organizmu. Transmisyjne i skaningowe badania mikroskopowo-elektronowe wskazują na udział komórek śródbłonkowych w tworzeniu płytek miażdżycowych.

Słowa kluczowe: badania ultrastrukturalne, dysfunkcja, śródbłonek

Abstract: Endothelium of the blood vessels plays a very important role in blood circulation, inflammation, atherosclerosis and cancer progression. We describe the ultrastructural morphology, function of endothelium and its participation in vessel formation during regenerative or inflammatory processes in adults. Transmission and scanning electron microscopic studies indicate on endothelial cell function in atherosclerotic plaque formation.

Key words: dysfunction, endothelium, ultrastructural studies

WPROWADZENIE

Badania morfologiczne, w szczególności w przypadku zastosowania technik mikroskopowo-elektronowych, oraz szeroko zakrojone badania czynnościowe wykazały, że śródbłonek naczyń krwionośnych jest skomplikowanym „organem” pełniącym ważne funkcje w wielu procesach zachodzących w żywym organizmie [1-3]. Komórki śródbłónka należą do wyspecjalizowanych nabłonków płaskich tworzących jednowarstwową spolaryzowaną wyściółkę wewnętrznej ściany naczyń krwionośnych. Ich powierzchnia proksymalna skierowana do światła naczynia jest najczęściej gładka, za wyjątkiem nielicznych mikrokosmków utworzonych przez błony plazmatyczne limitujące połączenia międzykomórkowe (ryc. 1) [1]. Od strony światła błona plazmatyczna śródbłonek pokryta jest warstwą glikokaliksu, co uwidacznia się w badaniach mikroskopowo-elektronowych po zastosowaniu barwników polikationowych tworzących elektronowo gęstą otoczkę. Śródbłonek zbudowany jest z glikozaminoglikanów zintegrowanych z białkami i lipidami błony komórkowej [4,5]. W tej delikatnej

strukturze znajdują się białka będące receptorami powierzchniowymi, liczne enzymy oraz substancje o właściwościach aktywujących nieaktywne czynniki natury ogólnoustrojowej [6,7]. Wśród czynników aktywujących wytwarzanych przez śródbłonek należy wymienić ciała Weibela i Palade'a, które zostały uwidocznione w mikroskopie elektronowym [6]. Znajdują się one tylko w komórkach śródbłonkowych, za wyjątkiem kapilar mózgowych, a ich liczebność zwiększa się w stanach dysfunkcji śródbłónka (ryc. 2). W ich wnętrzu znajduje się glikoproteina prokoagulacyjna, będąca nośnikiem czynnika VIII von Willebranda [8].

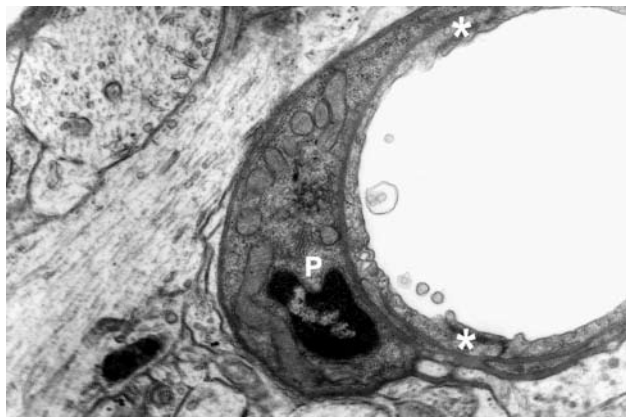
Komórki śródbłonkowe tworzą ciągłą warstwę, która od strony abluminalnej zespolona jest z błoną podstawną. Błona ta stanowi zewnątrzkomórkową macierz, w skład której wchodzi kolagen typu IV, V oraz fibronektyna i laminina [1].

