

增龄对大鼠髂总动脉超微结构的影响

<https://doi.org/10.12307/2022.813>董丽萍^{1,2}, 罗佳¹, 李广意¹, 袁衡¹

投稿日期: 2021-10-13

采用日期: 2021-11-19

修回日期: 2021-12-03

在线日期: 2021-12-11

中图分类号:

R459.9; R329; R318

文章编号:

2095-4344(2022)26-04123-04

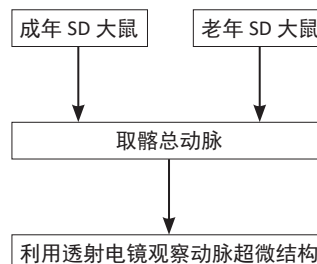
文献标识码: B

文章快速阅读:

文章特点一

△利用电子显微镜观察增龄相关的动脉血管超微结构。

△利用实验动物而非体外培养的组织观察增龄相关的动脉血管超微结构的变化。



文题释义:

收缩型血管平滑肌细胞: 是分化程度高的成熟型细胞, 形态结构为梭形, 胞质内含有丰富的肌丝束、致密体和致密斑, 而线粒体、粗面内质网和高尔基体等细胞器很少, 对外界刺激产生收缩反应。

合成型血管平滑肌细胞: 是不成熟的未分化型细胞, 呈纤维母细胞形态, 内含极少肌丝, 几乎没有致密体和致密斑, 但含大量的线粒体、粗面内质网和高尔基复合体, 具有旺盛的分裂和增殖合成功能。

摘要

背景: 老化伴随着多个器官结构和功能的进行性下降, 动脉血管的结构和功能在老化过程中受到损害。

目的: 观察增龄对动脉管壁超微结构的影响。

方法: 成年SD大鼠5只及老年SD大鼠5只, 在大鼠麻醉状态下取髂总动脉, 放入戊二醛中固定, 利用透射电子显微镜观察髂总动脉内膜和中膜的超微结构。

结果与结论: ①成年大鼠髂总动脉内皮细胞间的连接正常; 老年大鼠髂总动脉内皮细胞连接间出现较大的间隙; ②成年大鼠髂总动脉中膜平滑肌细胞为收缩表型, 细胞外基质中有较多的弹性纤维; 老年大鼠髂总动脉平滑肌细胞为合成表型, 细胞外基质中胶原纤维明显增多; ③老年大鼠髂总动脉观察到有正在死亡的内皮细胞和平滑肌细胞, 特征为染色质降解和细胞裂解, 而在成年大鼠没有观察到细胞死亡的情况; ④结果表明, 与成年大鼠相比, 老年大鼠髂总动脉内膜增厚, 中膜平滑肌细胞呈合成表型, 弹性纤维减少、胶原纤维增多。

关键词: 老年大鼠; 髂总动脉; 内膜; 内皮细胞; 细胞外基质; 中膜; 平滑肌细胞; 超微结构

Effect of aging on the ultrastructure of common iliac artery in rats

Dong Liping^{1,2}, Luo Jia¹, Li Guangyi¹, Yuan Heng¹

¹Department of Histology and Embryology, Academician Work Station, Changsha Medical University, Changsha 410219, Hunan Province, China; ²Xiangya School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, Hunan Province, China

Dong Liping, MD, Lecturer, Department of Histology and Embryology, Academician Work Station, Changsha Medical University, Changsha 410219, Hunan Province, China; Xiangya School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, Hunan Province, China

Corresponding author: Dong Liping, Department of Histology and Embryology, Academician Work Station, Changsha Medical University, Changsha 410219, Hunan Province, China; Xiangya School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, Hunan Province, China

Abstract

BACKGROUND: Aging is accompanied by a progressive decline in the structure and function of multiple organs. The structure and function of arterial vessels are impaired during the aging process.

OBJECTIVE: To observe the effect of aging on the ultrastructure of arterial wall.

METHODS: Five adult Sprague-Dawley rats and five aged Sprague-Dawley rats were selected. The common iliac artery of the rats was taken under anesthesia and fixed in glutaraldehyde, and the ultrasonography of the intima and media of the common iliac artery was observed using a transmission electron microscope.

