

## АНГИОГЕНЕЗ ПРИ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА И ЕГО КОРРЕКЦИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*Кафедра общей хирургии Медицинской академии имени С. И. Георгиевского  
Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования  
«Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» Министерства образования  
и науки Российской Федерации,  
Россия, Республика Крым, 295006, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7;  
тел. +79788347248. E-mail: pancreas1978@mail.ru*

В работе были проанализированы патофизиологические аспекты экспериментального инфаркта миокарда у крыс, в частности, процессы ремоделирования сердца. Продемонстрировано, что VEGF и FGF являются ключевыми факторами ангиогенеза при инфаркте миокарда. Также доказано, что трансплантация мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток повышает процессы ангиогенеза в миокарде. Эффект трансплантации подтверждается уменьшением зоны рубца, увеличением количества сосудов, восстановлением функциональной активности миокарда, а также повышением концентрации ангиогенных факторов.

*Ключевые слова:* инфаркт миокарда, ангиогенез, трансплантация, мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки.

**V. Yu. MIKHAILICHENKO, S. A. SAMARIN**

REGULATION OF ANGIOGENESIS IN EXPERIMENTAL MYOCARDIAL INFARCTION ZONE  
BY APPLICATION OF MULTIPOTEENT MESENCHYMAL STEM CELLS

*General surgery chair, medical academy named after S. I. Georgievskiy, the Federal state autonomous  
educational establishment of higher education «Crimean federal university named after V. I. Vernadsky»  
Ministry of education and science of the Russian Federation,  
Russia, Republic of Crimea, 295006, Simferopol, Lenin Boulevard, 5/7;  
tel. +79788347248. E-mail: pancreas1978@mail.ru*

In the experiment on myocardial infarction (MI), pathophysiological aspects and heart remodeling processes was carried out. It was shown that VEGF and FGF is the most promising angiogenic factors in MI. It has been shown that the use of multipotent mesenchymal stem cells is an effective method of influence on regulation of angiogenesis by increasing the angiogenic factors. Therapeutic effect of multipotent mesenchymal stem cells is achieved due to the stimulation of neoangiogenesis, increasing of the number of vessels and the diminishment of the area of the scar. Our data are consistent with the world literature that can be recommended to use of this type of cellular cardiomyoplasty in the future clinic research .

*Key words:* myocardial infarction, angiogenesis, transplantation, multipotent mesenchymal stem cells.

### **Введение**

Несмотря на значительные успехи, достигнутые стандартной терапией инфаркта миокарда, начиная от медикаментозной и заканчивая различными методами экстренной реперфузии миокарда (различные виды тромболитика, баллонная ангиопластика, коронарное шунтирование), все они направлены на ограничение размеров некроза и улучшение функции миокарда. Все это уменьшает проявление сердечной недостаточности и ее осложнений, а также электрическую

нестабильность сердца, что, соответственно, улучшает качество жизни больных и уменьшает смертность [4, 16].

В проведенном эксперименте установлено и клинически подтверждено, что VEGF (Vascular endothelial growth factor) и FGF (Fibroblast growth factors) играют первоочередную роль в формировании процессов ангиогенеза при ишемии тканей [1].

Вопрос об ангиогенезе при развитии заболеваний сердечно-сосудистой системы на данный

момент времени является наиболее спорным. Двойное отношение к неоваскулогенезу состоит как раз в том, что, с одной стороны, улучшается кровоснабжение ишемизированных тканей, что приводит к улучшению состояния органа, но с другой стороны, неоваскуляризация способствует прогрессированию атеросклеротической бляшки и является ключевым фактором, приводящим к дестабилизации и ее разрыву [3].

К неблагоприятным факторам развития сердечно-сосудистой патологии относятся: артериальная гипертензия, сахарный диабет, дислипидемия, курение, дисфункция эндотелия, избыточная масса тела и др. Они приводят к утолщению комплекса интима-медиа и к накоплению в артериальной стенке липидов [5]. Все это приводит к нарушению газообмена, т. е., во-первых, многие элементы сосудистой стенки получают питание за счет диффузии и, во-вторых, возникает необходимость увеличить обратный транспорт. Данные изменения приводят к стимуляции неоваскулогенеза за счет выброса факторов роста из семейства VEGF, которые стимулируют миелоидный росток костного мозга. В результате такого стимулирования происходит выброс эндотелиальных прогениторных клеток в сосудистое русло [8, 21]. В самой же сосудистой стенке инициируется воспаление и выбрасываются тканевые металлопротеиназы. Основная задача металлопротеиназ – расплавить стенку сосуда, чтобы образовались тонкостенные капилляры, которые превращаются в *vasa vasorum*. В результате такого расплавления должна образоваться стабильная кальцинированная фиброзная бляшка [6, 7]. Параллельно с этим металлопротеиназы воздействуют на фиброзную покрышку бляшки, повышая вероятность ее разрыва и развития острого атеротромботического образования. Помимо прочих неблагоприятных воздействий тонкостенные капилляры могут разрываться, что приводит к внутривенному и внутривенному кровоизлиянию. Данный процесс приводит к резкому увеличению атеросклеротической бляшки в достаточных размерах, чтобы привести к ее разрыву. В подтверждение этого служит факт нахождения сидерофагов внутри атеросклеротической бляшки [3].

