

Г.М. Салахова

## Морфометричні зміни в легеневих судинах під впливом мезенхімальних стовбурових клітин на фоні монокроталініндукованої легеневої гіпертензії у щурів

ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака НАМН України», м. Донецьк

**Ключові слова:** легенева гіпертензія, мезенхімальні стовбурові клітини, монокроталін, морфометрія легеневих судин.

Описано морфометричні зміни з боку легеневих судин різного діаметра на фоні монокроталініндукованої легеневої гіпертензії у щурів, а також під час використання у тварин з підтвердженою легеневою гіпертензією мезенхімальних стовбурових клітин. Показано, що під впливом клітинної терапії відбувається регрес змін, зумовлених підвищеним тиском у системі легеневої артерії.

### Морфометрические изменения в легочных сосудах под влиянием мезенхимальных стволовых клеток на фоне монокроталининдуцированной легочной гипертензии у крыс

А.М. Салахова

В статье описаны морфометрические изменения со стороны легочных сосудов различного диаметра на фоне монокроталининдуцированной легочной гипертензии у крыс, а также при использовании у животных с подтвержденной легочной гипертензией мезенхимальных стволовых клеток. Показано, что под влиянием клеточной терапии происходит регресс изменений, обусловленных повышенным давлением в системе легочной артерии.

**Ключевые слова:** легочная гипертензия, мезенхимальные стволовые клетки, монокроталин, морфометрия легочных сосудов.

**Патология.** – 2011. – Т.8, №3. – С. 55–57

### Morphometric changes in pulmonary vessels under the influence of mesenchymal stem cells in rats with monocrotaline pulmonary hypertension

А.М. Salakhova

This article describes the morphometric changes of the pulmonary vessels with different diameter in rats with monocrotaline pulmonary hypertension, and after their treatment with mesenchymal stem cells. Changes in the pulmonary artery system after cell therapy are shown.

**Key words:** pulmonary hypertension, mesenchymal stem cells, monocrotaline, pulmonary vascular morphometry.

**Pathologia.** 2011; 8(3): 55–57

Легенева гіпертензія (ЛГ) – це стан, що має ідіопатичну природу або є можливим наслідком цілого ряду захворювань, характеризується поступовим підвищенням легеневого судинного опору і тиску в легеневій артерії, що призводить до розвитку правошлуночкової недостатності й загибелі [1].

У розвитку ЛГ може брати участь ряд чинників, таких як зміна тиску наповнення лівих камер серця, серцевий викид, частота серцевих скорочень, гематокрит і об'єм крові в легенях. Однак найбільш важливим патофізіологічним чинником є саме підвищення легеневого судинного опору, локалізоване, головним чином, у прекапілярних артеріях і артеріолах [2].

Гіпертензія може бути викликана як вазоконстрикцією, так і звуженням або оклюзією мікроциркуляторного ложа (анатомічна основа). Слід відзначити, що найчастіше діють обидва механізми, та все ж таки анатомічні зміни з боку легеневих судин свідчать про більш давній процес і є прогностично несприятливими [2].

Дія лікувальних засобів, представлених сьогодні на фармацевтичному ринку України, налаштована, перш за все, на усунення вазоконстрикції. Найбільш перспек-

тивним в аспекті знання патогенезу ЛГ є пошук терапевтичного агента, здатного забезпечити ремоделювання судинної стінки, що зазнала патологічних змін.

Мезенхімальна стовбурова клітина (МСК) – потенційно перспективний, але мало вивчений терапевтичний агент, позитивно зарекомендував себе при лікуванні деяких інших захворювань [5,7–9]. Добре вивчено роль стовбурових клітин в утворенні нових судин, особливо в ішемізованих ділянках, причому вони й самі диференціюються в клітини судинної стінки і стимулюють процес неоангіогенезу в організмі реципієнта.

#### Мета роботи

На моделі монокроталініндукованої ЛГ у щурів проаналізувати морфометричні зміни в легенях під впливом клітинної терапії.

#### Матеріали і методи дослідження

Експериментальну модель ЛГ отримано у самців щурів породи Wistar з використанням монокроталіну. Дослідження проводили з дотриманням основних біотичних норм (висновок біотичної комісії ДУ «ІНВХ ім. В.К. Гусака НАМН України» №2 від 14.02.2011).