RESULTS AND CONCLUSION: The connection between endothelial cells of the common iliac artery in adult rats was normal, while there was a relatively large gap between endothelial cells of the common iliac artery in aged rats. Smooth muscle cells of the common iliac artery in adult rats exhibited a contractile

¹长沙医学院, 人体解剖与组织胚胎学教研室, 院士工作站, 功能核酸基础与临床湖南省重点实验室, 湖南省长沙市 410219; ²中南大学湘雅药学院, 湖南省长沙市 410013

第一作者: 董丽萍, 女, 1984年生, 2019年中南大学毕业, 博士, 讲师, 主要从事血管重建方面的研究。

通讯作者: 董丽萍, 讲师, 长沙医学院, 人体解剖与组织胚胎学教研室, 院士工作站, 功能核酸基础与临床湖南省重点实验室, 湖南省长沙市 410219; 中南大学湘雅药学院, 湖南省长沙市 410013

<https://orcid.org/0000-0003-0260-250X> (董丽萍)

基金资助: 湖南省教育厅双一流学科优秀青年项目 (19B071), 项目负责人: 董丽萍; 长沙市杰出创新青年培养计划 (kq2106076),

项目负责人: 董丽萍

引用本文: 董丽萍, 罗佳, 李广意, 袁衡. 增龄对大鼠髂总动脉超微结构的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(26):

4123-4126.



phenotype, and there were many elastic fibers in the extracellular matrix; in aged rats, smooth muscle cells presented with a synthetic phenotype, and the number of collagen fibers in the common iliac artery was significantly increased. Dead endothelial cells and smooth muscle cells, characterized by chromatin degradation and cell lysis, were observed in the common iliac artery of aged rats, whilst no cell death was observed in adult rats. These findings indicate that the intima of the common iliac artery is thickened, smooth muscle cells present with a synthetic phenotype, the number of elastic fibers is reduced and the number of collagen fibers is increased in aged rats compared with adult rats.

Key words: aged rat; common iliac artery; intima; endothelial cell; extracellular matrix; media; smooth muscle cell; ultrastructure

Funding: the Foundation of Hunan Educational Committee, No.19B071 (to DLP); the Training Program for Excellent Young Innovators of Changsha, No. kq2106076 (to DLP)

How to cite this article: DONG LP, LUO J, LI GY, YUAN H. Effect of aging on the ultrastructure of common iliac artery in rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu.* 2022;26(26):4123-4126.

0 引言 Introduction

心血管疾病是人类最常见的高致死率和致残率的疾病之一，其发病率和死亡率随着年龄的增加而增高^[1]。血管功能障碍是心血管和脑血管等疾病的主要特征，而衰老可导致血管功能受损^[2-3]。虽然许多其他危险因素如吸烟已报道能引起血管功能下降^[4-6]，但衰老已被认为是一个独立的基本危险因素^[7]。衰老引起血管功能进行性下降，进而增加心血管疾病（例如高血压、动脉粥样硬化和脑卒中）发生的可能性。因此，心血管疾病被认为是老年病。

研究发现衰老的动脉血管内皮细胞除了功能障碍外，其结构也受损，包括细胞体积增大、形态呈多边形、细胞骨架重组及线粒体减少^[8]。另外，体外培养的血管平滑肌细胞衰老后其结构也发生了变化^[9]。虽有研究表明衰老的内皮细胞和平滑肌细胞结构发生了变化，但是体内的老化动脉的管壁超微结构如何，是否有凋亡或死亡的细胞，尚未见相关报道。此实验采用透射电子显微镜观察成年大鼠和老年大鼠髂总动脉的超微结构，探讨增龄对髂总动脉结构的影响。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 观察研究型。

1.2 时间及地点 实验于2017年6月至2020年7月在中南大学完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 中南大学实验动物部购买SPF级Sprague Dawley(SD)大鼠，其中老年SD大鼠5只(20-24月龄，体质量600-750g)；成年SD大鼠5只(6月龄，体质量300-350g)，所有大鼠均为雌性。实验方案经中南大学动物实验伦理委员会批准，批准号为LLSC(LA)2017-006。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在麻醉下进行所有的手术，并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

