

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 616.131-008.331.1

Иммуногистохимическое исследование экспрессии белков экстрацеллюлярного матрикса и иннервации легких у пациентов с легочной артериальной гипертензией

Е. Г. Кошечая, И. А. Данилова, В. С. Сидорин,
О. М. Моисеева, Л. Б. Митрофанова

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр
имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Кошечая Елена Григорьевна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
Тел.: 8 (812) 702–37–49 (доб. 005991).
E-mail: koshevaya_eg@almazovcentre.ru

*Статья поступила в редакцию
29.12.21 и принята к печати 30.03.22.*

Резюме

Актуальность. Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) — это группа заболеваний, характеризующаяся поражением внутрилегочных сосудов и развитием правожелудочковой недостаточности. Патогенез ЛАГ до конца не изучен. К одному из звеньев патогенеза относят ремоделирование экстрацеллюлярного матрикса. Однако большое разнообразие структур и белков, входящих в его состав, а также сложность взаимосвязей между ними значительно затрудняет изучение и представляет собой большое поле для исследовательской работы. **Цель исследования** — изучение особенностей экспрессии и распределения белков экстрацеллюлярного матрикса у пациентов без ЛАГ и с ЛАГ. **Материалы и методы.** В работе использовался архивный аутопсийный материал легких от 16 пациентов с различными типами ЛАГ, в качестве группы сравнения был отобран аутопсийный материал от 7 пациентов, умерших от гемобластозов. Помимо гистологического исследования, проводилось иммуногистохимическое исследование (ИГХИ) со следующими маркерами: матриксная металлопротеиназа 9 типа (ММР9), filamin A, fibulin 5, collagen V, surfactant protein A, белок S 100 (S 100), Ki67. **Результаты.** Все пациенты с ЛАГ имели продвинутые морфологические стадии легочной гипертензии с формированием плексиформных структур. При ИГХИ легких пациентов с ЛАГ было показано повышение экспрессии ММР9 и тенденция к увеличению числа нервных волокон по сравнению с группой пациентов без ЛАГ, тогда как экспрессия filamin A, fibulin 5, collagen V, surfactant protein A в легочных артериях и паренхиме была снижена. Следует отметить, что, несмотря на разнородность выборки пациентов, было показано однотипное изменение профиля экспрессии белков экстрацеллюлярного матрикса в легочных артериях и паренхиме легких, что требует дальнейшего углубленного изучения на большей выборке пациентов. **Выводы.** Изучение маркеров экстрацеллюлярного матрикса и особенностей иннервации легких при ЛАГ у людей будет способствовать поиску таргетных препаратов и привлечению интервенционных технологий для лечения заболевания.

Ключевые слова: легочная артериальная гипертензия, внеклеточный матрикс, плексиформные структуры, иннервация легких

Для цитирования: Кошевая Е. Г., Данилова И. А., Сидорин В. С., Моисеева О. М., Митрофанова Л. Б. Иммуногистохимическое исследование экспрессии белков экстрацеллюлярного матрикса и иннервации легких у пациентов с легочной артериальной гипертензией. *Артериальная гипертензия*. 2022;28(2):198–210. doi:10.18705/1607-419X-2022-28-2-198-210

Immunohistochemical study of extracellular matrix protein expression and lung innervation in patients with pulmonary arterial hypertension

E. G. Koshevaya, I. A. Danilova, V. S. Sidorin,
O. M. Moiseeva, L. B. Mitrofanova
Almazov National Medical Research Centre,
St Petersburg, Russia

Corresponding author:
Elena G. Koshevaya,
Almazov National Medical
Research Centre,
2 Akkuratov street, St Petersburg,
197341 Russia.
Phone: 8 (812) 702–37–49 (ext. 005991).
E-mail: koshevaya_eg@almazovcentre.ru

Received 29 December 2021;
accepted 30 March 2022.

Abstract

Background. Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a group of diseases characterized by the damage to the intra pulmonary vessels and the development of right ventricular insufficiency. The pathogenesis of PAH is not fully understood. Remodeling of the extracellular matrix is one suggested mechanism. However, the wide variety of its structures and proteins, as well as the complexity of the relationships between them represent a large field for research work. **The aim of the study** was to study the features of expression and distribution of extracellular matrix proteins in patients without and with PAH. **Design and methods.** Archival autopsy material of lungs from 16 patients with various types of PAH was used, autopsy material from 7 patients who died from hemoblastosis was selected as a comparison group. In addition to histological examination, immunohistochemical examination was performed with the following markers: matrix metalloproteinase 9 (MMP9), filamin A, fibulin 5, collagen V, surfactant protein A, SI00, Ki67. **Results.** All patients with PAH had advanced morphological stages of pulmonary hypertension with the formation of plexiform structures. Immunohistochemical examination of the lungs of patients with PAH showed an increase in MMP9 expression and a tendency to increase the number of nerve fibers compared to the group of patients without PAH, while the expression of filamin A, fibulin 5, collagen V, surfactant protein A in the pulmonary arteries and parenchyma was reduced. It should be noted that despite the heterogeneity of the patient's sample, a similar change in the expression profile of extracellular matrix proteins in the pulmonary arteries and lung parenchyma was shown, which requires further in-depth study in a larger sample of patients. **Conclusions.** The study of extracellular matrix markers and features of lung innervation in PAH in humans will contribute to the search for targeted drugs and the involvement of interventional technologies for the treatment of PAH.

Key words: pulmonary arterial hypertension, extracellular matrix, plexiform structures, lung innervation

For citation: Koshevaya EG, Danilova IA, Sidorin VS, Moiseeva OM, Mitrofanova LB. Immunohistochemical study of extracellular matrix protein expression and lung innervation in patients with pulmonary arterial hypertension. *Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2022;28(2):198–210. doi:10.18705/1607-419X-2022-28-2-198-210

Введение

Легочная гипертензия гемодинамически определяется как повышение среднего давления в легочной артерии в покое 25 мм рт. ст. и выше [1]. Согласно рекомендациям Европейского кардиологического общества / Европейского респираторного общества, выделяют следующие 5 групп легочной гипертензии: 1 — легочная гипертензия как следствие поражения артерий и артериол малого круга кровообращения (легочная артериальная гипертензия (ЛАГ)); 2 — легочная гипертензия, связанная с заболеваниями левых камер сердца; 3 — легочная гипертензия, связанная с заболеваниями легких или гипоксией; 4 — посттромбоэмболическая легочная гипертензия; 5 — мультифакторная природа развития легочной гипертензии. С одной стороны, пациенты каждой группы имеют общие патофизиологические особенности, прогноз и терапевтические возможности. С другой стороны, внутри каждой группы наблюдается большая неоднородность. Наибольший интерес представляет ЛАГ, заболеваемость которой колеблется от 2 до 7,6 случая на миллион взрослых в год, а распространенность составляет от 11 до 26 случаев на миллион взрослых.