Zróżnicowanie fenotypowe na poziomie ultrastrukturalnym śródbłonek naczyń krwionośnych

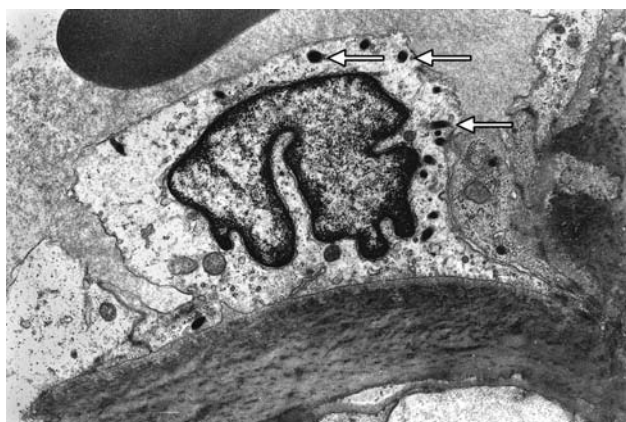
Komórki śródbłonkowe wykazują specyfikę gatunkową, osobniczą oraz narządową; mają zróżnicowanie antygenowe, odmienną ekspresję cząsteczek adhezyjnych oraz wykazują specyficzną reakcję na czynniki wzrostowe [7-9]. Bezpośredni wpływ na transport substancji przez ścianę naczynia lub na jego ogra-

Adres do korespondencji:

dr hab. med. Michał Walski, Zakład Ultrastruktury Komórki, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk, ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa, tel.: 022-608-64-19, e-mail: walski@cmdik.pan.pl
Pol Arch Med Wewn. 2007; 117 (Suppl): 46-49
Copyright by Medycyna Praktyczna, Kraków 2007

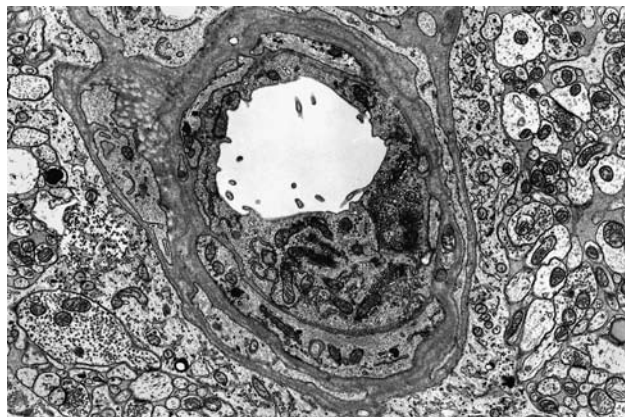


Ryc. 1. Naczynie kapilarne z kory mózgowej z widocznymi połączeniami między komórkami śródbłonkowymi (gwiazdki). W ścianie naczynia widoczny pericyt (P). TEM $\times 18\,000$



Ryc. 2. Komórka śródbłonkowa z widocznymi sferycznymi i cylindrycznymi strukturami (ciała Weibela i Palade'a [strzałki]). TEM $\times 12\,000$

niczona przepuszczalność wykazują połączenia między komórkami śródbłonkowymi, a w szczególności połączenia białkowe, będące składowymi mikroanatomii tych struktur. W mózgowiu ssaków naczynia krwionośne wchodzą w skład „bariery naczyniowo-mózgowej” i tworzą między sobą połączenia ściśle [10]. Ich istnienie jest warunkowane cząsteczkami białek okludyny, które łącząc się ze sobą, zamykają strefę międzykomórkową. Białka te jednocześnie przechodzą przez błony limitujące śródbłonki i w ich cytoplazmie łączą się z aktynowymi włóknami cytoskieletu. W połączeniach ścisłych śródbłonek mózgowych zostały zlokalizowane również białka z rodziny „klaudyn” [11]. Biorą one udział w kontroli przepuszczalności bariery naczyniowej. W połączeniach międzykomórkowych śródbłonek naczyń mózgowych, jak również mięśni szkieletowych i płuc, znajdują się glikoproteidy kadheryn. Uważa się, że białka te tworzą strefy połączeń międzykomórkowych, które „przylegają” do siebie bez zachowania pełnej ścisłości [9]. Obecnie przyjmuje się, że omawiane białka wykazują heterogenność gatunkową, a jednocześnie zmiana ilości ich częste-



Ryc. 3. Formowanie nowego naczynia kapilarnego. Widoczne zwielokrotnienie i zatarcie trójwarstwowej struktury błony podstawnej. TEM $\times 8000$