Для експерименту взяли 40 щурів (основна група), яким внутрішньоочеревинно введено 60 мг/кг піролізидинового алкалоїду монокроталіну, а також 20 щурів контрольної групи, що отримали ін'єкції 0,9% фізіологічного розчину в зіставному обсязі. У результаті метаболізму в печінці під дією цитохрому P450 монокроталін перетворюється в дегідромонокроталін, який шкодить ендотеліоцитам судин легенів [6].

Для підтвердження розвитку ЛГ через місяць після описаних маніпуляцій після проведення порівняльного аналізу величин тиску в правому та лівому шлуночках серця з експерименту виведено 20 щурів основної групи – тварини без лікування, а також 20 щурів контрольної групи. Оцінено морфометричні показники серця і легенів методом окремого зважування в обох групах. Інші 20 щурів основної групи отримали внутрішньовенні ін'єкції суспензії МСК у дозі 1 млн/кг ваги і ще через місяць були виведені з експерименту з проведенням зазначених вимірювань (група після лікування). МСК виділяли з кісткового мозку самців щурів породи Wistar при культивуванні у поживному середовищі DMEM/F12, 20% ЕТС. Дані, що стосуються величин тиску у камерах серця та показників окремого зважування легенів і частин серця, опубліковано в матеріалах Всеукраїнської наукової конференції молодих учених з міжнародною участю «Медична наука–2010» [4].

Надалі легені щурів, виведених з експерименту, фіксували в розчині формаліну і піддавали гістологічному дослідженню за стандартними методиками. Отриманий гістологічний матеріал фіксували в 10% розчині забуференого нейтрального формаліну (Shandon Fixx, США) протягом 24 годин. Після дегідратації матеріал заливали у високоочищений парафін з полімерними домішками (Richard-Allan Scientific, США) при температурі не вище 60°C. З парафінових блоків на ротаційному мікротомі Thermo Scientific (Німеччина) робили зрізи тканини завтовшки 5 мкм. Зрізи тканини розміщували на предметних скельцях (Menzel, Німеччина) і фарбували за стандартними методиками гематоксиліном та еозином (Kaltex, Італія), проводили фарбування за Вергофом (набір реактивів Diagnostic Biosystems, США).

Вивчення препаратів проводили на дослідницькому мікроскопі Olympus AX70 (Японія) з цифровою відеокамерою Olympus DP50, з'єднаною з персональним комп'ютером.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили із застосуванням статистичних пакетів «Stadia 6.0» (посвідчення ДР №0115-97.1.0 Rus, ліц. №1206), «MedStat» (версія 3, сер. №MS000027) [3] з використанням адекватних методів біостатистики. Значущість розбіжностей показників оцінювали за критерієм Стюдента (у разі нормального розподілу) або за *W*-критерієм Уїлкоксона (у разі відмінності закону розподілу від нормального).

## Результати та їх обговорення

Під час розвитку монокроталіндукованої ЛГ, що підтверджено зростанням тиску у легеневій артерії з  $31,6 \pm 1,0$  мм рт. ст. у контрольній групі до  $51,5 \pm 1,0$  мм рт. ст. у групі тварин без лікування ( $p < 0,05$ ), найбільші об'єктивні зміни відзначено в маленьких легеневих артеріях,  $< 50$  мкм.

Щодо великих легеневих артерій  $> 50$  мкм, то під дією монокроталіну достовірно збільшилися тільки товщина судинної стінки ( $9,3 \pm 0,6$  мкм у контрольній групі та  $14,0 \pm 1,8$  мкм в основній групі до лікування,  $p < 0,05$ ) та показники співвідношення стінка/просвіт артерій ( $0,13 \pm 0,01$  та  $0,25 \pm 0,05$  відповідно,  $p < 0,05$ ) – обидва приблизно на 50%. При цьому товщина стінки маленьких легеневих судин збільшилась в основній групі до лікування в 8,2 рази у порівнянні з контрольною групою та становила  $3,11 \pm 0,2$  мкм проти  $0,38 \pm 0,1$  мкм,  $p < 0,05$ . Під впливом МСК цей показник достовірно зменшився в 2,5 рази і дорівнював  $1,23 \pm 0,1$  мкм (рис. 1).