Для ЛАГ характерно ремоделирование артерий и артериол малого круга кровообращения с вовлечением в патологический процесс внеклеточного матрикса [2]. В состав экстрацеллюлярного матрикса входят коллагены, эластины, ламинины, фибронектин, тенасцин С и протеогликан, а также матриксные протеиназы, сериновые эластазы и их ингибиторы [3]. При ЛАГ наблюдаются выраженные изменения качественных свойств белков и их соотношения между собой. В частности, происходит повышение образования и отложения нерастворимых форм коллагена [4], усиление фрагментации эластина [5], увеличение накопления фибронектина и тенасцина [6]. Все больше данных свидетельствует о том, что снижение податливости легочных артерий и усиление пульсации вследствие ремоделирования внеклеточного матрикса играют решающую роль в патогенезе ЛАГ и являются скорее причиной, чем следствием дистальной пролиферативной васкулопатии мелких сосудов.

Большое количество данных о различных звеньях патогенеза ЛАГ нередко имеют противоречивый характер вследствие того, что влияние отдельных факторов до конца не изучено. Также постоянно происходит поиск новых молекул и взаимосвязей между ними и уже известными структурными элементами.

Цель работы — изучение особенностей экспрессии и распределения белков экстрацеллюлярного матрикса у пациентов без ЛАГ и с ЛАГ.

Материалы и методы

В работу были включены пациенты с прижизненно (на основании клинико-инструментальных данных) и посмертно верифицированной ЛАГ. Ввиду редкости заболевания выборка включала 16 пациентов, умерших в период с 2010 по 2020 год. В работе использовались парафиновые блоки легких, набранные при аутопсии случайным образом, в 6 случаях из 16 (в 37,5 %) в исследование были включены фрагменты из центральных и периферических отделов легких, в остальных случаях — только из периферических отделов легких. В качестве группы сравнения в работу были включены архивные аутопсийные случаи 7 пациентов, умерших от онкогематологических заболеваний и патологии центральной нервной системы (разрыв аневризмы сосудов Виллизиева круга), не имевших по клинко-морфологическим данным легочной гипертензии и иной патологии сердечно-сосудистой и дыхательной систем на момент вскрытия. Проведение работы на архивном материале от умерших пациентов было одобрено Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России (выписка № 2202–21 из протокола заседания локально-этического комитета № 02–21 от 15.02.21).

В ходе исследования проводился анализ данных историй болезни: пол, возраст, длительность заболевания, данные эхокардиографического исследования. При анализе протоколов вскрытия в работу были включены сведения о формулировке диагноза основного заболевания и непосредственной причины смерти.

В исследование были включены пациенты с выявленной ЛАГ следующих клинических форм: идиопатическая ЛАГ; ЛАГ, ассоциированная с врожденными пороками сердца (ВПС); ЛАГ, ассоциированная с заболеваниями соединительной ткани; а также случай морфологически подтвержденной веноокклюзионной болезни легких. Средний возраст пациентов с ЛАГ составил $43,75 \pm 4,37$ года, 15 пациентов из 16 женского пола (93,75 %). Заболевание было верифицировано при жизни у всех пациентов, в 13 случаях (81,25 %) выполнялась катетеризация правых камер сердца в текущую или предшествующие госпитализации. Следует отметить, что в 2 случаях у пациентов катетеризация правых камер сердца проводилась в других лечебных учреждениях, в 1 случае в текущую госпитализацию ввиду резкого ухудшения состояния в течение первых суток не была проведена. По данным эхокардиографии, среднее расчетное давление в легочной артерии составило $113,13 \pm 8,08$ мм рт. ст. (в работу были включены данные последнего исследования). При этом в 5 случаях

(31,25 %) эхокардиографическое исследование проводилось по сокращенному протоколу ввиду тяжести состояния пациентов при поступлении либо при резком ухудшении в течение первых суток от момента госпитализации. Средняя длительность заболевания по данным анамнеза составила $7,46 \pm 1,83$ года, от 1 года до 23 лет (случай некорригированного ВПС). В 3 случаях с продолжительностью заболевания 1–2 года (18,75 %) период от появления первых симптомов до верификации диагноза составил $6 \pm 0,57$ месяцев, но следует подчеркнуть, что во всех этих случаях у пациентов наблюдалась клиническая картина ЛАГ высокой степени риска. Средний возраст пациентов из группы сравнения $53,71 \pm 7,5$ года, 5 из них мужского пола (71,4%). У всех пациентов из группы сравнения не проводилось эхокардиографическое исследование.

В группе ЛАГ, ассоциированной с ВПС, было 3 пациентки, у одной из них был гемодинамически значимый дефект межжелудочковой перегородки с функциональным единым желудочком, у двух — открытый артериальный проток, операции по коррекции протока проводились в возрасте 3–4 лет. В группе ЛАГ, ассоциированной с заболеваниями соединительной ткани, было 3 пациентки, у всех была диагностирована системная склеродермия (ССД) с поражением кожи, микроциркуляторного русла, легких с развитием пневмофиброза и сото-вого легкого, желудочно-кишечного тракта.

Непосредственной причиной смерти пациентов с ЛАГ в 9 случаях из 16 (в 56,25 %) стала тромбоэмболия легочной артерии, в 4 случаях (в 25 %) — прогрессия сердечной недостаточности. У всех пациентов наблюдались морфологические признаки правожелудочковой недостаточности: расширение полости правого желудочка, гидроторакс и асцит, «мускатная» печень. В 2 случаях (в 12,5 %) летальный исход не был связан с течением ЛАГ — в одном случае у пациентки был острый инфаркт миокар-

да, в другом — абсцедирующая пневмония. Среди пациентов из группы сравнения в 6 случаях из 7 причиной смерти стала прогрессия онкогематологических заболеваний, в 1 случае — отек головного мозга и массивное субарахноидальное кровоизлияние вследствие разрыва аневризмы внутренней сонной артерии.

Для углубленного анализа и унифицированности исследуемого материала с выбранных парафиновых блоков были сделаны дополнительные срезы для окрашивания гематоксилином и эозином. Также для уточнения морфологической стадии легочной гипертензии использовалась гистохимическая окраска по ван Гизону с эластикой.

Материал всех пациентов с ЛАГ и группы сравнения был отобран для проведения иммуногистохимического исследования (ИГХИ) со следующими маркерами (подробные сведения об использовавшихся антителах представлены в таблице 1):

- S 100 — для оценки внутрилегочной периваскулярной иннервации, в особенности в периферических отделах легких;
- Ki67 — для оценки пролиферативной активности эндотелиальных клеток в плексиформных структурах;
- MMP9 — матриксные металлопротеиназы, в наибольшей степени ассоциированные с развитием и прогрессией ЛАГ по данным литературы; изучалось тканеспецифичное распределение маркера;
- Collagen V — тип коллагена, задействованный в структурной организации стенок сосудов;
- Filamin A — белок экстрацеллюлярного матрикса, перспективный для изучения ЛАГ;
- Fibulin 5 — белок экстрацеллюлярного матрикса, встречающийся преимущественно в сосудистой стенке;
- Surfactant protein A — белок, в составе сурфактанта, играющий большую роль в местном врожденном иммунитете.

