

7universum.com  
**UNIVERSUM:**

МЕДИЦИНА И ФАРМАКОЛОГИЯ

---

**ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК  
НА ЭНДОТЕЛИАЛЬНУЮ ДИСФУНКЦИЮ И БАЛАНС  
АНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА**

***Михайличенко Вячеслав Юрьевич***

*д-р мед. наук, проф., зав. каф. общей хирургии, ГУ «Крымский государственный  
медицинский университет имени С.И. Георгиевского»,  
РФ, Республика Крым, г. Симферополь  
E-mail: [pancreas1978@mail.ru](mailto:pancreas1978@mail.ru)*

***Самарин Сергей Александрович***

*асс. каф. МНС и анестезиологии, ФПО ГУ «Крымский государственный  
медицинский университет имени С.И. Георгиевского»,  
РФ, Республика Крым, г. Симферополь  
E-mail: [samarinmd@gmail.com](mailto:samarinmd@gmail.com)*

**THE INFLUENCE OF MESENCHYMAL STEM CELLS ON ENDOTHELIAL  
DYSFUNCTION AND THE BALANCE OF VASOFORMATIVE FACTORS  
IN TREATMENT OF EXPERIMENTAL MYOCARDIUM INFARCTION**

***Mikhaylichenko Vyacheslav***

*doctor of Medical Sciences, Professor, Head of General Surgery Chair,  
State Institution "Crimea State Medical University named after S.I. Georgievsky",  
Russia, Republic of Crimea, Simferopol*

***Samarin Sergey***

*assistant of MHC and Anesthesiology Chair,  
State Institution "Crimea State Medical University named after S.I. Georgievsky",  
Russia, Republic of Crimea, Simferopol*

## АННОТАЦИЯ

Исследование посвящено решению актуальной научной проблемы — обоснованию эффективности изогенной клеточной кардиомиопластики при инфаркте миокарда в эксперименте. Было показано, что применение МСК является эффективным методом влияния на эндотелиальную дисфункцию. Лечебный эффект достигнут за счет стимуляции неоваскулогенеза, паракринного эффекта, снижения ПОЛ, уменьшения площади рубца. Полученные результаты экспериментальных исследований позволяют рекомендовать их к дальнейшему применению в клинической медицине.

## ABSTRACT

Research is devoted to solving the actual scientific problem such as the justification of the effectiveness of isogenic cell cardiomyoplasty in myocardial infarction in the experiment. It has been shown that the use of MSC is an effective method of influence on endothelial dysfunction. Therapeutic effect is achieved due to the stimulation neovasculogenesis, paracrine effect, reducing lipid peroxidation, reducing the square of the scar. The obtained experimental results allow us to recommend them for further use in clinical medicine.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, клеточная кардиомиопластика, эндотелиальная дисфункция, ангиогенез.

**Keywords:** ischemic heart disease; myocardium infarction; cell cardiomyoplasty; endothelial dysfunction; angiogenesis.

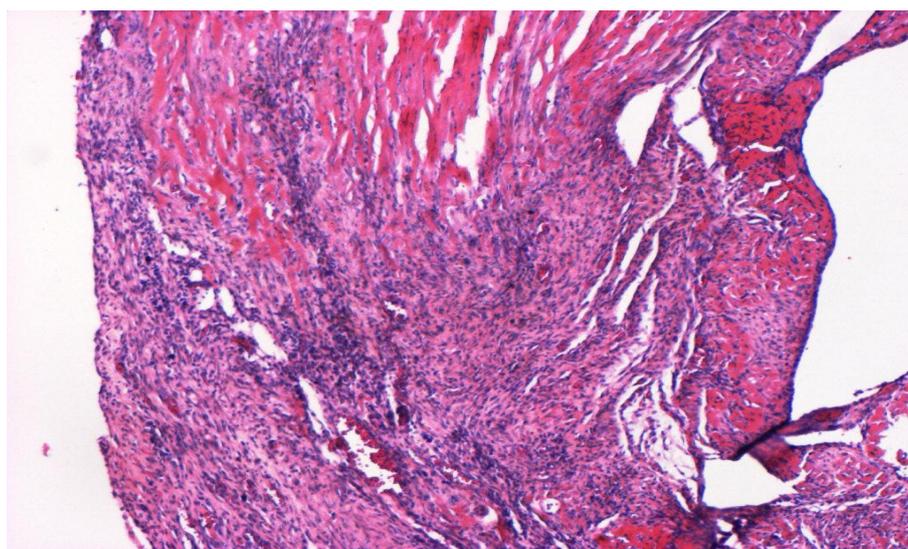
В Российской Федерации патология сердечно-сосудистой системы продолжает занимать основное место в структуре заболеваемости, смертности и первичной инвалидизации населения. Согласно современному анализу, болезни органов кровообращения составляют 61,3 % от общего показателя смертности. Поэтому разработка и внедрение мероприятий, направленных на улучшение профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), являются актуальной проблемой медицины [7].