1.3.2 实验仪器 手术器械(臻美医疗用品) 体视显微镜(徕卡)。

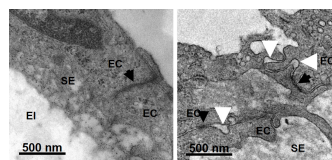
1.4 实验方法 用3%戊巴比妥钠溶液(35 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠，麻醉成功后，打开腹腔暴露髂总动脉，于体视显微镜下小心分离右髂总动脉和右髂总静脉，分离后取下髂总动脉立即置于戊二醛固定液中固定。标本送中南大学湘雅医学院电子显微镜室，制作超薄切片，透射电子显微镜下观察血管超微结构并拍照记录。

1.5 主要观察指标 内皮细胞间连接；平滑肌细胞大小、形态；细胞器类型、形态；细胞核形态。

2 结果 Results

2.1 增龄对髂总动脉内膜超微结构的影响 作者先前的研究发现，在成年大鼠的髂总动脉中，内皮细胞是薄且扁平的，具有细长的细胞核，细胞质中可见许多线粒体^[10]。内皮细胞近腔侧有一些细胞膜小凹样囊泡，在基底面有一些小突起延伸到内皮下层基质中。在内皮下未观察到基底膜，并且内皮下层基质非常薄。与成年大鼠相比，在老年大鼠的髂总动脉中，内皮细胞形状不规则，体积增大，息肉样核增多，胞质内空泡增多，线粒体减少。内皮细胞近腔侧细胞膜小凹样囊泡增多。内皮下层的基质厚度增加，但其内没有平滑肌细胞浸润；内皮细胞基底面有大的突起包埋在基质中。在老年大鼠的髂总动脉还观察到了凋亡样的衰老内皮细胞，其和下方的内皮下层基质之间出现较大间隙。另外，在老年大鼠的髂总动脉偶然可观察到正在死亡的衰老内皮细胞，其细胞核染色质降解，胞质空泡化，胞膜破裂^[10]。

实验还观察了内皮细胞之间连接的变化。成年大鼠的髂总动脉内皮细胞之间的连接主要为紧密连接和黏附连接，在老年大鼠髂总动脉内皮细胞之间的连接结构被破坏，细胞之间出现较大的间隙，见图1。

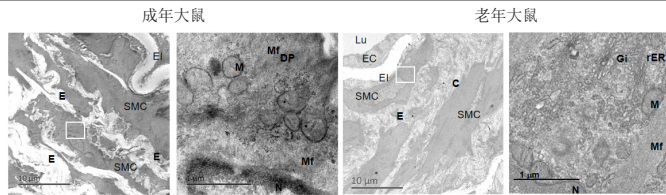


图注：EC为内皮细胞；EI为内弹性膜；SE为内皮下层；白色箭头示增大的细胞间隙；黑色箭头示紧密连接

图1 | 透射电子显微镜观察大鼠髂总动脉内皮细胞连接超微结构变化
Figure 1 | Ultrastructural changes of endothelial cell-to-cell junction of the common iliac artery in rats under transmission electron microscope

2.2 增龄对髂总动脉中膜超微结构的影响 在成年大鼠髂总动脉中膜的细胞外基质中，弹性纤维数量多，而胶原纤维较少，平滑肌细胞为收缩表型，胞质中可见许多线粒体、肌丝和密斑。与成年大鼠相比，在老年大鼠的髂总动脉中膜中，弹性纤维数量减少，而胶原纤维增多。平滑肌细胞为合成表型，胞质中线粒体、粗面内质网和高尔基复合体等细胞器发达，而肌丝减少，见图2。

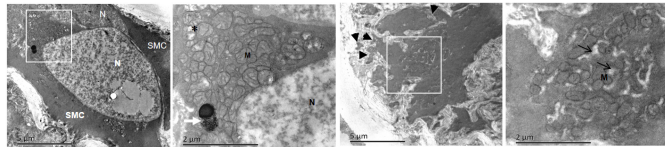
在老年大鼠的髂总动脉中膜中，除了观察到平滑肌表型的改变外，还观察到了正在死亡的衰老平滑肌细胞，呈现2种状况：一种是细胞核染色质溶解，核膜结构部分消失，胞质内部分线粒体空泡化，出现脂褐素颗粒；另一种是平滑肌



