

МЕЖВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГЛАДКОМЫШЕЧНОЙ ТКАНИ БРОНХОВ ЧЕЛОВЕКА И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Ю.В. Агафонов*, А.Л. Зашихин*, О.В. Долгих*

*Северный государственный медицинский университет (г. Архангельск)

Гладкомышечная ткань (ГМТ) играет существенную роль в патологических заболеваниях легких, в частности – хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астмы. Однако исследования патологии человека невозможны без моделирования на лабораторных животных. В связи с этим вопрос об экстраполяции результатов, полученных на лабораторных животных, на человека, становится очень важным. Цель данной работы – дать сравнительную структурно-метаболическую характеристику ГМТ бронхов человека и лабораторных животных. С помощью морфометрии и цитоспектрофотометрии проведен сравнительный анализ изолированных гладких миоцитов (ГМ) бронхов человека, крысы и морской свинки. Определялись морфометрические параметры ГМ, содержание ДНК в ядрах и суммарный белок цитоплазмы. Показано, что ГМТ бронхов человека и лабораторных животных имеет единый принцип структурной организации, но при этом различается по структуре популяции, пролиферативному потенциалу и адаптационным возможностям. В составе ГМТ выделены субпопуляции малых, средних и больших ГМ, различающихся как по морфометрическим, так по и метаболическим характеристикам. Группа малых клеток содержит растущие ГМ, тогда как группа средних клеток представлена зрелыми ГМ, составляющими основу популяции. Только небольшая часть клеток принадлежит группе больших ГМ, характеризующихся высокой чувствительностью к повреждающим факторам и представляющим терминальную стадию миобластической дифференцировки. Установлено, что ГМТ человека, по сравнению с лабораторными животными, имеет наиболее высокие доли малых ГМ, содержания гиперплоидных клеток и цитоплазматического белка. Это позволяет считать, что ГМТ бронхов человека обладает более высоким уровнем адаптационного потенциала.

Ключевые слова: гладкие миоциты, гладкомышечная ткань бронхов человека, гладкомышечная ткань бронхов крысы, гладкомышечная ткань бронхов морской свинки.

Гладкомышечная ткань (ГМТ) играет существенную роль в патологических заболеваниях легких, в частности – хронической обструктив-

ной болезни легких (ХОБЛ) и бронхиальной астме [1, 2]. По данным ВОЗ, около 250 млн человек в мире страдают ХОБЛ. Это второе

Ответственный за переписку: Агафонов Юрий Витальевич, адрес: 163000, г. Архангельск, просп. Троицкий, д. 51; e-mail: agafonov-y@mail.ru

Для цитирования: Агафонов Ю.В., Зашихин А.Л., Долгих О.В. Межвидовые особенности гладкомышечной ткани бронхов человека и лабораторных животных // Вестн. Сев. (Арктич.) федер. ун-та. Сер.: Мед.-биол. науки. 2016. № 4. С. 49–53. doi: 10.17238/issn2308-3174.2016.4.49

по распространенности неинфекционное заболевание в общемировой статистике и первое на Севере [3]. Однако исследования патологии человека невозможны без моделирования на лабораторных животных [4, 5]. В связи с этим вопрос об экстраполяции результатов, полученных на лабораторных животных, на человека становится очень важным. Цель работы – дать сравнительную структурно-метаболическую характеристику ГМТ бронхов человека и лабораторных животных.

Материалы и методы. ГМТ бронхов изучали на материале изолированных ГМ, полученных методом прицельной клеточной диссоциации [6] из легких 10 белых беспородных крыс, 10 морских свинок и 23 взрослых мужчин от 40 до 60 лет. Для исследования материала человека использовали резецированные интактные участки легких больных с начальными стадиями периферических опухолей без воспалительных заболеваний. Объектом исследования была ГМТ средних и мелких бронхов.