FGF является мощным модулятором клеточной дифференцировки, пролиферации и выживаемости. Кроме активации фибробластов клетками-мишенями FGF являются эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки сосудов и др. Фибробластический фактор также принимает участие в дифференцировке адипоцитов. Он подавляет апоптоз, оказывает гистопротекторное действие и способствует выживанию клеток в условиях гипоксии и при повреждении тканей, стимулируя выработку IL-6. IL-6, в свою очередь,

является провоспалительным цитокином [9, 21]. Считается, что кислый (FGF1) и основной (FGF2) факторы роста фибробластов индуцируют ангиогенез за счет стимуляции роста эндотелиоцитов и гладкомышечных клеток [10, 14]. FGF 1 и FGF 2 экспрессируются в ишемизированном миокарде и могут играть ключевую роль в формировании коллатералей [19].

Лечение инфаркта миокарда (ИМ) с помощью факторов роста кровеносных сосудов, а именно VEGF и FGF, продемонстрировало в эксперименте увеличение кровоснабжения сердца и сохранение его функции на должном уровне [15]. Однако недостатками факторов роста кровеносных сосудов, ограничивающие их применение в клинике, являются следующие:

1) формирование aberrантных и вытекающих сосудов [13, 17, 18]. Известно, что образование стабильных, невытекающих сосудов требует согласованных действий различных ростовых и антиангиогенных факторов, например ангиопоэтинов [11], достижение чего является сложной задачей в процессе разработки лекарственного средства;

2) наличие многих изоформ VEGF, связывающихся с различными рецепторами [12, 13, 20]. При этом возникает вопрос, имеет ли определенная изоформа лучший по сравнению с другими профиль фармакокинетики/фармакодинамики для лечения ИМ;

3) стимуляция FGF и VEGF митоза различных типов клеток может обусловить рост опухоли [15, 17];

4) необходимость разработки методов адресной доставки FGF и VEGF в ишемизированный миокард с целью ограничения их побочных эффектов [2, 14].

Таким образом, современные исследования направлены на изучение молекулярных факторов развития инфаркта миокарда и возможности применения патофизиологически обоснованных способов коррекции миокардиальной дисфункции.

Целью нашей работы было изучить маркеры ангиогенеза при инфаркте миокарда у крыс и их динамику при трансплантации мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток.

### **Материалы и методы исследования**

В качестве экспериментального животного нами были выбраны крысы инбредной линии Вистар-Кайото. Это было связано с тем, что мы выполняли аллогенную трансплантацию клеток, а инбредные животные характеризуются высокой степенью гомозиготности по большинству генов. Это, в свою очередь, в определенной степени нивелировало отторжение клеточного трансплантата и приближало процесс к условиям аутогенной трансплантации как наиболее перспективного

метода в клинической практике. Помимо прочего моделирование ИМ мы выполняли на самках, а использовали культуру клеток, полученных из костного мозга самцов, чтобы в дальнейшем по Y-хромосоме верифицировать трансплантируемые клетки в организме реципиента. Исследования проводились на 60 половозрелых крысах-самках линии Вистар-Кайота массой 280–300 г, которые были разделены на 2 группы (по 30 животных в каждой):

I группа – животные с ИМ не получали какого-либо лечения;

II группа – животные, которым сразу после моделирования ИМ выполняли внутривенную трансплантацию мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) путем введения через бедренную вену в количестве 1 000 000 клеток.