图注：右侧是左侧的局部放大图。EC：内皮细胞；N：细胞核；SMC：平滑肌细胞；EI：内弹性膜；M：线粒体；rER：粗面内质网；Lu：血管腔；E：弹性膜；C：胶原纤维；Mf：肌丝；Gi：高尔基复合体；DP：密斑

图2 | 透射电子显微镜观察大鼠髂总动脉中膜超微结构变化
Figure 2 | Ultrastructural changes of the media of the common iliac artery in rats under transmission electron microscope

细胞的胞质片段状崩解，线粒体嵴消失，基质增生，肌丝结构消失，见图3。



图注：右侧是左侧的局部放大图。N：细胞核；SMC：平滑肌细胞；M：线粒体；白色箭头：脂褐素；*：线粒体空泡化；黑色粗箭头：平滑肌细胞片段化；黑色细箭头：扩张的滑面内质网

图3 | 透射电子显微镜观察老年大鼠髂总动脉衰老死亡的平滑肌细胞超微结构

Figure 3 | Ultrastructure of dead smooth muscle cells in the common iliac artery of aged rats under transmission electron microscope

3 讨论 Discussion

该研究通过透射电子显微镜方法观察了髂总动脉结构的年龄损害。动脉血管在老化过程中会出现形态结构和功能受损，形态结构变化包括细胞大小、形态和细胞器等的改变以及细胞外基质的重构。CAVALLARO等^[11]发现老化的内皮细胞变扁，呈多边形，体积增大；URYGA等^[12]在研究老化的内皮细胞时观察到核呈息肉状；UNGVARI等^[8]发现衰老的内皮细胞线粒体数目减少。细胞培养实验也观察到老化的内皮细胞有类似的形态学特征^[13]。该研究通过透射电子显微镜也观察到老年大鼠髂总动脉衰老的内皮细胞发生了上述类似的形态学改变。与成年大鼠髂总动脉的内皮细胞相比，衰老的内皮细胞形状不规则、体积增大、核呈息肉状，胞质内空泡增多，线粒体减少。和大量文献报道不一样的，该研究观察到衰老大鼠的髂总动脉内皮细胞并没有变得更扁平，而是较厚，这种差异是否是由于动物的种类不同或者血管不同造成的或者其他原因需要进一步研究。另外，许多文献报道在主动脉、冠状动脉、股动脉、毛细血管和人脐静脉内皮细胞中，内皮细胞凋亡增加是晚期衰老的一个特征^[14]。此研究也观察到老年大鼠髂总动脉衰老的内皮细胞中有凋亡样细胞，并且还观察到一些老化的内皮细胞染色质出现溶解，细胞器消失，细胞膜破裂^[10]，它们可能是正在死亡或者已经死亡的老化细胞。

平滑肌细胞是动脉壁的重要成分。衰老的血管平滑肌细胞的形态结构描述主要来源于细胞培养实验。衰老的平滑肌细胞较年轻的平滑肌细胞扁平，细胞核呈异样状^[15]，通

过电子显微镜观察到成年大鼠髂总动脉血管壁中膜的平滑肌细胞呈典型的梭形，而在老年大鼠的血管中它们的形态不规则，多种多样，细胞体积变小。这种衰老血管内平滑肌细胞的形态特征和文献^[15]报道的衰老平滑肌细胞形态是不一样的。在该实验中，超微结构观察显示与成年大鼠髂总动脉血管壁中膜的平滑肌细胞相比，老年大鼠血管平滑肌细胞肌丝减少，密体密斑减少，而细胞器增多。因此，老年大鼠血管平滑肌细胞的表型为合成表型，这和以往文献的报道一致^[9, 16-19]。值得注意的是，衰老血管的平滑肌细胞和衰老的血管平滑肌细胞是两个不同的概念。在老年大鼠的动脉血管，大部分的平滑肌细胞是合成表型，只有很少的一部分平滑肌细胞老化^[20]。虽然，衰老相关β半乳糖苷酶染色、p21、磷酸化的p38和双链DNA断裂等分子检测提供了啮齿类动物和人血管组织细胞衰老的证据^[21-23]，但老化的血管平滑肌细胞的形态学证据鲜有报道。在该实验中，超微结构观察显示在老年大鼠髂总动脉血管壁，老化的血管平滑肌细胞有2种情况：凋亡样的改变和染色质降解。该实验提供了老年动物动脉血管中血管平滑肌细胞老化的形态学证据。由于正常老年动物血管平滑肌细胞不会出现增殖活动，因此，细胞凋亡是中膜平滑肌数目减少的最可能原因。