ДНК в ядрах выявляли в строго идентичных условиях по методу Фельгена, контролем служили мазки, не подвергнутые гидролизу в растворе соляной кислоты. Суммарный белок цитоплазмы выявляли амидо-черным 10Б [7]. Цитоспектрофотометрию проводили одноволновым методом на сканирующем спектрофотометре МФТХ-2М (Россия), оборудованном монохроматором. Содержание ДНК в ядрах и суммарного белка в цитоплазме определяли методом сканирования. ДНК фотометрировали при длине волны 546 нм, а суммарный белок цитоплазмы – при 580 нм зондом диаметром 0,5 мкм. Одновременно определяли линейные размеры ГМ и их ядер при помощи окулярного микрометра МОВ-1-15х в двух взаимно перпендикулярных плоскостях. Объемы ГМ и их ядер вычисляли по формуле эллипсоида вращения. Оценку пролиферативного потенциала проводили, сравнивая содержание в популяции гиперплоидных клеток, которые выделяли на основе анализа гистограмм распределения показателей оптической плотности ДНК в ядрах ГМ [7]. Статистиче-

скую обработку результатов проводили с помощью программы «Statistica 6.0».

Результаты и обсуждение. Анализ средних объемов ГМ обнаружил статистически значимое различие между изучаемыми группами (критерий Краскела–Уоллиса: $H = 567,09$; $p = 0,0001$). Показано (см. таблицу), что ГМ человека имеют наименьшие размеры – $(1914,16 \pm 48,38)$ мкм³, по сравнению с крысой – $(4074,34 \pm 147,79)$ мкм³ и морской свинкой – $(4600,92 \pm 127,12)$ мкм³.

Вариабельность объема клетки была велика и выходила за пределы, установленные для нормального распределения. Это свидетельствует о неоднородности популяции ГМ, что позволило выделить группы малых, средних и больших ГМ и оценить структуру их популяции. Во всех случаях основу популяции составили средние ГМ: у крыс – 53,8 %, у человека – 51,6 % и у морской свинки – 77,4 %. Доля малых, наиболее функционально-активных клеток колебалась от 7,8 % у морской свинки до 24,2 % у крыс и 39,0 % у человека. Как нами было показано ранее [5, 7], группа малых ГМ включает в себя покоящиеся малодифференцированные предшественники с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением и низкой оптической плотностью белков цитоплазмы и молодые дифференцирующиеся клетки, которые активно синтезируют белок цитоплазмы, обладают значительным пролиферативным потенциалом и активно отвечают на изменение нагрузок. Средние ГМ составляют основу популяции и сохраняют возможность пролиферации, а большие – являются терминальным звеном гладкомышечного дифферона и утрачивают способность к пролиферации и адаптации к изменяющейся функциональной нагрузке.

Основная масса ГМ бронхов представлена диплоидными клетками. Содержание гиперплоидных клеток в ГМТ человека оказалось наиболее высоким – 23,2 %, в то время как у крыс – 12,5 % и у морской свинки – 10,2 %.

Основная доля среди цитоплазматических белков в ГМ принадлежит сократительным

**МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И ЦИТОСПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ
ИЗОЛИРОВАННЫХ ГЛАДКИХ МИОЦИТОВ БРОНХОВ У КРЫС, МОРСКИХ СВИНОК И ЧЕЛОВЕКА**