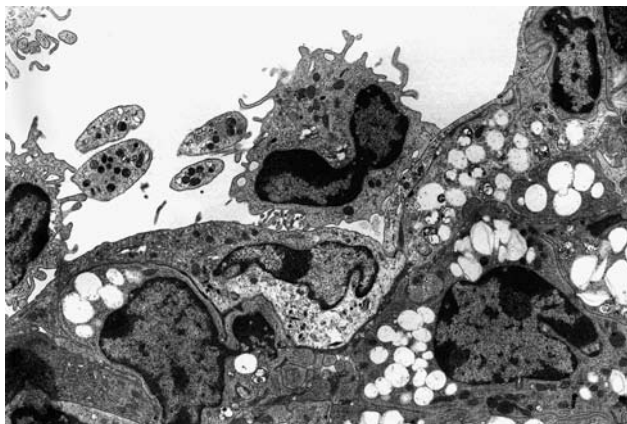
czek w przestrzeniach między błonami śródbłonek powoduje zaburzenie transportu drobin z krwi do otaczających je tkanek [10]. W niektórych narządach transport przesródbłonkowy odbywa się przez tzw. „okienka”, to jest kanały utworzone w komórkach śródbłonkowych [12]. Na podstawie badań mikroskopowo-elektronowych zostały wyróżnione 3 zasadnicze typy naczyń włosowatych. Podział opiera się na budowie i ciągłości pokładu śródbłonkowego oraz błony podstawnej. Naczynia włosowate dzieli się na:

- 1) bezokienkowe – w ośrodkowym układzie nerwowym, siatkówce, mięśniach, płucach i gruczołach płciowych
- 2) okienkowe – w kłębuszku nerkowym, gruczołach dokrewnych i splocie naczyniówkowym
- 3) nieciągłe – naczynia zatokowe w wątrobie, szpiku i śledzionie.

Należy podkreślić, że zróżnicowanie morfologiczne komórek śródbłonkowych oraz budujących je naczyń wynika nie tylko z ich funkcji, ale również z odrębności antygenowej [1,10].

Komórki śródbłonkowe, ich udział w procesach angiogenezy

Układ krążenia w organizmie ssaków zaczyna się kształtować w życiu płodowym, z komórek zwanych angioblastami, i nazywa się naczyniotworzeniem, polegającym na powstawaniu nowych naczyń krwionośnych w życiu pozapłodowym [4]. Formowanie nowych naczyń następuje w procesie gojenia się ran, unaczyniania tkanki nowotworowej, retinopatii cukrzycowej, a także w chorobach reumatycznych (ryc. 3). Proces ten zachodzi w odpowiedzi na uszkodzenie tkanki i działanie czynników o właściwościach angiogennych [13]. Komórki śródbłonkowe zachowują zdolność migracji i proliferacji oraz podziału w ścianie naczynia macierzystego, tworząc tzw. mostki. W przypadku formowania nowego naczynia włosowatego czoło kapilary utworzone przez śródbłonki migruje do otaczającej tkanki w kierunku „stymulatora” angiogenezy [14,15]. W oddziaływaniu komórek śródbłonkowych ze składnikami

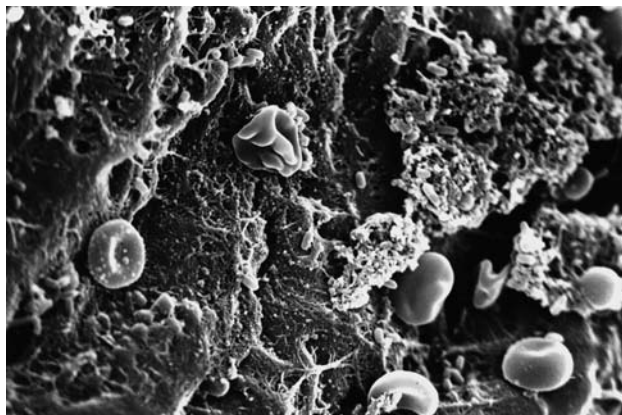


Ryc. 4. Powierzchnia komórek śródbłonkowych z tętnicy wieńcowej z przylegającymi monocytami i płytkami krwi. TEM $\times 5000$