Таблица 1

СВЕДЕНИЯ ОБ ИСПОЛЬЗОВАВШИХСЯ В РАБОТЕ АНТИТЕЛАХ

Название первичных антител	Разведение/буфер	Фирма-изготовитель	Страна	Клон	Тип антитела
Surfactant protein A	1:50/9.0	Leica	Великобритания	32E 12	Mono, mouse
Collagen V	1:50/9.0	LifeSpan	Нидерланды	LS-C 18873/35926	Poly, rabbit
S 100	1:600/6.0	Dako	Дания	Z 0311	Poly, rabbit
Ki67	1:50/9.0	Dako	Дания	M 7240	Mono, mouse
Fubulin 5	1:50/9.0	abnova	Тайвань	PAB 20005	Poly, rabbit
Filamin A	1:100/9/0	Santa Cruz	США	PM6/317	Mono, mouse
MMP9	1:20/9.0	Santa Cruz	США	sc-393859	Mono, mouse

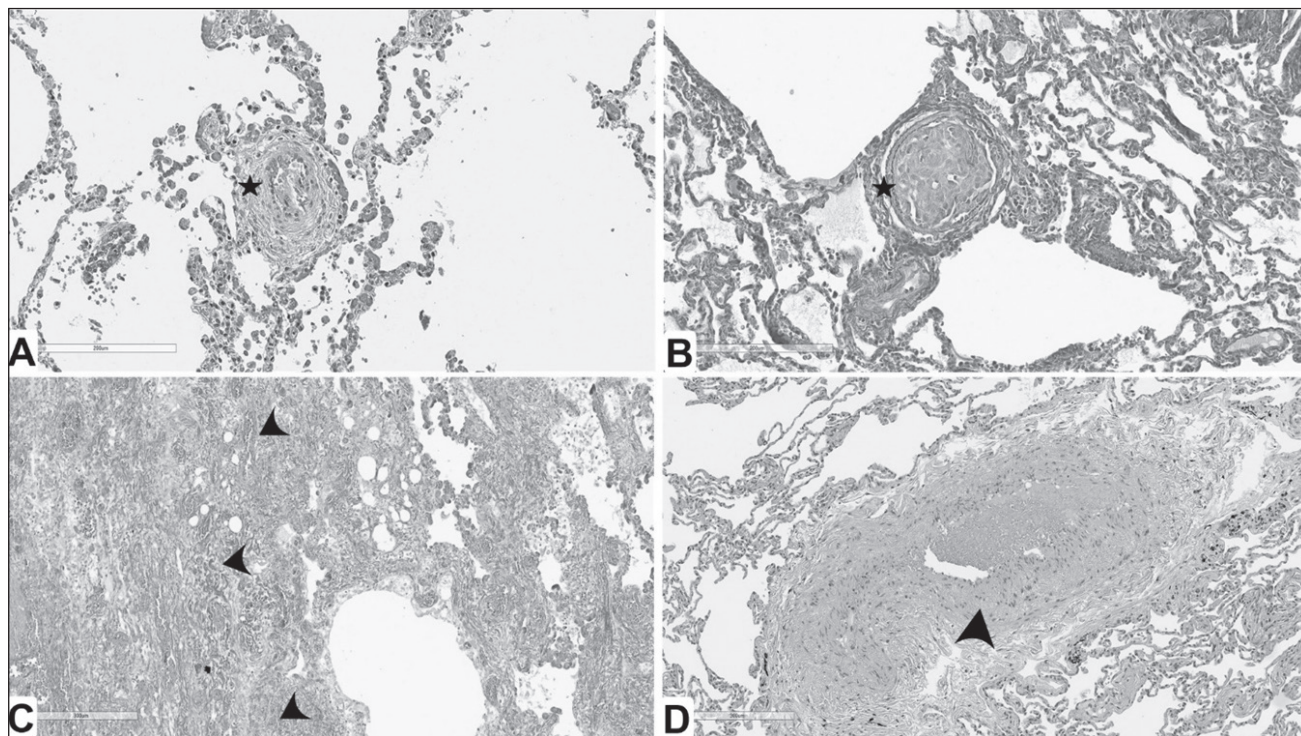
Работа выполнялась на цифровых изображениях, полученных путем сканирования препаратов на гистосканере Aperio AT2. Последующая работа с изображениями, в том числе морфометрия и проведение полуколичественного анализа изображений, проводилась в программе Aperio ImageScope 12.4.3. Для оценки уровня экспрессии различных маркеров экстрацеллюлярного матрикса в различных структурах использовалась следующая система: 1 балл — единичные структуры/клетки с характерным окрашиванием; 2 балла — до трети исследуемых структур/клеток окрашены; 3 балла — до 2/3 структур/клеток окрашено; 4 балла — более 2/3 структур экспрессируют маркер. Для статистического анализа использовался критерий Стьюдента, различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

У всех пациентов из группы ЛАГ выполнялось морфологическое стадирование легочной гипертензии по классификациям Heath&Edwards [7] и Wagenvoort&Wagenvoort [8]. В соответствии с ними у всех пациентов были установлены продвинутые стадии ЛАГ: IV–V стадии по Heath&Edwards и V–VI стадии по Wagenvoort&Wagenvoort. При гистологи-

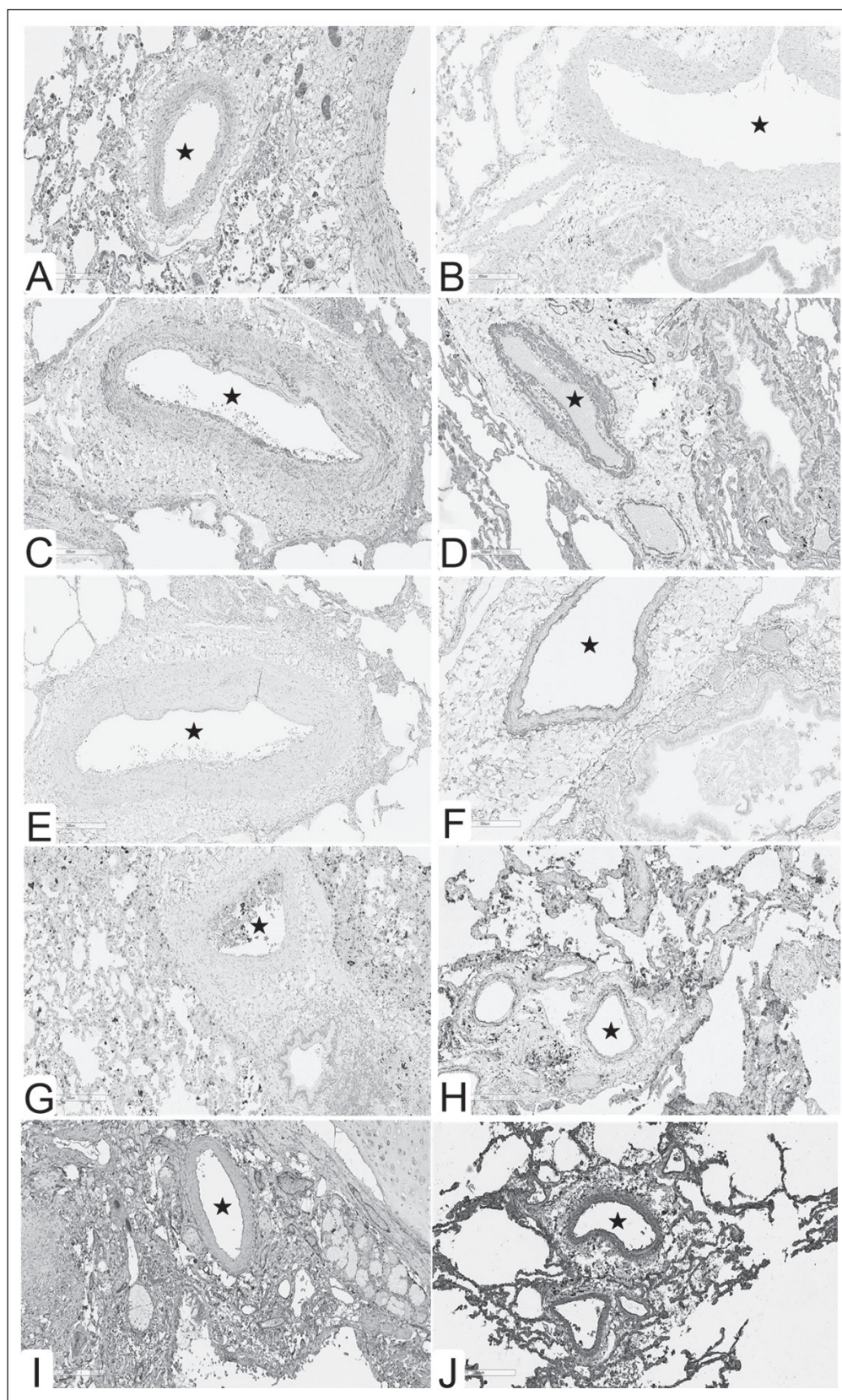
ческом исследовании в выбранных для последующего углубленного исследования препаратах легких пациентов с ЛАГ определялся концентрический фиброз стенок артерий всех калибров с облитерацией просвета части сосудов малого калибра, в 9 случаях из 16 (в 56,25%) отмечалось формирование в артериях малого калибра плексиформных структур (рис. 1А, В). В 2 случаях из 16 (в 12,5%) — выраженная дилатация и истончение стенок артерий среднего калибра. Также в случаях ЛАГ, ассоциированной с ССД, определялся выраженный фиброз межальвеолярных перегородок (рис. 1С). Также в препаратах легких пациентов с любыми вариантами ЛАГ выявлялись организованные пристеночные и обтурирующие просвет тромбы в просвете мелких ветвей легочных артерий (давностью более 1 месяца) в 7 случаях из 16 (43,75%). Под организацией тромбов подразумевалось наличие в тромботических массах коллагеновых волокон, эндотелизация и реваскуляризация тромба. При этом, по клинико-анамнестическим данным, тромбоэмболия мелких ветвей легочной артерии была верифицирована при жизни только в 4 из 7 морфологически подтвержденных случаев (57,15%). В препаратах легких в группе сравнения в части случаев наблюдалось утолщение стенок