大量研究表明动脉血管在衰老过程中细胞外基质会出现重构，其中内皮下厚度随着年龄的增长而增加。与成年大鼠相比，老年大鼠的内膜血管平滑肌细胞的数量以及胶原的数量增加^[24-25]。内膜结缔组织增加被认为是合成表型的中膜平滑肌细胞迁入内膜，然后合成和分泌的细胞外基质沉积而成^[26]。该研究观察到老年大鼠髂总动脉内膜增厚，这和上述文献报道一致。但是，作者尚没有观察到内膜中有平滑肌细胞的出现，这说明除了平滑肌细胞外，内皮细胞对内膜细胞外基质的沉积具有重要的作用。内膜中没有出现平滑肌细胞可能原因是动物的年龄还需增长。

关于衰老过程中动脉血管中膜细胞外基质的变化已有许多文献报道，其改变的主要特征为中膜内弹性蛋白与胶原的比例随着年龄的增长而下降，其中弹性成分相对减少，而胶原成分相对增多^[27-30]。该研究也观察到老年大鼠髂总动脉中膜细胞外基质中发生类似的变化：弹性纤维减少、胶原纤维增多。细胞外基质的这种变化和作者观察到的平滑肌细胞为合成表型的发现是相一致的。

作者贡献：实验设计、实施为董丽萍，实验评估为董丽萍、袁衡和罗佳，资料收集为董丽萍和李广意。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

