

О.Л. Кухарчук, В.В. Радченко, В.М. Сірман, В.Ф. Сагач

Вплив алотрансплантації ембріональних плюрипотентних прогеніторних клітин на динаміку системного артеріального тиску у щурів зі спонтанною гіпертензією

В работе исследовано влияние алотрансплантации эмбриональных плюрипотентных прогениторных клеток на динамику системного артериального давления у крыс с генетически детерминированной артериальной гипертензией. Установлено, что однократное внутривенное введение эмбриональных плюрипотентных прогениторных клеток спонтанно гипертензивным крысам в количестве $5 \cdot 10^7$ /мл вызывает снижение системного артериального давления на протяжении одного месяца

ВСТУП

Численні дослідження останнього десятиріччя свідчать, що в патогенезі гіпертонічної хвороби у людини важливу роль відіграє ендотеліальна дисфункція, сутність якої полягає в генетично детермінованому порушенні динамічної рівноваги між функціонально антагоністичними вазоактивними чинниками пара- та аутокринної дії [1,2,5,6,11,12]. У щурів зі спонтанною гіпертензією підвищення артеріального тиску вважається найбільш близьким до такого у хворих на есенційну гіпертензію [7,10,13]. Встановлено, що у щурів з гіпертензією генетичні дефекти на рівні ендотеліальної клітини переходять у порушення балансу аргіназного і NO-синтазного шляхів метаболізму L-аргініну [14,15] або функціональної взаємодії ендотеліального фактора релаксації й ендотеліну-1 [4] та антагоністичних ейкозаноїдів [8]. Біохімічні порушення поєднуються з ушкодженням ендотелію, про що свідчать накопичення в крові хворих

на гіпертонію ендотеліальних тілець та біохімічні зміни в резистивних судинах [11,12]. Отже, пошуки засобів ендотеліопротекції та реендотелізації судинного русла залишаються актуальними.

Метою нашого дослідження було визначення впливу ембріональних плюрипотентних прогеніторних клітин (ЕППК) на динаміку системного артеріального тиску у щурів з генетично детермінованою артеріальною гіпертензією.

МЕТОДИКА

У роботі використано статевозрілих самців і самиць з нормальним тиском (контроль) і щурів зі спонтанною гіпертензією (дослід). Для виділення ЕППК вагітних самиць білих щурів з нормальним тиском вводили в нембуталовий наркоз (40 мг/кг внутрішньоочеревинно) на 12 стадії розвитку ембріонів за Астауровим [9]. Після асептичної обробки операційного поля (96° етиловий спирт, йод) проводили середню лапаротомію по білій лінії живо-

та. Обидва роги матки виводили в операційну рану і розрізали стерильними ножицями впоперек (біля ембріонів). Останні вилущували в стерильну чашку Петрі з охолодженим до 4 °С середовищем Хенкса з гентаміцином (кінцева концентрація – 0,001 %). Після потрібної промивки з ембріонів виділяли ЕППК за розробленою нами методикою (заявка на патент України № 20022097445). Суспензію ЕППК пропускали через капроновий фільтр (200 мкм). Контроль життєздатності ЕППК здійснювали за допомогою світлової мікроскопії при забарвленні клітин трипановим синім. Виділені клітини у кількості $5 \cdot 10^7$ /мл вводили в яремну вену дослідних щурів під нембуталовим наркозом.

Системний артеріальний тиск (САТ) вимірювали впродовж 45 діб з інтервалом у 7 діб неінвазивним фотоплетизмографічним методом у хвостовій артерії наркотизованих нембуталом тварин [15]. Перший вимір САТ проводили на третю добу після трансплантації ЕППК.