Исследования на животных выполнялись при соблюдении международных правил биоэтики, предъявляемых международными организациями и ассоциациями. Протокол экспериментального исследования был одобрен локальным этическим комитетом «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В. К. Гусака НАМН Украины» (ИНВХ НАМН Украины) и соответствует Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 2010 г. пересмотра. Оперативные вмешательства проводили в условиях общего обезболивания путем интраперитонеального введения калипсола («Гедон Рихтер А. О.», Венгрия) и ксилазина (ксила, «Interchemie», Нидерланды) в дозах 60 мг/кг и 7,5 мг/кг соответственно.

Медикаментозный сон при правильном введении наступал через 2–3 минуты и продолжался  $110 \pm 5$  минут. После достижения III ст. хирургического наркоза выполняли трахеостомию по следующей методике: линейным разрезом до 1 см по средней линии рассекали кожу животных и тупо зажимом раздвигали мышцы на передней поверхности шеи. После фиксации трахеи поперечно рассекали её в межкольцевом промежутке на 3 мм ниже перстневидного хряща. После чего в просвет вводили пластиковый катетер 14G (диаметр до 2 мм). Катетер соединяли с аппаратом искусственной вентиляции легких. Вентиляцию проводили с частотой 50–60 в минуту и объемом 1,5 мл на 100 г веса животного. Адекватность вентиляции оценивали по сердечной деятельности и состоянию кровоснабжения слизистой оболочки ротовой полости.

При моделировании инфаркта миокарда выполняли левостороннюю торакотомию в 5-м межреберье, продольно вскрывая перикард. Инфаркт моделировали путем прошивания передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии после её первого деления нитью Prolene 7/0 (фирмы «Ethicon, Inc», США). Грудную полость

ушивали послойно. Затем во втором межреберье по среднеключичной линии пунктировали плевральную полость и эвакуировали воздух. После того как аппарат искусственной вентиляции отключали от катетера, у крысы восстанавливались адекватные дыхательные движения. Затем убирали катетер из трахеи и ушивали ее проленом 7/0 путем наложения узловых швов. Потом послойно ушивали мышцы на трахее. Во время выполнения оперативного вмешательства нами выполнялся мониторинг сердечной деятельности аппаратом для Холтеровского исследования «Getemed HL5» (Германия).

Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки крысы культивировали в лаборатории клеточного и тканевого культивирования ИНВХ им. В. К. Гусака НАМН Украины. Для получения культуры мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток мы использовали костный мозг здоровых крыс-самцов. Для предотвращения бактериальной контаминации содержимое костного мозга промывали физиологическим раствором, содержащим антибиотики. Костный мозг трубчатых костей крыс мы обрабатывали механически (фрагментировали) и ферментативно (используя раствор трипсина) и затем обработанный костный мозг трубчатых костей помещали в термостат при  $37^{\circ}\text{C}$ . Через 10–15 минут заингибированная клеточная суспензия нами центрифугировалась, а супернатант сливался. Клеточный осадок заливали ростовой средой, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки («Биолот», Санкт-Петербург) и помещали его в культуральный флакон. Клеточный осадок ресуспендировали в ростовой среде Игла («Биолот», Санкт-Петербург), содержащей 10% бычьей эмбриональной сыворотки («Биолот», Санкт-Петербург). Клетки в количестве  $1,5\text{--}2,0 \times 10^6$  кл/мл помещали в культуральный флакон и культивировали в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе при  $37^{\circ}\text{C}$  с 5%-ным содержанием  $\text{CO}_2$  и 95%-ной влажности. Среда заменялась нами через каждые три дня во всех культурах. Перед трансплантацией конfluэнтную культуру клеток мы промывали буферным раствором и переводили в суспензию, используя стандартный раствор трипсина (2,5 г) на Хэнксе без  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$  («Sigma», США). Ингибировали суспензию клеток добавлением сыворотки, затем центрифугировали, супернатант удаляли и суспензию клеток в физиологическом растворе отдавали на трансплантацию. Для идентификации крысиных ММСК нам было достаточно, чтобы выполнялись требования: негативно – CD 45, CD 34, c-kit (CD117); позитивно – CD 90, SSEA-1, Thy-1. Подсчет клеток проводили по стандартной методике в камере Горяева при окраске трипановым синим. Цитоз ММСК в клеточной культуре составил 4–6%, что соответствует данным литературы. Ранее нами было про-

демонстрировано и доказано, что чем раньше от момента формирования ИМ вводятся ММСК, тем лучшего эффекта стоит ожидать. При сравнении путей введения (внутривенный, интражелудочковый и трансмиокардиальный) нами было доказано отсутствие существенного преимущества двух последних перед внутривенным. Культуру клеток вводили крысам в бедренную вену из расчета 1 000 000 на 1 животное в объеме 0,2 мл.