出版规范：该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》；文章出版前已经过专业

反剽窃文献检测系统进行3次文字和图表查重;文章经小同行外审专家双盲审稿,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- [1] COSTANTINO S, PANENI F, COSENTINO F. Ageing, metabolism and cardiovascular disease. *J Physiol.* 2016;594(8):2061-2073.
- [2] EL ASSAR M, ANGULO J, VALLEJO S, et al. Mechanisms involved in the aging-induced vascular dysfunction. *Front Physiol.* 2012;3:132.
- [3] DONATO AJ, MACHIN DR, LESNIEWSKI LA. Mechanisms of Dysfunction in the Aging Vasculature and Role in Age-Related Disease. *Circ Res.* 2018;123(7):825-848.
- [4] CSISZAR A, PODLUTSKY A, WOLIN MS, et al. Oxidative stress and accelerated vascular aging: implications for cigarette smoking. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2009;14:3128-3144.
- [5] HAHAD O, ARNOLD N, PROCHASKA JH, et al. Cigarette Smoking Is Related to Endothelial Dysfunction of Resistance, but Not Conduit Arteries in the General Population-Results From the Gutenberg Health Study. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:674622.
- [6] MESSNER B, BERNHARD D. Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(3):509-515.
- [7] XU X, WANG B, REN C, et al. Recent Progress in Vascular Aging: Mechanisms and Its Role in Age-related Diseases. *Aging Dis.* 2017;8(4):486-505.
- [8] UNGVARI Z, LABINSKY N, GUPTA S, et al. Dysregulation of mitochondrial biogenesis in vascular endothelial and smooth muscle cells of aged rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;294(5):H2121-2128.
- [9] WANG M, ZHANG J, JIANG LQ, et al. Proinflammatory profile within the grossly normal aged human aortic wall. *Hypertension.* 2007;50(1):219-227.
- [10] DONG L, GAN L, WANG H, et al. Age-Related Impairment of Structure and Function of Iliac Artery Endothelium in Rats Is Improved by Elevated Fluid Shear Stress. *Med Sci Monit.* 2019;25:5127-5136.
- [11] CAVALLARO U, CASTELLI V, DEL MONTE U, et al. Phenotypic alterations in senescent large-vessel and microvascular endothelial cells. *Mol Cell Biol Res Commun.* 2000;4(2):117-121.
- [12] URYGA AK, BENNETT MR. Ageing induced vascular smooth muscle cell senescence in atherosclerosis. *J Physiol.* 2016;594(8):2115-2124.
- [13] JENDRACH M, POHL S, VÖTH M, et al. Morpho-dynamic changes of mitochondria during ageing of human endothelial cells. *Mech Ageing Dev.* 2005;126(6-7):813-821.
- [14] WANG H, LISTRAT A, MEUNIER B, et al. Apoptosis in capillary endothelial cells in ageing skeletal muscle. *Aging Cell.* 2014;13(2):254-262.
- [15] RAGNAUTH CD, WARREN DT, LIU Y, et al. Prelamin A acts to accelerate smooth muscle cell senescence and is a novel biomarker of human vascular aging. *Circulation.* 2010;121(20):2200-2210.
- [16] TRACHE A, MASSETT MP, WOODMAN CR. Vascular smooth muscle stiffness and its role in aging. *Curr Top Membr.* 2020;86:217-253.
- [17] ZHANG L, XU Z, WU Y, et al. Akt/eNOS and MAPK signaling pathways mediated the phenotypic switching of thoracic aorta vascular smooth muscle cells in aging/hypertensive rats. *Physiol Res.* 2018;67(4):543-553.
- [18] TESAURO M, MAURIELLO A, ROVELLA V, et al. Arterial ageing: from endothelial dysfunction to vascular calcification. *J Intern Med.* 2017;281(5):471-482.
- [19] LUNDBERG MS, CROW MT. Age-related changes in the signaling and function of vascular smooth muscle cells. *Exp Gerontol.* 1999;34(4):549-557.
- [20] MONK BA, GEORGE SJ. The Effect of Ageing on Vascular Smooth Muscle Cell Behaviour--A Mini-Review. *Gerontology.* 2015;61(5):416-426.
- [21] LIN JR, SHEN WL, YAN C, et al. Downregulation of dynamin-related protein 1 contributes to impaired autophagic flux and angiogenic function in senescent endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(6):1413-1422.
- [22] XIONG Y, WANG HX, YAN H, et al. Rutaecarpine prevents high glucose-induced endothelial cell senescence through TRPV1/SIRT1 pathway. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2021 Nov 2. doi: 10.1097/FJC.0000000000001166. Online ahead of print.
- [23] ZHANG L, ZHAO J, MU X, et al. Novel small molecule inhibition of IKK/NF- κ B activation reduces markers of senescence and improves healthspan in mouse models of aging. *Aging Cell.* 2021:e13486.
- [24] MILLER SJ, WATSON WC, KERR KA, et al. Development of progressive aortic vasculopathy in a rat model of aging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293(5):H2634-2643.
- [25] WANG M, ZHANG J, SPINETTI G, et al. Angiotensin II activates matrix metalloproteinase type II and mimics age-associated carotid arterial remodeling in young rats. *Am J Pathol.* 2005;167(5):1429-1442.
- [26] ASAI K, KUDEJ RK, SHEN YT, et al. Peripheral vascular endothelial dysfunction and apoptosis in old monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(6):1493-1499.
- [27] WANG M, ZHANG J, TELLJOHANN R, et al. Chronic matrix metalloproteinase inhibition retards age-associated arterial proinflammation and increase in blood pressure. *Hypertension.* 2012;60(2):459-466.
- [28] WANG M, LAKATTA EG. Altered regulation of matrix metalloproteinase-2 in aortic remodeling during aging. *Hypertension.* 2002;39(4):865-873.
- [29] COX RH. Effects of age on the mechanical properties of rat carotid artery. *Am J Physiol.* 1977;233(2):H256-263.
- [30] ALBU M, ȘEICARU DA, PLEȘEA RM, et al. Assessment of the aortic wall histological changes with ageing. *Rom J Morphol Embryol.* 2021;62(1):85-100.

(责任编辑: MZH, ZN, ZJP)