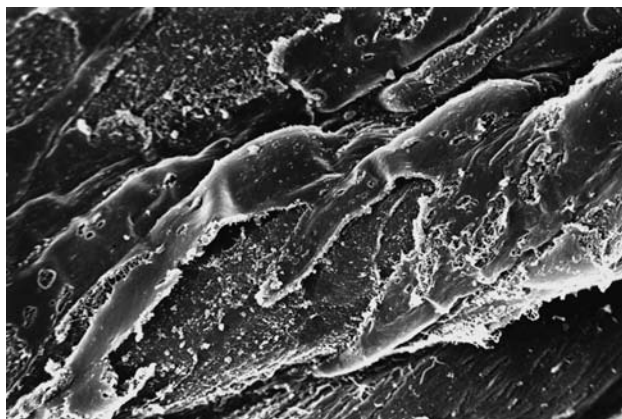
macierzy zewnątrzkomórkowej w trakcie ich migracji ważną rolę odgrywają integryny [7,12]. Częsteczki integryn uczestniczą w mocowaniu śródbłków do białek macierzy zewnątrzkomórkowej, między innymi do fibronektyn, kolagenu typu IV i V, witronektyn. Niezależnie od mechanizmów angiogenetycznych, wykazano w ostatnim czasie obecność prekursorów komórek śródbłonkowych w krwi krążącej [4,15]. Wykazano, że te prekursorzy biorą udział w formowaniu naczyń guzów, jak również w procesach reparacyjnych uszkodzonego mózgu lub mięśnia sercowego [16,17]. Należy zaznaczyć, że powstawanie w dorosłym organizmie nowych naczyń z naczyń istniejących lub z krążących komórek macierzystych następuje po uprzednim uwolnieniu czynników angiogenicznych ze śródbłków, makrofagów i komórek zrębu [8,12].

Ultrastruktura zmienionego chorobowo śródbłonka

Na skutek zaistniałej dysfunkcji komórek śródbłonka, wywołanej czynnikami patogennymi, obserwujemy szereg zmian, które widoczne są w badaniach ultrastrukturalnych. Istotnym wykładnikiem aktywacji zapalnej śródbłonka jest zmiana konfiguracji powierzchni błony od strony światła, co ma swoje odzwierciedlenie w powstawaniu mikrokosmków (ryc. 4). Dzięki tym nowo powstałym strukturom dochodzi do wzmożonego kontaktu elementów morfotycznych krwi ze śródbłonkiem, a w szczególności – do zwiększonej aktywacji płytek krwi ze wszystkimi tego konsekwencjami (ryc. 5) [5,18]. W procesie dysfunkcji śródbłków następuje rozszczelnienie złączy międzykomórkowych i powstawanie kanałów, poprzez które monocyty, limfocyty oraz frakcje lipidów migrują z koryta naczyniowego do wnętrza ściany naczynia [19,20]. W ten sposób w strefie podśródbłonkowej osadzają się stransformowane do komórek piankowatych monocyty, które swoją morfologię zawdzięczają obładowaniu kulami lipidowymi i igłami cholesterolu [13]. Komórki te są nośnikami czynników wzrostowych i doprowadzają do wzmożonej proliferacji elementów



Ryc. 5. Powierzchnia luminalna tętnicy wieńcowej pokryta monocytami, erytrocytami i płytkami krwi. SEM $\times 5000$



Ryc. 6. Powierzchnia luminalna tętnicy szyjnej w obszarze uszkodzenia śródbłków. SEM $\times 5000$

składowych podścieliska mięśniówki gładkiej, a jednocześnie do przerostu ściany naczynia. Wskutek odsłonięcia blaszki podstawnej płytki zaczynają przylegać do warstwy podścieliskowej i powstają skrzepiny przyścienne [3,5]. Uszkodzone śródbłoki mogą się regenerować i nachodzą na odsłonięte odcinki błony wewnętrznej ściany naczynia. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że komórki śródbłonkowe mają określony czas przeżycia i niezbędne jest ich odtwarzanie, aby zachowana była ciągłość ściany naczynia [20,21]. W tych śródbłkach, które dotknięte są procesem proliferacyjnym doprowadzającym do miażdżycy, następują zmiany w genomie (skręcanie telomerów), co jest przyczyną skracania żywotności tych komórek i odsłonięcia warstwy podścieliskowej. Komórki tworzące neoendotelium przyjmują zróżnicowane kształty i ułożone są chaotycznie, w konsekwencji czego biorą udział w tworzeniu patologicznych zmian w ścianie naczyń, zwanych „blaszkami miażdżycowymi” (ryc. 6) [8,13].