Для детекции введенных клеток, взятых от самца, использовали гибридизацию *in situ* с определением Y-хромосомы. Процесс гибридизации состоял из 2 этапов.

На I этапе подготовленные срезы после депарафинизации и дегидратации обрабатывали раствором протеиназы К. Срезы денатурировали в гибридизаторе «ДАКО Hybridizer» на протяжении 10 минут при температуре 65° С, а затем при 37° С на протяжении 1 часа.

На II этапе для денатурации наносили раствор, подогретый до 65° С. Затем наносили смесь проб до 12 и Y-хромосомы («ID Labs Biotechnology», США), меченных биотином и FITC соответственно. После этого срезы покрывали покровным стеклом, края запечатывали уплотнителем и гибризовали при 37° С на протяжении 6 часов. На следующий день срезы промывали и проводили детекцию с помощью систем «ДАКО GenPoint» с тирамидной амплификацией (рис. 1). Препараты окрашивались дополнительно гематоксилином Майера, после чего их размещали в канадском бальзаме.

Патоморфологические исследования препаратов проводили с помощью световой микроскопии на микроскопе «Axiostar» («Carl Zeiss», Германия). Микрофотографирование и морфометрические исследования проводили на исследовательском микроскопе «Olympus AX70» (Япония) с использованием программы «AnalySIS Pro 3.2» (фирма «SoftImaging», Германия) согласно рекомендациям производителя программного обеспечения. УЗИ сердца крыс выполняли в условиях общего обезболивания на аппарате «GE Vivid» (США) с датчиком 12 МГц.

НО (суммарная концентрация нитрат- и нитрит-ионов) нами определялась в сыворотке крови колориметрическим методом с реагентом Грисса после предварительного восстановления нитрат-ионов нитрит-хлоридом 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), а FGF – с использованием наборов «R&D Systems» (США).

Статистическая обработка полученных результатов нами осуществлялась на компьютере

«Pentium V» при помощи лицензионного пакета статистических программ «Excel» («Microsoft office XP») и «Statistica» («StatSoft», США).

### Результаты и их обсуждение

ИМ у крыс подтверждался макроскопически во время выполнения перевязки коронарной артерии по данным ЭКГ, по повышению концентрации АСТ и МВ-КК, УЗИ, а также по выводу животных из опыта при патоморфологическом исследовании.

При анализе полученных данных (табл. 1) мы видим, что при трансплантации ММСК достоверно получены лучшие результаты, чем в группе животных, которые не получали какого-либо лечения. Особенно это видно при изучении среднего количества сосудов на 100 000 мкм<sup>2</sup> (10,21±1,26 без лечения в сравнении с 68,2±4,64). Данный процесс сопровождается достоверным улучшением ряда показателей: уменьшением объема соединительной ткани в зоне инфаркта, увеличением количества сохраненных мышечных волокон, т. е. кардиомиоцитов.

При анализе морфометрических данных мы установили, что удельный объем площади инфаркта у крыс, которым лечение не проводилось, составил 24,02% от первичного объема, т. е. произошло уменьшение площади миокарда в 4 раза. В группе животных, которым выполняли трансплантацию, наблюдалось двукратное уменьшение площади рубца. При этом у животных, не подвергавшихся лечению, 34% площади участка, который рубцуется, было занято соединительной тканью, а у животных после трансплантации – 18%. Удельный объем сосудов на участке рубцевания у животных с трансплантацией был ниже, чем у животных без лечения, однако сосуды имели различное строение. Помимо прочего удельное количество сосудов на 100 000 мкм<sup>2</sup> было в группе с трансплантацией ММСК в 6 раз больше, чем в группе животных, не подвергавшихся лечению. При использовании гибридизации *in situ* мы выявили в рубце, который формируется, у крыс-самок клетки с наличием Y-хромосомы в ядре, т. е. клетки – преемники пересаженных МСК. Также клетки с Y-хромосомой мы выявляли среди эндотелиальных клеток и в стенке сосудов, которые формируются (рис. 2). Таким образом, трансплантация ММСК приводит к значительному улучшению васкуляризации в зоне инфаркта, что приводит к уменьшению ишемии в пограничных с инфарктом зонах, уменьшению ишемического поражения кардиомиоцитов в этих зонах, что в результате ведет к уменьшению площади рубца и к предупреждению формирования аневризмы сердца. Доказано, что трансплантированные клетки активно принимают участие в формировании сосудов и соединительной ткани в зоне рубцевания.