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за програмою “Біо-Стат” з визначенням критеріїв Стьюдента, χ^2 , Уїлкоксона і парного критерію Стьюдента [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження, наведені у таблиці, свідчать, що на третю добу після внутрішньовенного введення суспензії ембріональних плюрипотентних прогеніторних клітин САТ знижувався відносно вихідного значення на 16,2 %. На 10-ту добу експерименту САТ зазнавав максимальних змін і був меншим за вихідні показники на 22,8 %. На 17-ту добу спостереження САТ становив 77,2 % від вихідного рівня, на 25-ту – 85,5 %, на 31-шу – 90,0 %. На 38-му і 45-ту добу зміни САТ були недостовірними, проте тенденція до зниження артеріального тиску зберігала-

ся: середні значення САТ були відповідно на 5,4 і 6,2 % меншими, ніж на початку досліджу.

Отже, отримані результати свідчать про тривалий гіпотензивний ефект алотрансплантації ЕППК – артеріальний тиск виявлявся достовірно меншим за вихідні значення протягом 1 міс.

На рисунку наведена динаміка САТ у відсотках від вихідного значення після внутрішньовенного введення дослідним щурам ЕППК. Графічне зображення результатів дослідження наочно демонструє, що максимальне зниження артеріального тиску відбувається на 10-ту добу після алотрансплантації ЕППК і триває до 17-ї доби, після чого починається поступове підвищення САТ до вихідних показників, що підкреслюється наявністю відповідного лінійного фільтра апроксимації. Така динаміка досить чітко вміщується у часові параметри первинної реакції відторгнення трансплантата. Тобто зникнення гіпотензивного ефекту може бути наслідком поступового зменшення кількості трансплантованих ЕППК або їх похідних внаслідок імунної реакції організму хазяїна на клітинний трансплантат.

Стосовно механізмів гіпотензивної дії алотрансплантації ЕППК на динаміку САТ можна зробити три припущення, які потребують перевірки. Перше – ЕППК вбудовуються в денудовані ділянки судинного русла і під впливом мікрооточення зазнають диференціації в ендотеліоцити, виконуючи замісну функцію. Друге – трансплантовані клітини персистують в організмі у кровотоці, а на судини депресорний вплив здійснюють біологічно активні речовини, що ними утворюються. Третє – ЕППК проникають крізь гематоенцефалічний бар'єр і впливають на центральні механізми регуляції артеріального тиску.

Слід зазначити, що більшість літературних повідомлень свідчить на користь першого припущення: встановлено, що

Динаміка системного артеріального тиску (мм рт. ст.) щурів зі спонтанною гіпертензією після внутрішньовенного введення ембріональних плюрипотентних прогеніторних клітин

