

ВПЛИВ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ПУПОВИННОЇ КРОВІ НА УШКОДЖЕНИЙ МІОКАРД В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Доманський Т. М.

*ДУ “Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова НАМН”
(Київ)*

В дослідженні проведено порівняльний аналіз морфологічних, функціональних ознак ураження міокарда та толерантності до фізичного навантаження у тварин з ізопротеренол-індукованим ураженням міокарда. Проаналізовано вплив трансплантації стовбурових клітин пуповинної крові (СК ПК) на природний перебіг моделі. Доведено, що трансплантація СК ПК прискорює процеси регенерації та відновлення ушкодженого міокарда в експериментальних тварин.

Ключові слова: *стовбурові клітини пуповинної крові, ізопротеренол-індуковане ураження міокарда, хронічні захворювання серця, трансплантація.*

За світовими даними, різні клінічні форми хвороб системи кровообігу реєструються у 15–20% дорослого населення. У наш час серцево-судинні захворювання викликають майже 40% усіх випадків смерті серед населення більшості розвинутих країн Європи. В Україні вони посідають перше місце в структурі захворюваності та смертності населення. Хвороби системи кровообігу на 66, % визначають рівень смертності усього населення, а його працездатної частини – на 53,8% [1]. Існуючі методи лікування цих захворювань не вирішують у повній мірі завдань, що стоять перед системою охорони здоров'я, тому пошук нових методів, які приводять до покращення стану здоров'я пацієнта, є актуальним. Таким чином, будь-який новий метод лікування серцевої недостатності, що забезпечує покращення стану здоров'я пацієнта, має велике значення.

Дослідження застосування стовбурових клітин (СК) при порушенні функції скорочення міокарда були розпочаті у 90-х роках минулого століття. Перші експериментальні роботи, що продемонстрували перспективи клінічного застосування СК, як нового методу лікування, опубліковані понад 10 років тому [2, 3]. Було доведено, що СК у пошкодженому міокарді завдяки трансдиференціюванню спричиняють активну регенерацію міокарда [4, 5] та можуть стимулювати неоангіогенез [6]. Низка досліджень продемонструвала також наявність інших механізмів регенерації серця [7–9].

Незважаючи на це, ще не достатньо вивчені механізми їх впливу на ушкоджений міокард, шляхи введення та питання вибору типу СК [10, 11]. В зв'язку із цим нами були проведені експериментальні дослідження застосувань СК пуповинної крові (ПК).

Метою роботи було дослідити вплив СК ПК на ушкоджений міокард в експерименті. Ця мета зумовила такі **завдання роботи**: 1) вивчити вплив СК ПК на зміни морфології у тварин з ураженим міокардом; 2) вивчити вплив СК ПК на функцію збудження та проведення міокарда у тварин, яким змодельовали ураження міокарда; 3) вивчити вплив СК ПК на толерантність до фізичного навантаження у експериментальних тварин.

Матеріали та методи досліджень. Експериментальні дослідження були проведені на самках лабораторних мишей віком 6 міс, з масою тіла 25–30 г, з дотриманням принципів біоетики та норм біологічної безпеки. Для моделювання ураження міокарда тваринам підшкірно вводили розчин ізопротеренола в дозі 100 мг/кг 5 днів поспіль. У групі спосте-

реження (“Модель + СК ПК”) через 3 тижні після моделювання внутрішньовенно вводили суспензію, яка містила СК ПК. Як групу порівняння (“Модель”) використовували тварин, яким вводили середовище СК ПК.

До початку експерименту та на етапах дослідження – 3,3, 7 та 11-ий тижні від початку моделювання (через 2 доби, 4 та 8 тижнів після трансплантації СК ПК) – проводили морфологічні дослідження під світлооптичним мікроскопом після забарвлення гематоксилін-еозином за стандартною методикою. Реєстрацію ЕКГ виконували на термопапір за допомогою електрокардіографа у стандартних відведеннях I, II, III, aVR, aVL, aVF. Для визначення толерантності до фізичного навантаження використовували модифікований тест примусового плавання (Порсолт, 1977).