## Морфометрические данные исследования

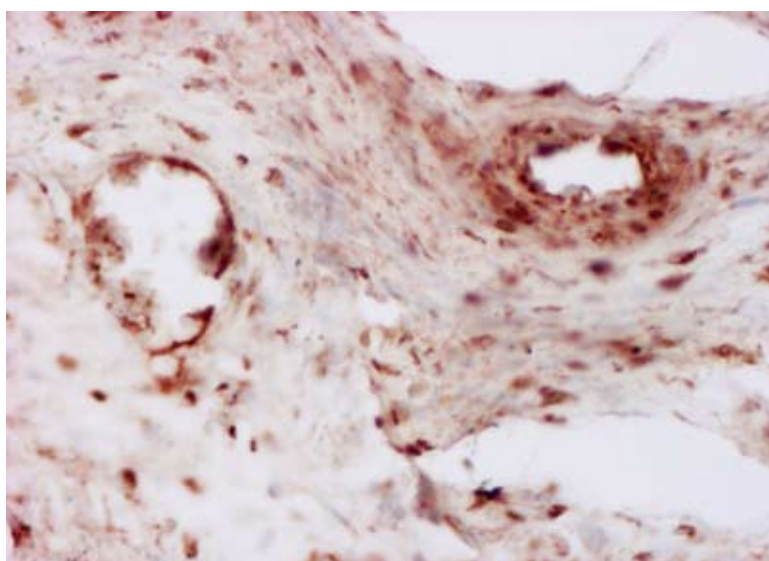
Средние по группам	Без лечения (I группа)	Трансплантация ММСК (II группа)
Удельный объем участка инфаркта от исходной ткани	24,02	54,41**
SD	1,04	8,21
Удельный объем соединительной ткани, включая сосуды	33,78	17,73**
SD	1,72	5,69
Удельный объем сосудов	6,32	9,42*
SD	0,16	3,33
Среднее кол-во сосудов на 100 000 мкм <sup>2</sup>	10,21	68,20***
SD	1,26	4,64
% сохранившихся мышечных волокон (от исходного)	15,90	45,04**
SD	0,28	9,81

**Примечание:** \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ .

Процесс рубцевания завершился на 21-й день после моделирования ИМ.

При этом следует отметить, что 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. 2). 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 II 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 II группе исследования и затем постепенно снижается и нормализуется к 1-му месяцу. В I группе наблю-

дается его значительное повышенное содержание до конца 1-х суток после ИМ и значительно выше до конца опыта по сравнению со II группой. Интересен факт, что уровень FGF оказался более чувствительный, чем VEGF, и значительно отреагировал уже через один час после моделирования ИМ у крыс, повышаясь с  $19,98 \pm 12,99$  до  $98,12 \pm 13,11$  пг/мл при  $p < 0,01$ . Далее его концентрация значительно увеличивается (в 5 раз) к 6 часам опыта, затем уменьшается к концу суток почти в 9 раз и остается до конца опыта в пределах  $32,56 \pm 6,42$  пг/мл. Резкое поднятие концентрации FGF мы связываем не только с развитием ИМ у крысы, но и с травматичностью эксперимента, в частности, хирургического доступа к сердцу. Тем не менее высокое содержание FGF у крыс с ИМ без какого-либо лечения подтверждает высокую активность ангиогенеза в сердце у крыс. Интересен факт, что во II группе крыс с трансплантацией ММСК после моделирования ИМ отмечается бо-



**Рис. 1.** Клетки, которые содержат Y-хромосому, в стенках сосудов и соединительной ткани вокруг них у крыс-самок на 30-й день после трансплантации МСК. Гибридизация *in situ* с маркером к Y-хромосоме,  $\times 300$

лее выраженное повышение FGF в срок 1-х суток опыта по сравнению с I группой, к тому же эта тенденция остается до конца срока эксперимента.

По данным УЗИ нами изучались пять основных показателей функции левого желудочка: конечный диастолический и систолический внутренние диаметры левого желудочка, ударный объем (УО), а также фракция укорочения (ФУ) и выброса (ФВ). В ходе проведенного анализа полученных данных мы убедились, что ФВ в группе с трансплантацией ММСК равняется  $65 \pm 4\%$  против  $48 \pm 5\%$  (в группе животных, которые не получали какого-либо лечения), учитывая, что в норме  $78 \pm 6\%$ . Следует отметить, что в группе с ИМ без лечения ФУ снижалась до  $26,8 \pm 0,8\%$  ( $t=4,53$ ;  $p>0,05$ ) при сравнении данного показателя во II группе. При изучении УО мы наблюдали подобную картину. Так, при моделировании ИМ УО снижался с  $0,25 \pm 0,04$  до  $0,13 \pm 0,03$  мл при  $t=2,4$ ;  $p<0,05$ , во II группе не отличался от нормы и равнялся  $0,24 \pm 0,02$  ( $t=0,22$ ;  $p>0,05$ ).