Согласно современным представлениям, в патогенезе возникновения и прогрессирования многих ССЗ: ишемической болезни сердца (ИБС), артериальной гипертензии (АГ), хронической сердечной недостаточности (ХСН) и легочной гипертензии (ЛГ) — одну из основных ролей играет эндотелиальная дисфункция [2; 3; 4]. Дело в том, что эндотелий является основным участником ангиогенеза на всех этапах формирования новых сосудов. Особенно многогранное участие в проангиогенной функции эндотелия играют NO — триггер и трансдуктор роста и дифференциации клеток, участвующих в ангиогенезе, посредством активации конститутивной NO-синтазы, повышения уровня цГМФ, митогенактивируемой киназы, экспрессии фактора роста фибробластов. В результате повышения уровня NO в поврежденной ткани происходит уменьшение признаков воспаления, повреждения и проявлений сосудистых поражений. Повышение синтеза эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF) приводит к усилению процесса формирования новых капилляров и повышению объемной скорости кровотока в ишемизированной области. Кроме того, стимуляция эндотелином-1 (ЭТ-1) киназ рецепторов, сопряженных с G-белками класса 2, приводит к ингибированию фосфорилирования протеинкиназы B (Akt) и гипопродукции NO.

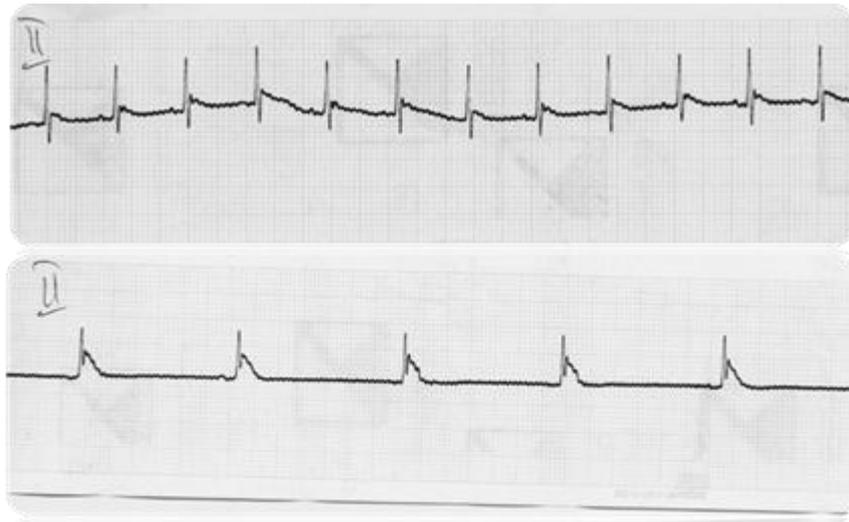
В последние десятилетия появилось много новых данных, касающихся регенерации сердца. Следует отметить, что выделяют физиологическую и репаративную регенерации сердца [9; 10]. Физиологическая регенерация — нормальный процесс обновления тканей, представляющий морфологическое выражение совершающихся в организме функциональных отправлений. Репаративная регенерация — восстановление функций органа после повреждений, дистрофических процессов, инфекций, перенапряжений, травм, интоксикаций, кислородного голодания. В отличие от большинства прочих тканей млекопитающих, мышечная ткань сердца не может полностью восстановиться после повреждения [1; 8; 11].

**Целью** нашей работы было провести оценку эффективности трансплантации мезенхимальных стволовых клеток при системном их введении на эндотелиальную дисфункцию как важного компонента проангиогенеза и процесса регенерации сердца.