Рисунок 1. Гистологические изменения, выявленные в легких пациентов с легочной артериальной гипертензией и в группе сравнения



Примечание: А — плексиформные структуры в легочной артерии малого калибра (отмечено звездочкой), окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$; В — плексиформные структуры в легочной артерии малого калибра (отмечено звездочкой), окраска по ван Гизону с эластикой, увеличение $\times 200$; С — выраженный диффузный пневмофиброз у пациента с легочной артериальной гипертензией, ассоциированной с системной склеродермией, окраска по ван Гизону с эластикой, увеличение $\times 100$; D — утолщение стенки легочной артерии за счет гиперплазии мышечного слоя в легких пациента из группы сравнения, окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$.

Рисунок 2. Экспрессия используемых маркеров в паренхиме легких пациентов с легочной артериальной гипертензией и в группе сравнения



Примечание: Звездочкой отмечен просвет легочных артерий, увеличение $\times 100$; А — MMP9 в группе легочной артериальной гипертензии; В — MMP9 в группе сравнения; С — filamin A в группе легочной артериальной гипертензии; D — filamin A в группе сравнения; E — fibulin 5 в группе легочной артериальной гипертензии; F — fibulin 5 в группе сравнения; G — surfactant protein A в группе легочной артериальной гипертензии; H — surfactant protein A в группе сравнения; I — collagen V в группе легочной артериальной гипертензии; J — collagen V в группе сравнения.

Таблица 2

**ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРА ММР9 В ЛЕГКИХ В ГРУППЕ СРАВНЕНИЯ
И ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

Норма и типы ЛАГ с указанием числа случаев	Локализация окрашивания в клетках или структурах легочной ткани с полуколичественной оценкой в баллах			
	ЛА малого калибра	ЛА среднего и крупного калибров	МАП	Стенка бронхов
Группа сравнения (7)	1	1	1	1
Идиопатическая ЛАГ (9)	2	2	2	2
ЛАГ, связанная с ВПС (3)	1	2	2	2
ЛАГ, связанная с ССД (3)	1	2	2	1
Веноокклюзионная болезнь (1)	1	3	1	2

Примечание: ЛАГ — легочная артериальная гипертензия; ЛА — легочная артерия; МАП — межальвеолярная перегородка; ВПС — врожденный порок сердца; ССД — системная склеродермия.

Таблица 3

**ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРА FILAMIN A В ЛЕГКИХ В ГРУППЕ СРАВНЕНИЯ И ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ
ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

Норма и типы ЛАГ с указанием числа случаев	Локализация окрашивания в клетках или структурах легочной ткани с полуколичественной оценкой в баллах			
	ЛА малого калибра	ЛА среднего и крупного калибров	МАП	Стенка бронхов
Группа сравнения (7)	4	4	3	3
Идиопатическая ЛАГ (8)	3	3	2	2
ЛАГ, связанная с ВПС (3)	3	3	3	3
ЛАГ, связанная с ССД (3)	3	3	2	3
Веноокклюзионная болезнь (1)	4	4	3	4

Примечание: ЛАГ — легочная артериальная гипертензия; ЛА — легочная артерия; МАП — межальвеолярная перегородка; ВПС — врожденный порок сердца; ССД — системная склеродермия.

Таблица 4

**ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРА FIBULIN 5 В ЛЕГКИХ В ГРУППЕ СРАВНЕНИЯ И ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ
ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

Норма и типы ЛАГ с указанием числа случаев	Локализация окрашивания в клетках или структурах легочной ткани с полуколичественной оценкой в баллах			
	ЛА малого калибра	ЛА среднего и крупного калибров	МАП	Стенка брон- хов
Группа сравнения (7)	2	3	2	2
Идиопатическая ЛАГ (8)	1	2	2	2
ЛАГ, связанная с ВПС (3)	1	1	2	2
ЛАГ, связанная с ССД (3)	1	1	3	2
Веноокклюзионная болезнь (1)	1	1	1	2

Примечание: ЛАГ — легочная артериальная гипертензия; ЛА — легочная артерия; МАП — межальвеолярная перегородка; ВПС — врожденный порок сердца; ССД — системная склеродермия.

артерий среднего калибра с утолщением стенки за счет гиперплазии мышечного слоя (рис. 1D).

При ИГХИ экспрессия MMP9 выявлялась во всех препаратах в виде гранулярного цитоплазматического окрашивания преимущественно в альвеолоцитах, макрофагах и бронхиальном эпителии (рис. 2A, B). Также экспрессия наблюдалась в интима и меди артерий среднего и крупного калибров, особенно во внутренней трети, а также в стенке бронхов различного калибра. В наблюдениях с выраженным пневмофиброзом отмечалась экспрессия белка среди фиброзированной ткани. Отдельно следует подчеркнуть, что наибольшее содержание MMP9 выявлялось в составе организующихся тромбов легочных артерий. В случаях ЛАГ наблюдалась более выраженная экспрессия белка в составе стенок артерий среднего и крупного калибров, а также в межальвеолярных перегородках, по сравнению с группой сравнения. Выраженность экспрессии в легочных артериях малого калибра и в составе стенки бронхов в группе сравнения и при ЛАГ практически идентична (табл. 2).