Таким образом, ИМ сопровождается, в зависимости от площади поражения, снижением сократительной функции сердца в зоне некроза и повреждения. При этом появляются гипокинезия, акинезия и дискинезия участка миокарда. В менее пораженных областях наблюдается диссинхронизация – замедление процесса сокращения по сравнению с неповрежденным миокардом. В то же время функция последнего, по данным литературы, компенсаторно возрастает за счет механизма Старлинга и повышенного уровня катехоламинов в крови. Компенсаторная гиперкинезия обычно постепенно снижается в течение первых двух недель заболевания. При обширном трансмуральном инфаркте миокарда значительно уменьшаются функция левого желудочка, сердечный выброс, ударный объем.

Таким образом, трансплантация ММСК при ИМ приводит к ограничению зоны развития рубцовой деформации миокарда. Основной эффект

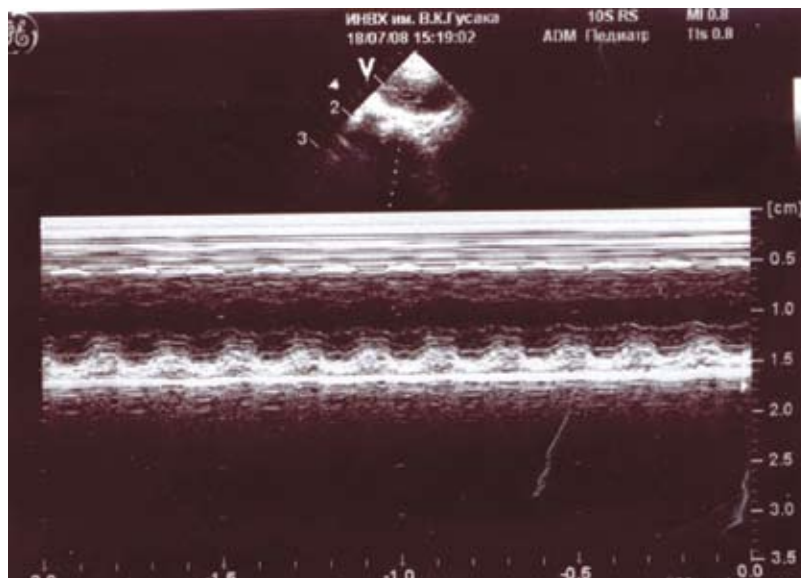


Рис. 2. ЭХО-кардиография сердца у крысы через 1 месяц после моделирования ИМ

Из качественных характеристик следует отметить: наличие систолического утолщения пораженного сегмента миокарда при ИМ в систолу либо снижено, либо вообще отсутствует (рис. 2). В сроки от 1 месяца отмечается истончение пораженного сегмента миокарда. Визуализируется нарушение подвижности стенки: гипокинезия, акинезия или дискинезия, т. е. движение пораженного сегмента в систолу внутрь частично снижено, отсутствует или парадоксально направлено наружу. Сегменты стенки противоположной, пораженной при острым инфаркте миокарда, как правило, компенсаторно гиперкинетичны. У ряда животных в I группе визуализировалась аневризма левого желудочка в виде выпячивания «молчащей» стенки.

трансплантации ММСК заключается в неоваскулогенезе и паракринном влиянии на поврежденный миокард, что приводит к значительному уменьшению зоны ИМ и восстановлению элементов гибернирующего миокарда. С помощью реакции гибридации с Y-хромосомой были доказаны «хоуминг»-эффект ММСК в зону ИМ и их дифференцировка в клетки эндотелия и фибробластов. Эффективность ангиогенеза подтверждена возрастанием концентрации оксида азота и VEGF, FGF, а также снижением содержания эндотелина 1. Следует подчеркнуть, что FGF является более чувствительным маркером альтерации миокарда и ангиогенеза по сравнению с VEGF. По данным УЗИ сердца отмечается улучшение контрактильной функции