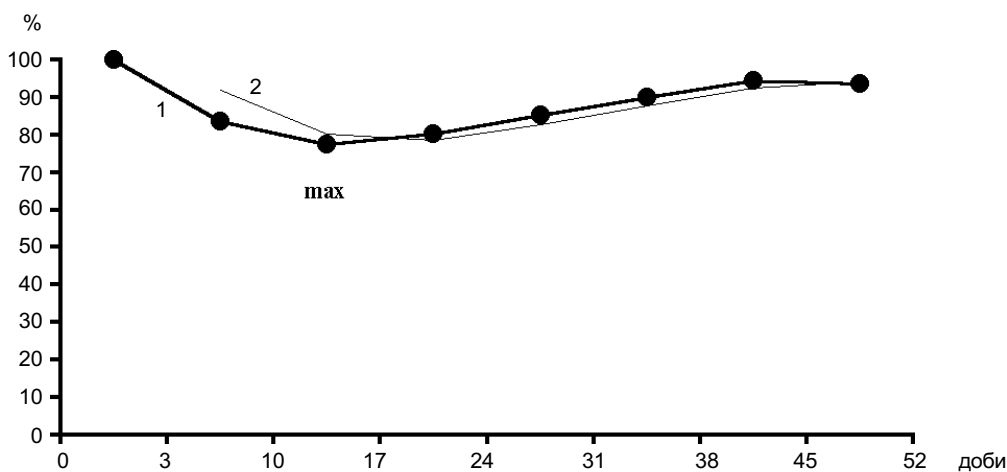
№ п/п	Вихідний стан	3-тя доба	10-та доба	17-та доба	24-та доба	31-ша доба	38-ма доба	45-та доба
1	155	145	100	130	130	130	140	140
2	145	100	100	100	120	115	100	110
3	160	135	130	100	120	140	150	150
4	160	140	110	110	130	130	140	150
5	145	115	130	120	125	140	150	150
6	150	95	130	140	130	120	150	150
7	145	140	130	130	160	160	160	150
8	145	140	100	140	115	150	150	130
$\bar{x} \pm S_x$	150,60±2,40	126,20±7,05	116,20±5,32	121,20±5,81	128,80±4,89	135,60±5,30	142,50±6,48	141,20±5,15
Md	147,5	137,5	120,0	125,0	127,5	135,0	150,0	150,0
Min	145,0	95,0	100,0	100,0	115,0	115,0	100,0	110,0
Max	160,0	145,0	130,0	140,0	160,0	160,0	160,0	150,0
Критерій Стьюдента	t=3,271 P=0,006	t=5,887 P<0,001	t=4,677 P<0,001	t=4,019 P=0,001	t=2,579 P=0,022	t=1,176 P=0,259	t=1,649 P=0,121	
Парний критерій Стьюдента	t=3,745 P=0,007	t=5,946 P<0,001	t=4,138 P=0,004	t=3,809 P=0,007	t=2,393 P=0,048	t=1,217 P=0,263	t=2,007 P=0,085	
Критерій χ^2	$\chi^2=10,952$ P=0,015	$\chi^2=8,541$ P=0,047	$\chi^2=11,921$ P=0,010	$\chi^2=6,818$ P=0,102	$\chi^2=8,069$ P=0,058	$\chi^2=9,797$ P=0,026	$\chi^2=4,795$ P=0,250	
Критерій Уїлкоксона	W=36,0 P<0,024	W=36,0 P<0,024	W=36,0 P<0,024	W=24,0 P<0,024	W=27,0 P>0,054	W=13,0 P>0,046	W=22,0 P>0,046	

Примітка: P – ступінь достовірності змін системного артеріального тиску відносно вихідного рівня.

ембріональні стовбурові та більш розвинені прогеніторні клітини ембріона здатні у зоні ушкодження тканин перетворюватися на спеціалізовані клітини, тип і вид

яких залежить від мікрооточення [16,17].

Таким чином, одноразове внутрішньовенне введення ембріональних плюрипотентних прогеніторних клітин щурам



Динаміка системного артеріального тиску (САТ) у щурів зі спонтанною гіпертензією після алотрансплантації ембріональних прогеніторних клітин (у % від вихідного рівня): 1 – САТ, 2 – апроксимація (лінійний фільтр)

зі спонтанною гіпертензією у кількості $5 \cdot 10^7$ /мл викликає зниження САТ, що триває протягом 1 міс.

O.L. Kukharchuk, V.V. Radchenko, V.M. Sirman, V.F. Sagach

THE INFLUENCE OF ALLOTRANSPLANTATION OF EMBRYONIC PLURIPOTENT PROGENITOR CELLS ON THE SYSTEMIC ARTERIAL PRESSURE DYNAMICS IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

The influence of embryonic pluripotent progenitor cells on the dynamics of the systemic arterial pressure was examined in rats with genetically determined arterial hypertension. It has been established that the single intravenous administration of the embryonic pluripotent and progenitor cells to spontaneously hypertensive rats in the amount of 5×10^7 ml lead to the lowering of the systemic arterial pressure for one month.