**Материал и методы исследования.** Исследования проводились на 90 половозрелых крысах-самках линии Вистар—Кайота массой 280—300 г. Животные были разделены на 2 группы (по 30 животных в каждой): 1 группа — животные с ИМ не получали какого-либо лечения и 2 группа — животные, которым, после моделирования ИМ, выполняли трансплантацию МСК путем внутривенного введения. Ещё 30 составляли группу контроля. Оперативные вмешательства проводили в условиях общего обезболивания, путем интраоперitoneального введения калипсола и ксилазина в дозах 60 мг/кг и 7,5 мг/кг соответственно. Моделирование инфаркта миокарда у крыс проводили по разработанной нами методике [1; 2], которая имела подтверждение как морфологически (рис. 1), так и электрокардиографически (рис. 2). Во время выполнения оперативного вмешательства выполняли мониторинг сердечной деятельности аппаратом для холтеровского исследования Getemed HL5 (Германия).



***Рисунок 1. Участок миокарда, который рубцуется, на 30 сутки эксперимента у крыс без лечения. Определяется большой рубец на месте трансмурального инфаркта с формированием аневризмы. Окраска гематоксилином и эозином, х30***



**Рисунок 2. ЭКГ динамика острого инфаркта миокарда  
(А — здоровое животное II стандартное отведение; В — 1 сутки ОИМ)**

Культуру мезенхимальных стволовых клеток крысы изготавливали в Лаборатории клеточного и тканевого культивирования ГУ «ИНВХ им. В.К. Гусака НАМН Украины» по стандартной методике из костного мозга трубчатых костей. Культуру клеток вводили крысам в бедренную вену из расчета 1 000 000 на 1 животное.

NO (суммарную концентрацию нитрат и нитрит ионов) определяли в сыворотке крови колориметрическим методом с реагентом Грисса и предварительным восстановлением нитрат—ионов в нитрит хлорида ванадия. Определение уровня эндотелина 1 (ЭТ-1) в плазме крови у крыс проводили иммуноферментным методом с использованием набора Endotelin (1-21), фирмы «Biomedica» (Австрия). Концентрацию VEGF определяли методом ИФА с использованием анти-VEGF кроличьих поликлональных антител (Genesis Biotech. Inc., Тайвань). Определение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) плазмы крови определяли на приборе Cobas Integra 400+ с использованием стандартных оригинальных наборов фирмы Roche-Diagnostics (Швейцария). Также изучали показатели перекисного окисления липидов, аденозиндезаминазу эритроцитов. Изучена газотранспортная функция крови.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась на компьютере Pentium V, при помощи лицензионного пакета статистических программ Excel (Microsoft office XP).

**Результаты и их обсуждение.** После трансплантации мезенхимальных стволовых клеток изогенных доноров, в сроки от 1 часа до 7 суток, идет значительное увеличение концентрации оксида азота в сыворотке крови животных по сравнению с нормой и группой животных, не получавших какого-либо лечения (табл. 1). Причем повышенное содержание оксида азота наблюдается до конца опыта. Такая же тенденция наблюдается и при изучении содержания VEGF. Интересен факт, что его концентрация в сыворотке крови значительно выше во 2 группе по сравнению с 1 до 7 суток и остается выше до конца опыта. Противоположная картина наблюдается при изучении содержания антагониста предыдущих биологически активных веществ — эндотелина 1. Концентрация последнего возрастает до 6 часов после моделирования ИМ во 2 группе исследования и затем постепенно снижается и нормализуется к 1 месяцу. В 1 группе наблюдается значительное повышенное содержание эндотелина 1 до конца 1 суток после ИМ, и оно значительно выше до конца опыта по сравнению со 2 группой.

Таблица 1.

**Динамика изменения концентрации показателей ангиогенеза в сыворотке крови крысы**

Показатель	Контроль	Группа	Срок после ИМ				
			1 час	6 часов	1 сутки	7 суток	1 месяц
Оксид азота (мкг/мл) n= 10	0.58±0.03	1	0,86±0.04 ***	0,92±0,03	1,12±0,05 ***	0,99±0,04 *	0,88±0,03 *
		2	0.89±0.05 ***	1,04±0,04 *	1,26±0,03 ***	1,24±0,04	0,96±0,05 ***
VEGF (пг/мл) n= 10	66,98±12,4 7	1	70,21±11,36	126,72± 24,05 *	220,45± 22,13 *	134,89± 25,24	89,74± 21,38
		2	71,42±13,45	134,86± 28,11 *	288,22± 23,46 ***	189,57± 28,47 *	132,74± 19,87
Эндотелин 1 (моль/мл) n= 10	5.2±0.4	1	10,6±0,7 ***	12,8±0,5 *	12,9±0,4	8,8±0,3 ***	5,3±0,4 ***
		2	10,4±0,5 ***	12,8±0,6 **	9,1±0,3 ***	6,9±0,4 ***	5,1±0,2 ***