Wyniki tych badań zostały częściowo oparte na materiale pochodzącym z naczyń zwierząt, u których wywołano miażdżycę, jak również z tętnic szyjnych ludzkich uzyskanych podczas za-

biegu entaterekromii (zgoda lokalnej komisji etycznej). Materiał tkankowy badaliśmy przy użyciu mikroskopów elektronowych transmisyjnych (TEM) i mikroskopu skaningowego (SEM).

PODZIĘKOWANIA

Składamy podziękowanie pani mgr Dorocie Czajkowskiej za przygotowanie maszynopisu pracy.

PIŚMIENNICTWO

1. Paprocka M, Duś D. Niektóre cechy fenotypowe i czynnościowe komórek śródbłonków naczyniowych. *Post Biol Kom.* 2000; 27: 247-260.
2. Chłopicki S. Czynność śródbłonka – wyznacznik ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych atherothrombosis. *Kardiologia Pol.* 2005; 4: 73-82.
3. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation.* 2002; 105: 546-549.
4. Frontczak-Baniewicz M, Walski M. Mózgowe naczynia kapilarne. Ultrastrukturalne wykładniki procesu angiogenezy. *Post Biol Kom.* 2004; 31: 563-573.
5. Chłopicki S, Gryglewski R. Dysfunkcja śródbłonka w cukrzycy – przyczyna rozwoju atherothrombosis. Kawecka-Jaszczyk K, Tendera M, Czamecka D, eds. *Cukrzyca i serce.* Warszawa, Via Medica. 2004: 1-19.
6. Chłopicki S. Zapalenie śródbłonka w atherothrombosis. *Kardiologia Pol.* 2005; 5: 77-85.
7. Chłopicki S. Śródbłonek w farmakoterapii atherothrombosis. *Kardiologia Pol.* 2003; 59: 69.
8. von Hundelshausen P, Weber KS, Huo Y, et al. RANTES deposition by platelets triggers monocyte arrest on inflamed and atherosclerotic endothelium. *Circulation.* 2001; 103: 1772-1779.
9. Sachais BS. Platelet-endothelial interactions in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2001; 3: 412-416.
10. Vorbrodt AW, Dobrogowska DH. Molecular anatomy of intercellular junctions in brain endothelial and epithelial barriers: electron microscopist's view. *Brain Res Rev.* 2003; 42: 221-242.
11. Vorbrodt AW, Dobrogowska DH. Molecular anatomy of interendothelial junctions in human blood-brain barrier microvessels. *Folia Histochem Cytobiol.* 2004; 42: 67-75.
12. Garcia-Cardena G, Comander J, Anderson KR, et al. Biomechanical activation of vascular endothelium as a determinant of its functional phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98: 4478-4485.
13. Walski M, Łazowski T, Szostek M, et al. Elektron microscope investigation of the role of Chlamydia sp. in the process of rebuilding the arterial wall. Neovascularization in atherosclerotic plaques in human cervical artery walls. *Med Sci Monit.* 2002; 8: BR30-38.
14. Tatakura N, Watanabe T, Suenobu S, et al. A role for hematopoietic stem cells in promoting angiogenesis. *Cell.* 2000; 102: 199-209.
15. Frontczak-Baniewicz M, Walski M. New vessel formation after surgical brain injury in the rat's cerebral cortex I. Formation of the blood vessels proximally to the surgical injury. *Acta Neurobiol Exp.* 2003; 63: 65-75.
16. Isner JM. Angiogenesis: a „breakthrough” technology in cardiovascular medicine. *J Invasive Cardiol.* 2000; 12 (suppl A): A7-A14.
17. Isner JM, Kalka C, Kawamoto A, Asahara T. Bone marrow as a source of endothelial cells for natural and iatrogenic vascular repair. *Ann N Y Acad Sci.* 2001; 953: 75-84.
18. Chłopicki S, Gryglewski R. Endothelial secretory function and atherothrombosis. In: Curtis-Prior P, ed. *The Eicosanoids.* London, John Wiley & Sons, 2004: 267.
19. Walski M, Chłopicki S, Celary-Walska R, Frontczak-Baniewicz M. Ultrastructural alterations of endothelium covering advanced atherosclerotic plaque in human carotid artery visualised by scanning electron microscope. *J Physiol Pharmacol.* 2002; 53: 713-723.
20. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2002; 105: 1135-1143.
21. Lipski KM, Ostrowski K, Komender J, Śladowski D. Udział śródbłonka w formowaniu się naczyń. *Post Biol Kom.* 2006; 33: 59-70.