*Coordination Center for Organs, Tissues and Cell Transplantation Ministry of Health of Ukraine, Kiev
A.A. Bogomolets Institute of Physiology National Academy of Science of Ukraine, Kiev*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Базілюк О.В., Коцюруб А.В., Буханевич О.М. та ін. Вплив модуляції активності синтази оксиду азоту та аргінази на порушення судинного тонуусу при артеріальній гіпертензії // *Фізіол. журн.* – 2002. – **48**, № 2. – С. 64.
2. Бова А.А., Трисветова Е.Л. Роль вазоактивних ендотеліальних факторів в розвитку артеріальної гіпертензії // *Кардіологія.* – 2001. – № 7. – С. 57–58.
3. Гланц С. Медико-біологічна статистика. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
4. Гомазков О.А. Ендотелін в кардіології: молекулярні, фізіологічні та патологічні ефекти // *Кардіологія.* – 2001. – № 2. – С. 50–58.
5. Куроедов А.Ю., Николаєва А.А. Состояние сосудистой реактивности, системы перекисного окисления липидов, экскреции продуктов распада окиси азота у больных с артериальной гипертензией до и после терапии эналаприлом // *Там же.* – № 5. – С. 30–34.
6. Лямина Н.П., Сенчихин В.Н., Покидышев Д.А., Манухина Е.Б. Нарушение продукции оксида азота у мужчин молодого возраста с артериальной

- гіпертензією і немедикаментозний метод ее корекції // *Там же.* – № 9. – С. 17–21.
7. Маханова Н.А., Антонов А.Р., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Онтогенетическая динамика артериального давления и характеристик ЭЖГ у крыс линии НИСАГ с наследственной артериальной гипертензией // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 1997. – **123**, № 6. – С. 709–713.
8. Мойбенко О.О., Сагач В.Ф., Шаповал Л.М. та ін. Роль ендотелію та біологічно активних речовин ендотеліального походження в регуляції кровообігу і діяльності серця // *Фізіол. журн.* – 1997. – **43**, № 1-2. – С. 3–18.
9. Объекты биологии развития / Под ред. Б.Л. Астаурова. – М.: Наука, 1975. – 580 с.
10. Петрова Г.В., Адаричев В.А., Кривенко А.А. и др. Содержание основного белка теплового шока HSP70 у крыс с наследственной, индуцируемой стрессом артериальной гипертензией // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 1997. – **124**, № 8. – С. 171–173.
11. Поливода С.Н., Черепок А.А., Писанко Ю.Н. Эндотелийпротективные эффекты эналаприла у больных гипертонической болезнью // *Врачеб. дело.* – 2001. – № 2. – С. 136–137.
12. Поливода С.Н., Черепок А.А., Сычев Р.А., Трофименко В.В. Изменение эластических свойств артериальных сосудов у больных гипертонической болезнью // *Там же.* – 2001. – № 1. – С. 139.
13. Постнов А.Ю., Писаренко О.И., Студнева И.М., Постнов Ю.В. Спонтанная почечная и тиреоидная гипертензия крыс: общие черты в нарушениях энергетического метаболизма тканей // *Кардиология.* – 2001. – № 5. – С. 50–55.
14. Сагач В.Ф., Базілюк О.В., Коцюруб А.В., Буханевич О.М. Порушення ендотеліязалежних судинних реакцій, аргіназного та NO-синтазного шляхів обміну L-аргініну при артеріальній гіпертензії // *Фізіол. журн.* – 2000. – **46**, № 3. – С. 3–13.
15. Сагач В.Ф., Коцюруб А.В., Базілюк О.В. та ін. Інгібітори аргіназного шляху метаболізму L-аргініну як новий клас антигіпертензивних сполук: дія карбаміду на окисний метаболізм ліпідів і судинний тонуус при артеріальній гіпертензії // *Там само.* – 2001. – **47**, № 5. – С. 3–11.
16. Fandrich F., Lin X., Chai G.X. Preimplantation-stage stem cells induce long-term allogeneic graft acceptance without supplementary host conditioning // *Nat. Med.* – 2002. – **8**. – P. 171–178.
17. Hawley R.G., Sobieski D.A. New feature: stem cells in the news // *Stem Cells.* – 2002. – **20**. – P. 103–104.

Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ;

Координац. центр трансплантації органів, тканин і клітин М-ва охорони здоров'я України, Київ

Матеріал надійшов до редакції 02.05.2003