Результати та обговорення. При дослідженні групи порівняння “Модель” було встановлено, що на гістологічних препаратах реєструються чіткі ознаки ураження: набряк ядер, цитоплазми кардіоміоцитів (КМЦ), периваскулярного простору; гетерохроматизація та гіпертрофія ядер КМЦ; розриви та звивистість ланцюжків КМЦ, контрактури КМЦ, повнокров’я капілярів, артеріол та венул. Найбільш виражені ознаки ураження були зареєстровані на 3,3 тижня спостереження. На 7 та 11 тижнях спостерігалось зменшення проявів ознак ураження, що є наслідком нормальних процесів регенерації. Тим не менше на 11 тижні доволі значущими залишалися набряки ядер КМЦ, периваскулярного простору та кровонаповнення судин. Слабо вираженими були набряк цитоплазми КМЦ, звивистість ланцюжків КМЦ та міграція фібробластів та лімфоцитів до периваскулярного простору.

У групі спостереження (“Модель + СК ПК”) на 3,3 тижні (через 2 доби після трансплантації) суттєві відмінності від групи порівняння не спостерігались. На 7 тижні (через 4 тижні після трансплантації) при мікроскопічному дослідженні встановлено деякі відмінності від групи порівняння: значно зменшилися ознаки набряку периваскулярного простору та знизилася міграція в нього клітин. На 11 тижні спостереження розбіжності між групами “Модель” та “Модель + СК ПК” були суттєві. В групі після трансплантації визначався лише незначний набряк цитоплазми КМЦ та периваскулярного простору, незначне відхилення від похідного стану за кровонаповненням капілярів, артеріол та венул.

Таким чином, трансплантація СК ПК суттєво активізувала процеси нормальної регенерації при ізопротеренол-індукованій моделі ураження міокарда.

При ЕКГ- дослідженні встановлено, що для всіх піддослідних тварин був характерний неправильний синусовий ритм. Підвищена частота серцевих скорочень була характерна для кардіограм усіх тварин групи “Модель” на всіх етапах спостереження (3,3, 7, 11 тижнів). У тварин, яким на 3 тижні були трансплантовані СК ПК, тахікардія відмічалася лише через 2 доби після трансплантації. Порушення ритму у вигляді частих екстрасистол спостерігалось у групі “Модель” на 3,3 тижні спостереження, проте ця ознака поступово нівелювалася до 11 тижня. У групі тварин «Модель + СК ПК» поодинокі екстрасистולי були лише на 3,3 тижні та зовсім не відмічені на 7 та 11 тижнях спостереження. Таким чином, трансплантація СК ПК прискорювала процеси відновлення порушеної функції збудження в серцевому м’язі.

Значне розширення комплексу QRS на 4 тижні дещо зменшувалось до 11 тижня у тварин групи «Модель». Розщеплення комплексу QRS у групі “Модель” реєструвалося на всіх етапах спостереження (4, 7, 11 тижні). Для групи «Модель + СК ПК» прояви цих ознак на 11 тижні експериментального дослідження були менш виражені порівняно з групою “Модель”. Це свідчить про те, що трансплантація стовбурових клітини приводить до прискорення відновлення функції внутрішньощлуночкового проведення.

Елевація або депресія сегмента ST у групі "Модель" реєструвалася на всіх етапах дослідження. Електрична альтернація комплексу QRS проявлялася на 3,3 та 7 тижнях та дещо менше – на 11 тижні спостереження. Зниження вольтажу зубців ЕКГ, що було характерно для 3,3 тижня спостереження, до 11 тижня нівелювалося. Це може свідчити про поступове часткове відновлення порушених процесів метаболізму в міокарді. У групі "Модель + СК ПК" нормалізація зазначених ознак відбувалася швидше.

Таким чином, трансплантація СК ПК прискорює процеси відновлення порушених функцій збудження, проведення та метаболізму в ураженому серці.

Для аналізу змін толерантності до фізичного навантаження використовували тест примусового плавання. Під час тесту реєстрували тривалість першого періоду активного плавання до вимушеної зупинки для відпочинку та тривалість загального часу плавання. Необхідно зазначити, що тривалість першого періоду активного плавання зумовлена не лише фізичною втомою, а й реакціями поведінки тварин. На загальний час плавання (тривалість здатності триматися на поверхні) головним чином впливає фізична втома піддослідних тварин.

На всіх етапах спостереження (3,3, 7, 11 тижні) вірогідних відмінностей між групами «Модель» та «Модель + СК ПК» не встановлено. На 3,3 тижні спостереження (через 2 доби трансплантації) в групі «Модель + СК ПК» зареєстровано деяке зниження толерантності до фізичного навантаження. Це може бути зумовлено реакцією на трансплантацію СК ПК. Після цього простежується чітка тенденція до підвищення толерантності до фізичного навантаження (збільшення тривалості як першого періоду активного плавання, так і загального часу плавання). Відновлення толерантності до фізичного навантаження в групі «Модель + СК ПК» дещо випереджало показник групи «Модель».