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

Срок ИМ / Показатель	Норма	1 час	6 часов	1-е сутки	7-е сутки	1 месяц	Группа
Оксид азота (мкг/мл)	0,58±0,03	0,86±0,04***	0,92±0,03	1,12±0,05***	0,99±0,04*	0,88±0,03*	I
		0,89±0,05***	1,04±0,04*	1,26±0,03***	1,24±0,04	0,96±0,05***	II
VEGF (пг/мл)	66,98±12,47	70,21±11,36	126,72±24,05*	220,45±22,13*	134,89±25,24	89,74±21,38	I
		71,42±13,45	134,86±28,11*	288,22±23,46***	189,57±28,47*	132,74±19,87	II
FGF 2 (пг/мл)	19,98±12,99	98,12±13,11**	487,35±62,13***	52,8±6,47***	47,12±5,22*	32,56±6,42*	I
		97,45±12,12**	532,44±47,23***	348,13±35,19**	127,23±11,35**	33,48±5,41**	II
Эндотелин 1 (моль/мл)	5,2±0,4	10,6±0,7***	12,8±0,5*	12,9±0,4	8,8±0,3***	5,3±0,4***	I
		10,4±0,5***	12,8±0,6**	9,1±0,3***	6,9±0,4***	5,1±0,2***	II

**Примечание:** при сравнении с предыдущим показателем \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

миокарда в группе животных с трансплантацией ММСК по сравнению с моделью ИМ без лечения. Итак, нами на основании изучения маркеров ангиогенеза, функциональных и гистологических методов исследования продемонстрирована эффективность применения ММСК у крыс с экспериментальным инфарктом миокарда.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Арсентьева Н. И., Макарова М. А., Арсентьева М. Л. Пластические процессы при ишемическом повреждении миокарда и роль локальных митогенов в его регенерации (По результатам исследований в ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН) // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – № 3. – С. 116–121.
2. Гулевский А. К., Абакумова Е. С., Щеняевский И. И. Использование биопрепаратов в терапии ишемического повреждения сердца // *Biotechnologia acta*. – 2013. – Vol. 6. № 2. – P. 43–57.
3. Жуков Н. В. Современное состояние антиангиогенной терапии. Целевая терапия без мишени? // Практическая онкология. – 2007. – Т. 8. № 3. – С. 164–173.
4. Михайличенко В. Ю., Самарин С. А. Влияние мезенхимальных стволовых клеток на эндотелиальную дисфункцию и баланс ангиогенных факторов при лечении экспериментального инфаркта миокарда // *Universum: Медицина и фармакология: Электрон. научн. журн.* – 2015. – № 13 (14). URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/1867>.
5. Мишнев О. Д., Шевченко О. П., Лысова Н. Л., Трусов О. А., Щеголев А. И., Шевченко А. О. Патолого-анатомическая характеристика легкоранимой атеросклеротической бляшки и методы ее визуализации // *Медицинская визуализация*. – 2006. – № 2. – С. 111–117.
6. Шевченко А. О., Шевченко О. П., Орлова О. В., Туликов М. В. Неангиогенез и коронарный атеросклероз: диагнос-

тическое значение нового биохимического маркера – плацентарного фактора роста PLGF у больных ИБС // *Кардиология*. – 2006. – № 11. – С. 9–14.

7. Шевченко А. О., Шевченко О. П., Эль-Бустани С., Князев А. Н. Маркер неоартериогенеза PLGF коррелирует с толщиной комплекса интима-медиа общей сонной артерии и отдаленным прогнозом у больных ИБС // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. – 2007. – № 6. – С. 340–341.

8. Шевченко О. П., Мишнев О. Д., Шевченко А. О., Трусов О. А., Слатникова С. Д. Ишемическая болезнь сердца. – М.: Реафарм, 2005. – 345 с.

9. Шурыгин М. Г., Шурыгина И. А., Дремина Н. Н. Влияние основного фибробластического фактора роста на выраженность цитолиза при экспериментальном инфаркте миокарда // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2008. – № 6. – С. 58–60.

10. Шурыгин М. Г., Шурыгина И. А. Фактор роста фибробластов как стимулятор ангиогенеза при инфаркте миокарда // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 6. – С. 89–92.

11. Byrne A. M., Bouchier-Hayes D. J., Harme J. H. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF) // *J. cell. mol. med.* – 2005. – V. 9. № 4. – P. 777–794.

12. Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine // *Nature*. – 2005. – Vol. 438. № 7070. – P. 932–936.

13. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer // *Oncology*. – 2005. – V. 69. Suppl. 3. – P. 4–10.

14. Conway E. M., Collen D., Carmeliet P. Molecular mechanisms of blood vessel growth // *Cardiovasc. res.* – 2001. – Vol. 49. № 3. – P. 507–521.

15. Henry T. D., Rocha-Singh K., Isner J. M. et al. Intracoronary administration of recombinant human vascular endothelial growth factor to patients with coronary artery disease // *Am. heart j.* – 2001. – V. 142. № 5. – P. 872–880.

16. Lange R. A., Hillis L. D. Reperfusion therapy in acute myocardial infarction // *N. eng. j. med.* – 2003. – Vol. 346. – P. 954–955.



17. Lee R. J., Springer M. L., Blanco-Bose W. E. et al. VEGF gene delivery to myocardium: deleterious effects of unregulated expression // Circulation. – 2000. – V. 102. № 8. – P. 898–901.

18. London N., Whitehead K., Li D. Endogenous endothelial cell signaling systems maintain vascular stability // Angiogenesis. – 2009. – V. 12. № 2. – P. 149–158.

19. Schaper W., Ito W. D. Molecular mechanisms of coronary collateral vessel growth // Circ. res. – 1996. – Vol. 79. № 5. – P. 911–919.

20. Scott R. C., Rosano J. M., Ivanov Z. et al. Targeting VEGF – encapsulated immunoliposomes to MI heart improves vascularity and cardiac function // FASEB j. – 2009. – Vol. 23. № 10. – P. 3361–3367.

21. Senger D. R., Van De Water L. VEGF expression by epithelial and stromal cell compartments: resolving a controversy // Am. j. pathol. – 2000. – Vol. 157. № 1. – P. 13.

Поступила 09.02.2015

*Т. С. МУСАЕВА, О. В. КУЛИНИЧ, М. К. КАРИПИДИ*

## **ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ПЕРИОПЕРАЦИОННОЙ ИНФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ С УЧЕТОМ ДАННЫХ ПОСТОЯННОГО ПОТЕНЦИАЛА У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ОБШИРНЫХ АБДОМИНАЛЬНЫХ ОПЕРАЦИЙ**

*ГБУЗ Краснодарская краевая клиническая больница № 2  
министерства здравоохранения Краснодарского края,  
Россия, 350012, г. Краснодар, ул. Красных партизан, 6/2; тел. +7 (861) 222-48-45;  
кафедра анестезиологии, реаниматологии и трансфузиологии ФПК и ППС  
ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4. E-mail: pobeda\_zib@mail.ru*

Целью данного исследования было проанализировать предпосылки для индивидуального подхода к инфузионной поддержке обширных абдоминальных операций путем определения безопасных границ водного баланса в интра- и послеоперационный период с учетом уровня постоянного потенциала, определяемого в предоперационный период. Проведено ретроспективное исследование течения периоперационного периода у 396 пациентов. Выявлено, что уровень постоянного потенциала как маркера сверхмедленной управляющей системы организма позволяет уже до операции выделить группу риска развития послеоперационных осложнений, в основе которых лежит чрезмерный водный баланс.

*Ключевые слова:* инфузионная терапия, постоянный потенциал, послеоперационные осложнения.

***T. S. MUSAEVA, O. V. KULINICH, M. K. KARIPIDI***

**INDIVIDUAL APPROACH TO PERIOPERATIVE INFUSION THERAPY, TAKING OF THE DIRECT CURRENT POTENTIAL IN PATIENTS AFTER MAJOR ABDOMINAL SURGERY**

*GBUZ Krasnodar regional clinical hospital № 2 ministry of health of the Krasnodar territory,  
Russia, 350012, Krasnodar, 6/2, Krasnysh partizan str., 6/2; tel. +7 (861) 222-48-45;  
department of anesthesiology, reanimatology and transfusiology, faculty of training and retraining of primary  
state educational institution of higher education Kuban state medical university Russian ministry of health,  
Russia, 350063, Krasnodar, Sedina street, 4. E-mail: pobeda\_zib@mail.ru*

The purpose of this study was to analyse the prerequisites for individual approach to infusion therapy after major abdominal surgery by identifying safe boundaries of water balance in intra and postoperative period, taking of the direct current potential in preoperative period. A retrospective study of perioperative was performed on 396 patients. Revealed that the level of the direct current potential allows to select patients with risk of postoperative complication, based on excessive water balance.

*Key words:* infusion therapy, direct current potential, postoperative complication.