Показатель	Крыса		Морская свинка		Человек	
	$X_{cp} \pm S_x$	$V, \%$	$X_{cp} \pm S_x$	$V, \%$	$X_{cp} \pm S_x$	$V, \%$
Объем ГМ (мкм ³),	4074,34±147,79	88,9	4600,92±127,12	61,8	1914,16±48,38	87,2
в том числе:						
малых	906,60±25,58	34,0	1184,93±50,35	26,5	717,44±11,26	33,8
средних	3177,47±67,89	38,4	3939,79±70,33	35,2	2122,70±29,79	34,8
больших	9748,55±283,77	33,4	9867,71±339,82	29,6	5728,73±225,08	41,6
Структура популяции ГМ (%): малые/средние/большие	24,2/53,8/22,0	–	7,8/77,4/14,8	–	39,0/51,6/9,4	–
Объем ядер ГМ (мкм ³),	158,35±3,59	55,5	153,77±3,48	50,7	79,68±1,47	63,8
в том числе:						
малых	136,22±6,79	60,0	96,22±3,84	34,6	65,97±2,12	69,1
средних	147,83±4,50	54,7	148,76±3,26	43,2	84,29±2,05	50,2
больших	208,37±8,07	44,5	224,59±11,86	45,4	111,17±5,10	48,5
Ядерно-цитоплазматическое отношение ГМ,	0,0897±0,0050	137,0	0,041±0,0009	48,8	0,064±0,0016	84,4
в том числе:						
малых	0,2200±0,0150	83,6	0,0640±0,0320	30,9	0,1000±0,0029	62,7
средних	0,0590±0,0028	84,7	0,0420±0,0009	43,0	0,0440±0,0012	65,9
больших	0,0240±0,0012	58,3	0,0240±0,0010	37,5	0,0210±0,0012	57,1
Относительная плотность ДНК ядер ГМ (отн. ед.),	0,4390±0,0057	31,7	0,3750±0,0041	24,3	0,6830±0,0069	34,8
в том числе:						
малых	0,4650±0,0013	34,4	0,4600±0,0120	16,5	0,7530±0,0120	33,7
средних	0,4560±0,0076	30,0	0,3760±0,0045	23,7	0,6570±0,0090	33,8
больших	0,3690±0,0078	24,3	0,3240±0,0082	21,9	0,5320±0,0120	23,9
Содержание ГМ с гиперплоидными ядрами (%),	12,5	–	10,2	–	23,2	–
в том числе среди:						
малых	19,3	–	20,5	–	34,5	–
средних	14,6	–	11,1	–	18,9	–
больших	–	–	–	–	–	–
Относительная плотность суммарного белка цитоплазмы ГМ (отн. ед.),	0,2420±0,0043	44,2	0,1640±0,0030	41,5	0,4090±0,0018	15,2
в том числе:						
малых	0,2500±0,0096	46,4	0,2400±0,0130	32,9	0,4190±0,0036	18,4
средних	0,2500±0,0060	43,6	0,1630±0,0033	39,9	0,4050±0,0021	12,6
больших	0,2120±0,0072	39,2	0,1260±0,0042	28,6	0,3880±0,0036	10,1

Примечания: $X_{cp} \pm S_x$ – среднее значение и ошибка среднего; V – коэффициент вариации.

белкам [7]. Содержание цитоплазматического белка у исследуемых объектов также значительно различается (критерий Краскела–Уоллиса: $H = 1375,91$; $p = 0,0001$). Наибольший показатель выявили у человека – $0,4090 \pm 0,0018$, у крыс – $0,2420 \pm 0,0043$, а у морской свинки – $0,1640 \pm 0,0030$.

Заключение. Таким образом, ГМТ бронхов человека и лабораторных животных имеет единый принцип структурной организации и представляет собой дифферон, который включает в себя ГМ различного уровня дифференциации,

различающиеся по морфометрическим и метаболическим характеристикам. Вместе с тем ГМТ бронхов человека и лабораторных животных различается по структуре популяции, пролиферативному потенциалу и адаптационным возможностям. У человека, по сравнению с лабораторными животными, в популяции ГМТ выявлены наиболее высокие доли малых ГМ и содержания гиперплоидных клеток. Это позволяет считать, что ГМТ бронхов человека обладает более высоким уровнем адаптационного потенциала.

Список литературы

1. Anderson G.P. COPD, Asthma and C-Reactive Protein // *Eur. Respir. J.* 2006. Vol. 27, № 5. P. 874–876.
2. MacNee W. Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease // *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2005. Vol. 2, № 4. P. 258–266.
3. Пащенко В.П. Север и человек: проблемы, здоровье, долголетие. Архангельск, 2013. 269 с.
4. Taraseviciene-Stewart L., Scerbavicius R., Choe K.H., Sullivan A., Nicolls M.R., Fontenot A.P., Tuder R.M., Voelkel N.F. An Animal Model of Autoimmune Emphysema // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005. Vol. 171. P. 734–742.
5. Зашихин А.Л., Агафонов Ю.В., Бармина А.О. Механизмы реактивности гладкой мышечной ткани воздухоносных путей при экспериментальном бронхоспазме // *Морфология.* 2009. Т. 136, № 6. С. 69–74.
6. Пат. 2104524. Рос. Федерация. Способ получения препаратов изолированных клеток / Зашихин А.Л., Агафонов Ю.В., Лисишников Л.В. № 94018751/14Э; заявл. 23.05.94, опубл. 10.02.98, Бюл. № 4.
7. Зашихин А.Л., Селин Я. Висцеральная гладкая мышечная ткань. Архангельск, 2001. 195 с.