Экспрессия *filamin A* во всех наблюдениях определялась в меди легочных артерий любого калибра, в субэндотелиальном слое мышечной оболочки легочных вен, фиброзной перибронхиальной ткани (рис. 2C, D). Также отмечалось «контурное» окрашивание межальвеолярных перегородок. Следует отметить, что в группе контроля окрашивание легочных артерий было ограничено только медией сосуда, в то время как во всех случаях ЛАГ также определялась экспрессия белка в адвентиции сосудов и окружающей фиброзной ткани. Выраженная экспрессия филамина A также определялась в очагах пневмофиброза и в организующихся тромбах легочных артерий. В целом экспрессия белка снижена в наблюдениях ЛАГ по сравнению с группой гемобластозов во всех исследованных локализациях (табл. 3).

Экспрессия *fibulin 5* в группе сравнения определялась в стенках легочных артерий и вен всех калибров по ходу внутренней и наружной эластических мембран (рис. 2E, F). В артериях крупного калибра экспрессия в некоторых случаях имела более прерывистый характер, чем в сосудах меньшего калибра. Также волокна, содержащие *fibulin 5*, определялись в составе межальвеолярных перегородок. Во всех случаях ЛАГ отмечалось резкое снижение экспрессии белка в стенке легочных артерий всех калибров, в большей степени — в артериях малого калибра (табл. 4). При этом отмечалось окрашивание волокон в адвентиции сосудов, а также в тромбоцитарных массах. Обращает на себя внимание более высокий уровень экспрессии *fibulin 5* в составе

межальвеолярных перегородок, а также в очагах пневмофиброза в случаях ЛАГ, ассоциированных с ВПС и ССД.

Экспрессия *surfactant protein A* определялась в виде цитоплазматического окрашивания в альвеолоцитах и макрофагах, а также в единичных клетках бронхиального эпителия (рис. 2G, H). В части случаев отмечалось «контурное» окрашивание межальвеолярных перегородок. В группе сравнения в 6 случаях из 7 (в 85,7%) экспрессия *surfactant protein A* наблюдалась в мышечном слое артерий и вен всех калибров, преимущественно в составе стенок артерий малого калибра. Во всех случаях ЛАГ отмечалось отсутствие или снижение уровня экспрессии белка в стенках артерий (табл. 5). В очагах пневмофиброза определялись единичные волокна, экспрессирующие *surfactant protein A*.

Экспрессия *collagen V* наблюдалась во всех случаях в субэндотелиальном слое сосудов разного калибра в виде полного или прерывистого контура просвета сосуда, также определялось диффузное окрашивание стенок легочных артерий (рис. 2I, J). Отмечалось «контурное» окрашивание стенок альвеол и экспрессия маркера отдельными волокнами в составе стенок бронха. Во всех случаях ЛАГ отмечалось снижение уровня экспрессии *collagen V* в стенках легочных артерий разного калибра, в артериях малого и среднего калибра в большинстве случаев было полное исчезновение диффузного окрашивания стенки сосуда (табл. 6). Однако субэндотелиальная экспрессия наблюдалась во всех случаях, в том числе — в плексиформных структурах. Уровень экспрессии белка в межальвеолярных перегородках в группах ЛАГ был снижен по сравнению с группой сравнения, также следует отметить, что экспрессия белка не наблюдалась в очагах пневмофиброза.

В исследованных нами случаях маркер пролиферации Ki67 не экспрессировался в стенке сосудов ни в одном случае. Пролиферативная активность в альвеолярном и бронхиальном эпителии не оценивалась.

Дополнительно проводилось ИГХИ с маркером S 100 для выявления нервных волокон в ткани легкого. Нервные волокна и единичные ганглии определялись в 6 случаях из 7 в группе сравнения (в 85,7%) и в 12 случаях ЛАГ из 16 (в 75%). Нервные волокна в группе сравнения выявлялись преимущественно вблизи крупных бронхов и в меньшей степени — вблизи легочных вен и артерий. На 1 см² определялось $6,94 \pm 1,41$ нервных волокон диаметром $24,4 \pm 4,62$ мкм. В группе ЛАГ нервные волокна и единичные ганглии выявлялись вблизи легочных артерий крупного и среднего калибров

Таблица 5

**ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРА SURFACTANT PROTEIN A В ЛЕГКИХ
В ГРУППЕ СРАВНЕНИЯ И ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

Норма и типы ЛАГ с указанием числа случаев	Локализация окрашивания в клетках или структурах легочной ткани с полуколичественной оценкой в баллах			
	ЛА малого калибра	ЛА среднего и крупного калибров	МАП*	Стенка бронхов*
Группа сравнения (7)	2	1	3	2
Идиопатическая ЛАГ (8)	–/1	–/1	2	1
ЛАГ, связанная с ВПС (3)	–	–	2	1
ЛАГ, связанная с ССД (3)	–	–	2	1
Веноокклюзионная болезнь (1)	1	1	2	1

Примечание: ЛАГ — легочная артериальная гипертензия; ЛА — легочная артерия; МАП — межальвеолярная перегородка; ВПС — врожденный порок сердца; ССД — системная склеродермия; * — в отличие от предшествующих таблиц оценивалась интраэпителиальная экспрессия маркера.

Таблица 6

**ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРА COLLAGEN V В ЛЕГКИХ В НОРМЕ
И ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

Норма и типы ЛАГ с указанием числа случаев	Локализация окрашивания в клетках или структурах легочной ткани с полуколичественной оценкой в баллах			
	ЛА малого калибра	ЛА среднего и крупного калибров	МАП	Стенка брон- хов
Группа контроля (7)	2	3	3	2
Идиопатическая ЛАГ (8)	1	1	2	1
ЛАГ, связанная с ВПС (3)	1	1	2	1
ЛАГ, связанная с ССД (3)	1	1	1	1
Веноокклюзионная болезнь (1)	1	2	3	2–3

Примечание: ЛАГ — легочная артериальная гипертензия; ЛА — легочная артерия; МАП — межальвеолярная перегородка; ВПС — врожденный порок сердца; ССД — системная склеродермия.

и перибронхиально. Также отмечались нервные волокна среди очагов пневмофиброза. На 1 см² определялось $12,37 \pm 2,44$ нервных волокон диаметром $21,46 \pm 2,16$ мкм. Статистически значимой разницы в плотности расположения нервных волокон между группами контроля и ЛАГ не было выявлено ($p = 0,07$), однако определена тенденция к увеличению числа и плотности расположения нервных волокон в случаях ЛАГ. Также не было выявлено различий в содержании нервных волокон в легочной паренхиме при разных вариантах ЛАГ. Диаметр нервных волокон не различался в группах сравнения и ЛАГ ($p = 0,57$).

Таким образом, в исследованной нами группе пациентов с ЛАГ преобладали женщины среднего возраста. Непосредственной причиной смерти в большинстве случаев стали тромбоэмболия легочной артерии и прогрессия сердечной недостаточ-

ности. По данным гистологического исследования препаратов легких, преобладали продвинутые стадии легочной гипертензии. При ИГХИ экспрессия MMP9 была выше в группе ЛАГ, в то время как экспрессия остальных маркеров — filamin A, fibulin 5, collagen V, surfactant protein A — была снижена относительно группы сравнения. Также была выявлена тенденция к увеличению числа нервных волокон в легочной паренхиме у пациентов с ЛАГ, в отличие от группы сравнения.