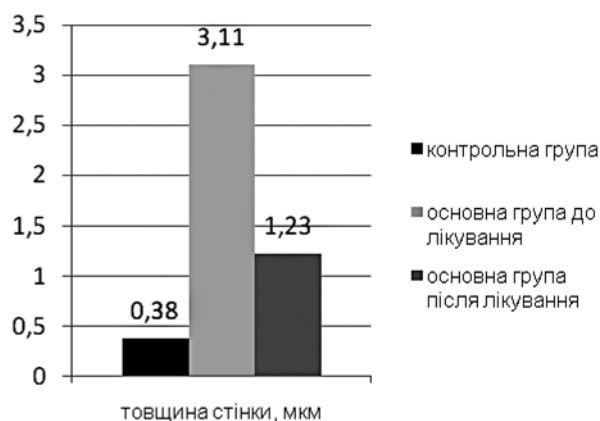


Рис. 1. Товщина стінки маленьких легеневих артерій в основній групі у порівнянні з контролем, мкм.

Діаметр просвіту маленьких легеневих судин протягом експерименту у відповідних групах також змінювався достовірно: зменшувався під дією токсину на 17,6% з  $30,6$  мкм у контрольній групі до  $25,2$  мкм у групі тварин до лікування,  $p < 0,05$ ; а потім збільшувався через місяць після використання клітинної терапії на 18,3% до  $29,8$  мкм,  $p < 0,05$  (рис. 2).

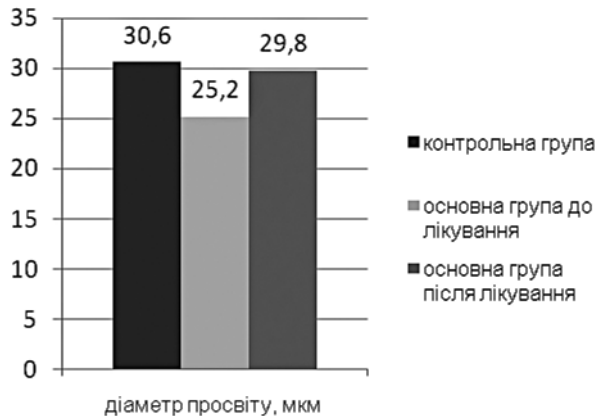


Рис. 2. Діаметр просвіту маленьких легеневих артерій в основній групі у порівнянні з контролем, мкм.

Відсоток маленьких легеневих судин з оклюзією становив у контрольній групі  $3,9 \pm 0,7\%$ , а після використання монокроталіну став  $29,8 \pm 2,7\%$ , тобто збільшився в 7,6 рази,  $p < 0,05$ ; під дією МСК через місяць цей показник зменшився до  $14,5 \pm 1,1\%$  – в 2,1 рази,  $p < 0,05$  (рис.3).

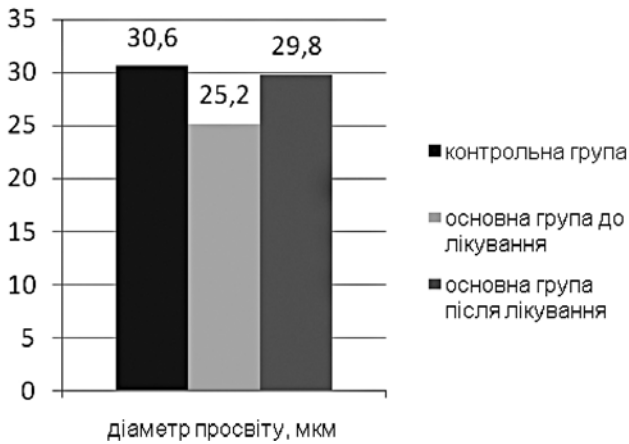


Рис. 3. Відсоток маленьких легеневих судин з оклюзією в основній групі у порівнянні з контролем, %

Аналогічну ситуацію відзначено і з боку відсотка маскуляризованих судин у препаратах –  $7,0 \pm 1,8\%$ ,  $33,0 \pm 6,1\%$  та  $18,1 \pm 4,0\%$  у контрольній та основній групах до лікування і після нього – відповідне збільшення в 4,7 рази і зменшення в 1,8 рази,  $p < 0,05$  (рис.4).