References

1. Anderson G.P. COPD, Asthma and C-Reactive Protein. *Eur. Respir. J.*, 2006, vol. 27, no. 5, pp. 874–876.
2. MacNee W. Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Proc. Am. Thorac. Soc.*, 2005, vol. 2, no. 4, pp. 258–266.
3. Pashchenko V.P. *Sever i chelovek: problemy, zdorov'e, dolgoletie* [North and Humans: Challenges, Health, Longevity]. Arkhangelsk, 2013. 269 p.
4. Taraseviciene-Stewart L., Scerbavicius R., Choe K.H., Sullivan A., Nicolls M.R., Fontenot A.P., Tuder R.M., Voelkel N.F. An Animal Model of Autoimmune Emphysema. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2005, vol. 171, no. 7, pp. 734–742.
5. Zashikhin A.L., Agafonov Yu.V., Barmina A.O. Mekhanizmy reaktivnosti gladkoy myshechnoy tkani vozdukhonosnykh putey pri eksperimental'nom bronkhospazme [Reactivity Mechanisms of Airway Smooth Muscle Tissue in Experimental Bronchial Spasm]. *Morfologiya*, 2009, vol. 136, no. 6, pp. 69–74.
6. Zashikhin A.L., Agafonov Yu.V., Lisishnikov L.V. *Sposob polucheniya preparatov izolirovannykh kletok* [Method of Obtaining Isolated Cell Preparations]. Patent RF, no. 2104524, 1998.
7. Zashikhin A.L., Selin Ya. *Vistseral'naya gladkaya myshechnaya tkan'* [Visceral Smooth Muscle Tissue]. Arkhangelsk, 2001. 195 p.

doi: 10.17238/issn2308-3174.2016.4.49

*Yuriy V. Agafonov**, *Andrey L. Zashikhin**, *Ol'ga V. Dolgikh**

*Northern State Medical University (Arkhangelsk, Russian Federation)

INTERSPECIFIC FEATURES OF BRONCHIAL SMOOTH MUSCLE TISSUE IN HUMANS AND LABORATORY ANIMALS

Smooth muscle tissue (SMT) plays a significant role in pathological lung diseases, such as chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma. However, human pathology cannot be investigated without experiments with laboratory animals. Thus, the question of extrapolating experimental data from animals to humans is very important. This paper aimed to compare the structural and metabolic characteristics of bronchial SMT in humans and laboratory animals. The comparative analysis of isolated bronchial smooth muscle cells of human, rat and guinea pig was performed using morphometric and cytophotometric methods. Morphometric parameters, the content of DNA in the nucleus, and total cytoplasmic protein of myocytes were determined. It was found that bronchial SMT in humans and laboratory animals has a similar pattern of structural organization but differs in the population structure, proliferative activity and adaptive capacity. In SMT composition we identified subpopulations of small, medium size and large myocytes, differing in their morphometric and metabolic properties. The group of small cells consists of growing myocytes, whereas the group of medium size cells is represented by mature myocytes accounting for the largest part of the population. Only a minority of the cells belong to the group of large myocytes, characterized by high sensitivity to damaging agents and presenting the terminal stage of myoblastic differentiation. We found that human bronchial SMT, compared to laboratory animals, has a bigger share of small myocytes and a higher content of hyperploid cells and cytoplasmic protein. Thus, it can be concluded that human bronchial SMT has greater adaptive capacity.

Keywords: *smooth muscle cells, human bronchial smooth muscle tissue, rat bronchial smooth muscle tissue, guinea pig bronchial smooth muscle tissue.*

Поступила 14.06.2016

Received 14 June 2016

Corresponding author: Yuriy Agafonov, *address:* prosp. Troitskiy 51, Arkhangelsk, 163000, Russian Federation; *e-mail:* agafonov-y@mail.ru

For citation: Agafonov Yu.V., Zashikhin A.L., Dolgikh O.V. Interspecific Features of Bronchial Smooth Muscle Tissue in Humans and Laboratory Animals. *Vestnik Severnogo (Arkticheskogo) federal'nogo universiteta. Ser.: Mediko-biologicheskie nauki*, 2016, no. 4, pp. 49–53. doi: 10.17238/issn2308-3174.2016.4.49