Обсуждение

Для ЛАГ характерен половой диморфизм, заболевание намного чаще встречается у женщин, соотношение полов по данным различных исследований может достигать 4:1, по другим данным — до 70–80% пациентов с ЛАГ женского пола [9, 10]. При этом преобладание женщин отмечается при различ-

ных подтипах ЛАГ, включая идиопатическую ЛАГ, наследственную и ЛАГ, ассоциированную с ВПС, ССД и шистосомозом. Следует отметить, что у женщин чаще отмечается более благоприятное течение заболевания по сравнению с мужчинами. В нашей работе почти все пациенты с ЛАГ женского пола, но четко обозначить причины такого отличия от общемировой статистики представляется затруднительным.

Типичными патологическими изменениями, наблюдающимися при ЛАГ, являются гипертрофическое ремоделирование дистальных отделов легочной артерии, периваскулярное воспаление, тромбоз сосудов [11]. Также наблюдается процесс неоваскуляризации, приводящий к формированию таких патогномичных для заболевания изменений, как плексиформные структуры. Совокупность перечисленных признаков характерна для всех подтипов ЛАГ. В случаях развития веноокклюзионной болезни наблюдается ремоделирование венул и вен малого калибра за счет фиброза интимы и адвентиции, приводящее к закрытию просвета с последующей реканализацией [12]. Аналогичные изменения наблюдаются также в артериолах, но в меньшей степени. В нашем наблюдении у всех пациентов с ЛАГ отмечался полный спектр морфологических признаков заболевания в разной степени выраженности.

Матриксные металлопротеиназы, к которым относится MMP9, являются важным компонентом экстрацеллюлярного матрикса, к числу их ведущих функций относится деградация коллагена, фибронектина и различных протеогликанов для физиологических процессов ремоделирования и репарации [13]. MMP9 также влияет на миграцию и пролиферацию клеток гладких мышц сосудов и эндотелия [14]. Хотя роль матриксных металлопротеиназ в развитии различных патологических изменений в сосудах до конца не изучена, большинство исследователей подчеркивают их значимую роль в прогрессировании ЛАГ и формировании плексиформных изменений [15]. В работе К. Matsui и соавторов (2002) было показано, что различные типы металлопротеиназ экспрессируются в утолщенных стенках сосудов и плексиформных структурах, но экспрессия MMP9 была низкой относительно других металлопротеиназ. В рамках нашего исследования мы также отмечали невысокий уровень экспрессии белка в группах сравнения и ЛАГ. Следует отметить, что полученные нами данные о повышении уровня экспрессии MMP9 в группе ЛАГ соответствуют экспериментальным данным. В работах Х. Peng и соавторов (2014) и М. Žaloudíková и соавторов (2019) было показано повышение экспрессии MMP2 и MMP9 в стенках легочных артерий малого калибра у мы-

шей с ЛАГ, индуцированной монокроталином и гипоксией [16, 17].

В нашем исследовании было показано снижение экспрессии *filamin A* во всех структурах легочной паренхимы при ЛАГ. Но важно отметить, что ни в одном случае не было выявлено полного отсутствия экспрессии. *Filamin A* является белком цитоскелета, но весь спектр его функций в клетке до конца не изучен [18]. Известно, что *null*-мутации в гене белка приводят к нарушению миграции нейронов из перивентрикулярной зоны мозга в область коры, вызывая эпилептические припадки. Также в экспериментальных работах было показано, что у мышей отсутствие гена приводит к ранней эмбриональной летальности и формированию выраженных пороков развития сердечно-сосудистой системы [19]. Но если роль *filamin A* в нейрональной миграции активно изучается, то его специфическая функция в других клетках, в частности в артериальных миоцитах, слабо исследована. По литературным данным, при мутации в гене *filamin A* у человека могут наблюдаться такие пороки развития сердечно-сосудистой системы, как открытый артериальный проток, дилатация и аневризма корня аорты, диспластические изменения клапанов, фенотип, похожий на синдром Эллерса–Данло [20]. Следует отметить, что поражение легких, ассоциированное с нарушением работы гена белка, чаще всего представлено более высокой частотой развития пневмоний и дыхательной недостаточности, однако случаи развития ЛАГ крайне редки [21]. В описанных случаях ЛАГ чаще всего развивалась в ассоциации с ВПС, в большинстве случаев — при открытом артериальном протоке.

Нами продемонстрировано снижение экспрессии *fibulin 5* в стенках артерий различного калибра в группе ЛАГ, однако полной потери экспрессии не наблюдалось. *Fibulin 5* является одним из белков экстрацеллюлярного матрикса и крайне важен для формирования эластических волокон [22]. Мутации в гене, кодирующем белок, могут приводить к развитию синдрома дряблой кожи. Описаны единичные случаи пациентов с данным синдромом с развитием ЛАГ [23]. Следует отметить, что в экспериментальных работах на мышах отсутствие гена *fibulin 4* приводило к более значимым изменениям в эластическом каркасе сосудов с развитием аневризмы либо стеноза аорты, чем отсутствие гена *fibulin 5*, несмотря на аналогичные функции этих белков [24].

Surfactant protein A в основном экспрессируется в легких для поддержания поверхностного натяжения в альвеолах и участвует в системе местного врожденного иммунитета [25]. Также белок определяется во многих других внелегочных локализациях, включая стенку сосудов. В работе R. Rap и соавторов

(2021) было показано, что surfactant может участвовать в поддержании гомеостаза гладкомышечных клеток, увеличиваясь при механическом повреждении сосудистой стенки. В исследованных нами случаях отмечалось снижение уровня экспрессии surfactant в группе пациентов с ЛАГ. Вероятно, это могло быть связано с тем, что большинство из них умерло в результате острой тромбоэмболии. В работе С. Р. Liu и соавторов (2005) при исследовании содержания мРНК и белка surfactant protein A у экспериментальных животных с эмболией легочной артерии в течение периода наблюдения отмечалось снижение уровня белка и мРНК в ткани легких [26].

Collagen V играет важную роль в формировании фибриллярной коллагеновой сети и способствует формированию связей между стромальным коллагеном и базальной мембраной, обеспечивая тем самым сохранение и целостность сосудистой стенки [27]. В нашем исследовании продемонстрировано, что экспрессия collagen V в стенке легочных артерий у группы пациентов с ЛАГ снижена относительно группы контроля. Также следует подчеркнуть, что это наблюдалось у всех подтипов ЛАГ. Однако из литературных источников следует, что collagen V играет большую роль в патогенезе ССД, показано увеличение его экспрессии в стенке легочных артерий у больных и экспериментальных животных [28, 29].