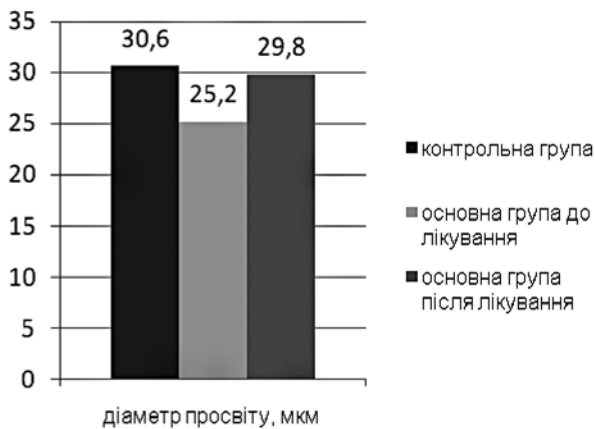


Рис. 4. Відсоток маленьких легеневих маскуляризованих судин в основній групі у порівнянні з контролем, %

## Висновки

Під впливом клітинної терапії відбувається регрес змін у легеневій паренхімі, зумовлених розвитком ЛГ у щурів після введення монокроталіну. Протягом дослідження відзначено ремоделювання судинної стінки маленьких легеневих артерій за рахунок зменшення процесів маскуляризації судин і відновлення їх просвіту. Зазначені зміни можна вважати значним позитивним впливом клітинної терапії на перебіг монокроталініндукованої ЛГ у щурів, а МСК – перспективним лікувальним агентом.

## Література

1. Амосова Е.Н. Первичная легочная гипертензия как форма легочного сердца: функциональное состояние миокарда, клиника, диагностика и принципы лечения / Амосова Е.Н., Коноплева Л.Ф., Карел Н.А., Казаков В.Е. // Украинский пульмонологический журнал. – 2002. – №2.
2. Майкл А. Гриппи. Патофизиология легких / Майкл А. Гриппи. – М.: Издательство Бином, 2008. – С. 166–180.
3. Лях Ю.Е. Основы компьютерной биостатистики: анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом MedStat / Лях Ю.Е., Гурьянов В.Г., Хоменко В.Н., Панченко В.А. – Донецк: Папакица Е.К., 2006. – 214 с.
4. Попандоуло А.Г. Возможность використання мезенхімальних стовбурових клітин з метою зниження тиску у легеневій артерії на прикладі монокроталініндуційованої легеневій гіпертензії / Попандоуло А.Г., Салахова Г.М., Постолук І.Г. // Мат. Всеукраїнської наукової конференції молодих учених з міжнародною участю «Медична наука-2010» – Полтава, 2010 – С. 121.
5. Abman S.H. Recent advances in the pathogenesis and treatment of persistent pulmonary hypertension of the newborn / Abman S.H. // Neonatology. – 2007. – №91. – P. 283–290.
6. Barst R.J. Diagnosis and differential assessment of pulmonary arterial hypertension (World Symposium on Pulmonary Arterial Hypertension in Venice, 2003) / Barst R.J., McGoon M., Torbicki A. et al. // J. Am. Coll. Cardiol. – 2004. – №43, Suppl. S. – P. 40–47.
7. Rubin L.R. Diagnosis and Management of Pulmonary Artery Hypertension: ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guideline / Rubin L.R., McCrory D.C., McLaughlin V.V. et al. // Chest. – 2004. – Vol. 126, №1. – P. 1–92.
8. Simonneau G. Clinical classification of pulmonary hypertension / Simonneau G., Galie N., Rubin L.J. et al. // J. Am. Coll. Cardiol. – 2004. – №43. – P. 5–12.
9. Zhao Y.D. Rescue of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension using bone marrow-derived endothelial-like progenitor cells: efficacy of combined cell and eNOS gene therapy in established disease / Zhao Y.D., Dting Y., Zhang Q. et al. // Circ. Res. – 2005. – Vol. 96, №4. – P. 442–450.

## Відомості про автора:

Салахова Г. М., лікар-терапевт ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака НАМН України».

## Адреса для листування:

Салахова Ганна Мавлютдинівна, м. Макіївка, Донецька обл., кв. Гвардійський, б. 14, кв. 118.

Тел.: (099) 914 78 83.

E-mail: salahovadoc@mail.ru