При порівнянні отриманих результатів встановлено, що у групі "Модель + СК ПК" на 11 тижні спостереження нівелюються вірогідні відмінності за тривалістю загального часу плавання між початковим і набутим станом ($p=0,107$). У групі «Модель» вірогідні відмінності від похідного стану зберігаються ($p=0,033$). Таким чином, встановлено, що трансплантація СК ПК приводить до покращення порушеної толерантності до фізичного навантаження у тварин із моделлю ураження міокарда.

Висновки

1. Трансплантація СК ПК сприяє прискоренню регенерації ураженого міокарда.
2. Введення СК ПК тваринам з моделлю ізопротеренол-індукованого ураження підвищувало знижену толерантність до фізичного навантаження.
3. СК ПК можуть мати перспективу клінічного застосування у пацієнтів із хронічними захворюваннями серця.

Література

1. Горбась І.М. Ішемічна хвороба серця: епідеміологія і статистика // Здоров'я України. – 2009. – № 3/1. – С. 34–35.
2. Marelli D., Desrosiers C., el-Alfy M., Kao R.L., Chiu R.C. Cell transplantation for myocardial repair: an experimental approach // Cell Transplant. – 1992. – Vol. 1. – P. 383–390.
3. Koh G.Y., Klug M.G., Soonpaa M.H., Field L.J. Differentiation and long-term survival of C2C12 myoblast graft in heart // J Clin Invest. – 1993. – Vol. 92. – P. 1548–1554.
4. Kocher A.A., Schuster M.D., Szabolcs M.J., Takuma S., Burkhoff D., Wang J., Homma S., Edwards N.M., Itescu S. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodelling and improves cardiac function // Nat Med. – 2001. – Vol. 7. – P. 430–436.

5. Orlic D., Kajstura J., Chimenti S., Jakoniuk I., Picke I.J., Mackay R., Nadal-Ginard B., Bodine D.M., Leri A., Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium // *Nature*. – 2001. – Vol. 410. – P. 701–705.
6. Schuster M.D., Kocher A.A., Seki T., Martens T.P., Xiang G., Homma S., Itescu S. Myocardial neovascularization by bone marrow angioblasts results in cardiomyocyte regeneration // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2004. – Vol. 287. – P. 525–532.
7. Fujii T., Yau T.M., Weisel R.D., Ohno N., Mickle D.A.G., Shiono N., Ozawa T., Matsubayashi K., Li R.-K. Cell transplantation to prevent heart failure: a comparison of cell types // *Ann Thorac Surg*. – 2003. – Vol. 76. – P. 2062–2070.
8. Moore K.A., Lemischka I.R. Stem cells and their niches // *Science*. – 2006. – Vol. 311. – P. 1880–1885.
9. Nygren J.M., Jovinge S., Breitbach M., Sawen P., Roll W., Hescheler J., Taneera J., Fleischmann B.K., Jacobsen S.E.W. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation // *Nat Med*. – 2004. – Vol. 10. – P. 494–501.
10. Chien K.R. Stem cells: lost in translation // *Nature*. – 2004. – Vol. 428. – P. 607–608.
11. No consensus on stem cells // *Nature*. – 2004. – Vol. 428. – P. 587.

ВЛИЯНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ НА ПОВРЕЖДЕННЫЙ МИОКАРД В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Доманский Т. Н.

В исследовании проведен сравнительный анализ морфологических, функциональных признаков поражения миокарда и толерантности к физической нагрузке у животных с изопротеренол-индуцированным поражением миокарда. Проанализировано влияние трансплантации стволовых клеток пуповинной крови на естественное течение модели. Доказано, что трансплантация СК ПК ускоряет процессы регенерации и восстановления поврежденного миокарда у экспериментальных животных.

Ключевые слова: *стволовые клетки пуповинной крови, изопротеренол-индуцированное поражение миокарда, хронические заболевания сердца, трансплантация.*

EFFECT OF STEM CELLS FROM CORD BLOOD ON DAMAGED MYOCARDIUM IN EXPERIMENT

Domansky T.

In the study, a comparative analysis of morphological and functional characteristics of myocardial injury and exercise tolerance in animals with izoproterenol-induced myocardial injury is presented. The effect of transplantation of cord blood stem cells in a natural flow model was studied. It is shown that transplantation IC PC accelerates the regeneration and restoration of damaged myocardium in experimental animals.

Key words: *stem cells from cord blood, izoproterenol induced myocardial injury, chronic heart disease, transplantation.*