В нашей работе во всех компонентах стенки легочных артерий у пациентов с ЛАГ отсутствовала экспрессия маркера пролиферации Ki67. По данным различных авторов, в эндотелии плексиформных структур и мышечной оболочке легочных артерий наблюдается повышенная пролиферативная активность клеток у пациентов с ЛАГ и у экспериментальных животных по сравнению с нормальными легкими [30]. В работе С. D. Cool и соавторов (1999) было показано существование двух субпопуляций эндотелиальных клеток: с низкой способностью к делению, выстилающих просветы плексиформных структур, и пролиферирующих клеток, занимающих центральную зону в образованных эндотелиальных слоях [31]. Следует отметить, что результаты исследований пролиферативной активности гладкомышечных клеток достаточно противоречивы. Хотя гиперплазия мышечного слоя легочных артерий считается одной из основных причин развития ЛАГ, ряд экспериментальных данных показывает, что пролиферация субпопуляций гладкомышечных клеток является временным явлением и наблюдается только в начале развития заболевания [32]. В то же время в исследованиях на животных разного возраста было продемонстрировано, что у новорожденных наблюдается более высокая способность к пролиферации

у клеток меди. Из этого следует, что отсутствие пролиферативной активности в стенке легочных артерий в нашем наблюдении может быть связано как с длительностью течения ЛАГ у пациентов, так и с их возрастом.

Также в нашем исследовании уделено внимание особенностям иннервации легочных артерий в паренхиме легких. Нами было показано, что у пациентов с ЛАГ выше плотность расположения нервных волокон в паренхиме легкого в сравнении с пациентами без ЛАГ. Известно, что легочные сосуды иннервируют ветви блуждающего нерва и шейного симпатического сплетения [33]. Нервные волокна распространяются по ходу артерий вплоть до респираторного ацинуса, локализуясь преимущественно в адвентиции сосудов. Также по данным различных авторов было показано, что у человека наблюдается симпатическая адренэргическая иннервация ветвей легочной артерии [34, 35]. При ЛАГ достаточно часто обнаруживается повышенная активация симпатической нервной системы, однако роль этого процесса в патогенезе заболевания до конца не изучена [36]. Предполагается, что это может оказаться новой терапевтической мишенью как для фармакологического лечения, так и для интервенционных технологий, например, для катетерной денервации легочной артерии.

В объеме нашего исследования часть полученных данных сопоставима с ранее известными сведениями. Но другая часть из них, например, снижение экспрессии collagen V, отсутствие пролиферативной активности клеток в сосудистых стенках, противоречат литературным данным. Возможно, это связано с тем, что исследования проводились в эксперименте на животных. Кроме того, мы анализировали изменения в терминальной стадии ЛАГ.

Следует подчеркнуть, что наше пилотное исследование пациентов с разными группами ЛАГ показало однотипное изменение профиля экспрессии белков экстрацеллюлярного матрикса в легочных артериях и увеличение содержания нервных волокон в легочной паренхиме, что требует дальнейшего углубленного изучения на большей выборке пациентов.

Ограничения исследования

Выборка больных насчитывает всего 16 случаев из разных групп легочной артериальной гипертензии в терминальной стадии.

Выводы

ИГХИ легких пациентов с терминальной стадией ЛАГ показало повышение экспрессии MMP9 и тенденцию к увеличению числа нервных волокон по сравнению с группой пациентов без ЛАГ, тогда как

экспрессия filamin A, fibulin 5, collagen V, surfactant protein A в легочных артериях была снижена. Дальнейшее изучение маркеров экстрацеллюлярного матрикса и особенностей иннервации легких при ЛАГ у людей будет способствовать поиску таргетных препаратов и привлечению интервенционных технологий для лечения заболевания.

Финансирование / Funding

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, договор № 075–15–2020–800. / The work was supported by a grant from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Contract No. 075–15–2020–800.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Thenappan T, Ormiston ML, Ryan JJ, Archer SL. Pulmonary arterial hypertension: pathogenesis and clinical management. *Br Med J*. 2018;360: j5492. doi:10.1136/bmj.j5492
2. Thenappan T, Chan SY, Weir EK. Role of extracellular matrix in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2018;315(5):H1322–H1331. doi:10.1152/ajpheart.00136.2018
3. Chelladurai P, Seeger W, Pullamsetti SS. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in pulmonary hypertension. *Eur Resp J*. 2012;40(3):766–782. doi:10.1183/09031936.00209911
4. Hoffmann J, Marsh LM, Pieper M, Stacher E, Ghanim B, Kovacs G et al. Compartment-specific expression of collagens and their processing enzymes in intrapulmonary arteries of IPAH patients. *Am J of Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2015;308(10):L1002–L1013. doi:10.1152/ajplung.00383.2014
5. Todorovich-Hunter L, Johnson DJ, Ranger P, Keeley FW, Rabinovitch M. Altered elastin and collagen synthesis associated with progressive pulmonary hypertension induced by monocrotaline. A biochemical and ultrastructural study. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1988;58(2):184–195.
6. Rabinovitch M. Pathobiology of pulmonary hypertension: extracellular matrix. *Clin Chest Med*. 2001;22(3):433–449. doi:10.1016/s0272-5231(05)70282-3
7. Heath D, Edwards JE. The pathology of hypertensive pulmonary vascular disease. A description of six grades of structural changes in the pulmonary arteries with special reference to congenital cardiac septal defects. *Circulation*. 1958;18(4Part1):533–547.
8. Wagenvoort CA, Wagenvoort N. Pathology of pulmonary hypertension. New York: John Wiley & Sons, 1977.
9. Kostyunina DS, McLoughlin P. Sex dimorphism in pulmonary hypertension: the role of the sex chromosomes. *Antioxidants*. 2021;10(5):779. doi:10.3390/antiox10050779
10. Docherty CK, Harvey KY, Mair KM, Griffin S, Denver N, MacLean MR. The role of sex in the pathophysiology of pulmonary hypertension. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1065:511–528. doi:10.1007/978-3-319-77932-4_31
11. Leopold JA, Maron BA. Molecular mechanisms of pulmonary vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension. *Int J Mol Sci*. 2016;17(5):761. doi:10.3390/ijms17050761
12. Balko R, Edriss H, Nugent K, Test V. Pulmonary veno-occlusive disease: an important consideration in patients with pulmonary hypertension. *Respir Med*. 2017;132:203–209. doi:10.1016/j.rmed.2017.10.015
13. Ohbayashi H. Matrix metalloproteinases in lung diseases. *Curr Protein Pept Sci*. 2002;3(4):409–421. doi:10.2174/1389203023380549
14. George J, D'Armiento J. Transgenic expression of human matrix metalloproteinase-9 augments monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in mice. *J Hypertens*. 2011;29(2):299. doi:10.1097/HJH.0b013e328340a0e4
15. Matsui K, Takano Y, Yu ZX, Hi JE, Stetler-Stevenson WG, Travis WD et al. Immunohistochemical study of endothelin-1 and matrix metalloproteinases in plexogenic pulmonary arteriopathy. *Pathol Res Pract*. 2002;198(6):403–412. doi:10.1078/0344-0338-00273
16. Peng X, Li HX, Shao HJ, Li GW, Sun J, Xi YH et al. Involvement of calcium-sensing receptors in hypoxia-induced vascular remodeling and pulmonary hypertension by promoting phenotypic modulation of small pulmonary arteries. *Mol Cell Biochem*. 2014;396(1–2):87–98. doi:10.1007/s11010-014-2145-9
17. Žaloudíková M, Eckhardt A, Vytásek R, Uhlík J, Novotný T, Bačáková L et al. Decreased collagen VI in the tunica media of pulmonary vessels during exposure to hypoxia: a novel step in pulmonary arterial remodeling. *Pulm Circ*. 2019;9(3):2045894019860747. doi:10.1177/2045894019860747
18. Retailleau K, Arhatte M, Demolombe S, Peyronnet R, Baudrie V, Jodar M et al. Arterial myogenic activation through smooth muscle filamin A. *Cell Rep*. 2016;14(9):2050–2058. doi:10.1016/j.celrep.2016.02.019
19. Feng Y, Chen MH, Moskowitz IP, Mendonza AM, Vidali L, Nakamura F et al. Filamin A (FLNA) is required for cell-cell contact in vascular development and cardiac morphogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(52):19836–19841. doi:10.1073/pnas.0609628104
20. Eltahir S, Ahmad KS, Al-Balawi MM, Bukhamsien H, Al-Mobaireek K, Alotaibi W et al. Lung disease associated with filamin A gene mutation: a case report. *J Med Case Rep*. 2016;10(1):1–5. doi:10.1186/s13256-016-0871-1
21. Deng X, Li S, Qiu Q, Jin B, Yan M, Hu Y et al. Where the congenital heart disease meets the pulmonary arterial hypertension, FLNA matters: a case report and literature review. *BMC Pediatr*. 2020;20(1):1–5. doi:10.1186/s12887-020-02393-2
22. Papke CL, Yanagisawa H. Fibulin-4 and fibulin-5 in elastogenesis and beyond: Insights from mouse and human studies. *Matrix Biol*. 2014;37:142–149. doi:10.1016/j.matbio.2014.02.004
23. Brunetti-Pierri N, Piccolo P, Morava E, Wevers RA, McGuirk M, Johnson YR et al. Cutis laxa and fatal pulmonary hypertension: a newly recognized syndrome? *Clin Dysmorphol*. 2011;20(2):77–81. doi:10.1097/MCD.0b013e3283439676
24. Brunetti-Pierri N, Piccolo P, Morava E, Wevers RA, McGuirk M, Johnson YR et al. Characterization of a distinct lethal arteriopathy syndrome in twenty-two infants associated with an identical, novel mutation in FBLN4 gene, confirms fibulin-4 as a critical determinant of human vascular elastogenesis. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7:61. doi:10.1186/1750-1172-7-61
25. Ran R, Cai D, King SD, Que X, Bath JM, Chen SY. Surfactant protein A, a novel regulator for smooth muscle phenotypic modulation and vascular remodeling — brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2021;41(2):808–814. doi:10.1161/ATVBAHA.120.314622
26. Liu CP, Zhang YJ, Lu WX, Ji YQ, Zhang WH, Wang C. The change of pulmonary surfactant associated protein A in acute pulmonary embolism. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2005;28(9):600–603.
27. Parra ER, Teodoro WR, Velosa AP, de Oliveira CC, Yoshinari NH, Capelozzi VL. Interstitial and vascular type