\* При сравнении с предыдущим показателем: \*-  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ; 1 — группа крыс с ИМ без лечения; 2 — ИМ+трансплантация МСК

Кардиомиопластика стволовыми клетками поврежденного миокарда сопровождалась снижением активности ферментов аденозиндезаминазы эритроцитов и ЛДГ крови, а следовательно, повышением энергетического баланса энергоголодающих субстратов и снижением степени ишемии миокарда. Торможение пероксидации мембранных липидов и напряжение неферментативного звена антиоксидантной защиты является хорошим прогностическим критерием восстановления функциональной активности поврежденного миокарда. Следует отметить, что удельный объем участка ИМ в 1 группе составил  $65,89 \pm 8,21$  %, а во 2 группе —  $24,02 \pm 1,04$  %, т. е. площадь инфаркта миокарда уменьшилась почти в 3 раза. Благоприятная динамика со стороны сосудов сопровождалась существенным улучшением показателей: уменьшением объема соединительной ткани в зоне ИМ с  $33,78$  % до  $17,73$  % (в 1,9 раза), увеличение процента сохранных мышечных волокон с  $15,9$  до  $45,04$  % (в 2,8 раз). Эффективность ангиогенеза была подтверждена

улучшением газотранспортной функции: показано достоверное повышение уровня  $PO_2$  на фоне снижения  $PCO_2$  и степени выраженности лактатацидоза.

**Выводы.** Таким образом, трансплантация МСК при ИМ приводит к стабилизации развития рубцовой деформации миоцитов. Эффективность ангиогенеза подтверждена возрастанием концентрации оксида азота (NO) и VEGF, а также снижением содержания эндотелина 1. Морфо-функциональная адаптация миокарда после клеточной кардиомиопластики позволяет рекомендовать её к использованию в клинике.

### Список литературы:

1. Белоусов Ю.Б., Намсараев Ж.Н. Эндотелиальная дисфункция как причина атеросклеротического поражения артерий при артериальной гипертензии. Методы коррекции / Ю.Б. Белоусов // Фармотека. — № 6(84). — С. 62—72.
2. Головченко Ю.И. Обзор современных представлений об эндотелиальной дисфункции / Ю.И. Головченко, М.А. Трещинская // *Consilium medicum Ukraina*. — № 11. — С. 38—40.
3. Гомазков О.А. Эндотелий — «эндокринное дерево» / О.А. Гомазков // *Природа*. — 2000. — № 5. — С. 38—46.
4. Коркушко О.В. Эндотелиальная дисфункция / О.В. Коркушко, В.Ю. Лишневецкая // *Кровообіг та гемостаз*. — 2003. — № 2. — С. 4—15.
5. Михайличенко В.Ю. Индукция репаративного морфогенеза и адаптационных резервов в поврежденном миокарде при использовании стромальных стволовых клеток костного мозга различного фенотипа / В.Ю. Михайличенко // *Вестник неотложной и восстановительной медицины*. — 2011. — Т. 12, № 2. — С. 216—223.
6. Применение аутологичных мезенхимальных стволовых клеток в кардиологии и травматологии / В.К. Гринь, А.А. Штутин, В.Ю. Михайличенко, А.Г. Попандопуло, С.И. Эстрин, Е.М. Денисова, В.М. Оксимец, Т.В. Кравченко, В.Г. Климовицкий // *Журнал НАМН Украины*. — 2011. — Т. 17, № 1. — С. 67—75.

7. Смертность от болезней системы кровообращения в России и в экономически развитых странах. Необходимость усиления кардиологической службы и модернизации медицинской статистики в РФ / Харченко В.И. [и др.] // Российский кардиологический журнал. — 2005. — № 2. — С. 5—17.
8. Cardiac cell repair therapy: a clinical perspective / B.J. Gersh, R.D. Simari, A. Behfar, C.M. Terzic, and A. Terzic // Mayo Clinic Proceedings. — 2009. — Vol. 84. — N10. — P. 876—892.
9. Clubb F.Jr. Formation of binucleated myocardial cells in the neonatal rat: an index for growth hypertrophy / F.Jr. Clubb, S.P. Bishop // Lab. Invest. — 1984. — Vol. 50. — P. 571—574.
10. Ellison G.M. Myocyte death and renewal: modern concepts of cardiac cellular homeostasis / G.M. Ellison // Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine. — 2009. — N 4(Suppl 1). — S. 52—59.
11. Mendis S., Puska P., Norrving B. Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2011, 356 p.