V collagen morphologic disorganization in usual interstitial pneumonia. *J Histochem Cytochem.* 2006;54(12):1315–1325. doi:10.1369/jhc.6A6969.2006

28. Marangoni RG, Korman BD, Parra ER, Velosa APP, Barbeiro HV, Martins V et al. Pathological pulmonary vascular remodeling is induced by type V collagen in a model of scleroderma. *Pathology-Research and Practice.* 2021;220:153382. doi:10.1016/j.prp.2021.153382

29. Parra ER, Teodoro WR, de Moraes J, Katayama ML, de Souza R, Yoshinari NH et al. Increased mRNA expression of collagen V gene in pulmonary fibrosis of systemic sclerosis. *Eur J Clin Invest.* 2010;40(2):110–120. doi:10.1111/j.1365-2362.2009.02224.x

30. Cool CD, Kennedy D, Voelkel NF, Tudor RM. Pathogenesis and evolution of plexiform lesions in pulmonary hypertension associated with scleroderma and human immunodeficiency virus infection. *Hum Pathol.* 1997;28(4):434–442. doi:10.1016/s0046-8177(97)90032-0

31. Cool CD, Stewart JS, Werahera P, Miller GJ, Williams RL, Voelkel NF et al. Three-dimensional reconstruction of pulmonary arteries in plexiform pulmonary hypertension using cell-specific markers: evidence for a dynamic and heterogeneous process of pulmonary endothelial cell growth. *Am J Pathol.* 1999;155(2):411–419. doi:10.1016/S0002-9440(10)65137-1

32. Stenmark KR, Frid MG, Graham BB, Tudor RM. Dynamic and diverse changes in the functional properties of vascular smooth muscle cells in pulmonary hypertension. *Cardiovasc Res.* 2018;114(4):551–564. doi:10.1093/cvr/cvy004

33. Townsley MI. Structure and composition of pulmonary arteries, capillaries and veins. *Compr Physiol.* 2012;2(1):675–709. doi:10.1002/cphy.c100081

34. Allen KM, Wharton J, Polak JM, Haworth SG. A study of nerves containing peptides in the pulmonary vasculature of healthy infants and children and of those with pulmonary hypertension. *Heart.* 1989;62(5):353–360. doi:10.1136/hrt.62.5.353

35. Sheppard MN, Polak JM, Allen JM, Bloom SR. Neuropeptide tyrosine (NPY): a newly discovered peptide is present in the mammalian respiratory tract. *Thorax.* 1984;39(5):326–330. doi:10.1136/thx.39.5.326

36. Vaillancourt M, Chia P, Sarji S, Nguyen J, Hoftman N, Ruffenach G et al. Autonomic nervous system involvement in pulmonary arterial hypertension. *Respir Res.* 2017;18(1):201. doi:10.1186/s12931-017-0679-6

Информация об авторах

Кошевая Елена Григорьевна — очный аспирант 2-го года обучения Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, ORCID: 0000-0002-9656-1704;

Данилова Ирина Анатольевна — доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова», ORCID: 0000-0003-0865-5936;

Сидорин Василий Сергеевич — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории патоморфологии нервной системы ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, ORCID: 0000-0002-1739-2480;

Моисеева Ольга Михайловна — доктор медицинских наук, руководитель и главный научный сотрудник отдела некоронарогенных заболеваний сердца ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, ORCID: 0000-0002-7817-3847;

Митрофанова Любовь Борисовна — доктор медицинских наук, главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории патоморфологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, ORCID: 0000-0003-0735-7822.

Author information

Elena G. Koshevaya, MD, Fulltime 2nd-year Postgraduate Student, Institute of Medical Education, Almazov National Medical Research Centre, ORCID: 0000-0002-9656-1704;

Irina A. Danilova, MD, PhD, DSc, Professor, Department of Pathological Anatomy, Almazov National Medical Research Centre, ORCID: 0000-0003-0865-5936;

Vasily S. Sidorin, MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Research Institute of Pathomorphology of the Nervous System, Almazov National Medical Research Centre, ORCID: 0000-0002-1739-2480;

Olga M. Moiseeva, MD, PhD, DSc, Head and Chief Researcher, Department of Non-Coronary Heart Diseases, Almazov National Medical Research Centre, ORCID: 0000-0002-7817-3847;

Lyubov B. Mitrofanova, MD, PhD, DSc, Chief Researcher, Institute of Pathomorphology, Almazov National Medical Research Centre, ORCID: 0000-0003-0735-7822.