

М.Г. Шурыгин, И.А. Шурыгина, Н.Н. Дремина

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ ЦИТОЛИЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

ГУ НЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)

На модели экспериментального инфаркта миокарда изучено влияние фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) на уровень креатинфосфокиназы и α -гидроксибутиратдегидрогеназы. Выявлено, что VEGF не влияет на выраженность цитолиза при экспериментальном инфаркте миокарда.

Ключевые слова: цитолиз, инфаркт миокарда

THE INFLUENCE OF VESSELS ENDOTHELIUM GROWTH FACTOR ON THE CYTOLYSIS INTENSITY AT EXPERIMENTAL CARDIAC INFARCTION

M.G. Shurigin, I.A. Shurigina, N.N. Dremina

Scientific Center Reconstructive and Restorative Surgery ESSC SB RAMS, Irkutsk

Basing on the model of experimental of cardiac infarction the influence of vessels endothelium growth factor (VEGF) on the level of creatine phosphokinase and α -hydroxybutyrate dehydrogenase was studied. It was revealed, that VEGF does not influence on the cytolysis intensity at experimental cardiac infarction.

Key words: cytolysis, cardiac infarction

Большую роль в регуляции процессов клеточной дифференциации и пролиферации играют так называемые «факторы роста», важнейшими из которых признаются фактор роста эндотелия (VEGF) и фактор роста фибробластов. Впервые VEGF был описан в 1983 г. в качестве фактора сосудистой проницаемости, который, как было показано впоследствии, проявляет митогенную активность в отношении эндотелиальных клеток и стимулирует ангиогенез [10]. К числу клеток-продуцентов VEGF относятся макрофаги, эпителиальные клетки легких и почек, мышечные клетки и др., однако, как правило, этот фактор не секретируется самими клетками эндотелия [6].

Основным физиологическим эффектом этого белка является митогенный эффект на клетки эндотелия сосудов [2, 8, 9]. Кроме этого в физиологических концентрациях VEGF действует как фактор выживания эндотелия, в то время как при отсутствии или недостатке VEGF эндотелиальные клетки могут подвергаться апоптозу.

При изучении роли VEGF в патогенезе ИБС исследователи основное внимание сконцентрировали на его способности инициировать неоангиогенез в миокарде [3, 4, 7], в то же время в доступной литературе нами не найдено сведений о влиянии данного фактора роста на выраженность цитолиза при остром инфаркте миокарда.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния VEGF на выраженность и динамику цитолиза при экспериментальном инфаркте миокарда.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведен хронический эксперимент на 165 самках крыс линии Wistar весом 220 – 250 г в воз-

расте 9 мес. (эксперимент выполнен на базе отдела экспериментальной хирургии с виварием ГУ НЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН г. Иркутск). Исследования выполнялись в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, которые регламентированы «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Инфаркт миокарда моделировали методом диатермокоагуляции межжелудочковой артерии крысы. В качестве наркоза внутривенно вводили комбинацию в составе: кетамин из расчета 50 мг на кг веса, дроперидол – 0,5 мг на кг веса, атропин – 0,15 мг на кг. Исследования у животных контрольной группы проводили при течении инфаркта миокарда без изменения естественного уровня факторов роста. В группе «VEGF» внутрисердечно в полость левого желудочка вводили VEGF (Sigma F0291 Lot 124K0797) в дозе 100 нг (объем инъекции 0,1 мл) однократно через 1,5 ч после операции, а в сроки 6 ч и 1 сутки производилось введение физиологического раствора (0,85% раствор NaCl); группе «anti-VEGF» внутрисердечно вводили моноклональные антитела к фактору роста эндотелия сосудов (Sigma F6162 Lot 025K4835) в дозе 1 мкг трехкратно через 1,5, 6 часов и 1 сутки. В контрольной группе и группе ложнопериорированных животных в сроки 1,5, 6 часов и 1 сутки производили внутрисердечную инъекцию 0,1 мл 0,85% раствора NaCl.

Животных выводили из эксперимента через 2 ч, 6 ч, 12 ч, 1, 3, 7, 14 и 30 суток после операции.

В сыворотке животных определяли активность креатинфосфокиназы (КФК) с помощью тест-набора фирмы «Biocon Diagnostik» (Германия) и α -

гидроксibuтиратдегидрогеназы (ГБДГ) с помощью тест-набора фирмы «Согтау» (Польша). В качестве средства измерения использовали полуавтоматический биохимический анализатор Roki («Olvex Diagnosticum»).

В работе применялся вариационный (ANOVA/MANOVA) анализ [1, 5]. Критический уровень значимости критериев принимался равным 0,05. Анализ данных проводился с использованием статистического пакета R (R project, r project.org).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках эксперимента для определения степени повреждения миокарда в динамике определена активность кардиоспецифических ферментов, таких как КФК и ГБДГ, в сыворотке крови экспериментальных животных.

При исследовании динамики уровня ферментов в группе ложнооперированных животных было отмечено повышение активности как КФК, так и ГБДГ с максимумом уже через 2 часа после операции с последующим их снижением (рис. 1, 2).

Подобная динамика согласуется с общепринятым мнением, что повышение уровня данных ферментов происходит в ответ на любое повреждение мышечной ткани.

В дальнейшем при исследовании уровня ферментов ГБДГ и КФК в эксперименте показатели группы ложнооперированных животных были взяты в качестве базового уровня при сравнении остальных групп на определенных сроках.

В ходе исследования цитолитических ферментов в контрольной группе животных нами

было отмечено резкое увеличение уровня ГБДГ и КФК уже через 2 часа с максимальными значениями через 6 часов после операции. При этом уровень ГБДГ через 2 часа превышал в 2,4 раза показатели у группы ложнооперированных животных, в то время как КФК — в 6,5 раз ($p < 0,05$), а через 6 часов активность ферментов превысила аналогичные показатели у ложнооперированных животных в 3 и 10 раз соответственно ($p < 0,05$).

На последующих сроках наблюдалось снижение активности обоих ферментов, однако гиперферментемия ГБДГ сохранялась до конца срока наблюдения, достоверно превышая показатели у группы ложнооперированных животных в сроки 2, 6, 12 часов, 1, 7 и 30 суток. Уровень КФК достоверно превышал показатели уровня группы ложнооперированных животных в сроки 2, 6, 12 часов, 1, 7 суток (рис. 1, 2).

У животных, которым вводили VEGF внутрисердечно, динамика ГБДГ была аналогичной группе контроля (рис. 3), достоверных отличий выявлено не было.

В группе животных с подавлением эндогенного VEGF в начальные сроки после моделирования ИМ (2, 6, 12 часов) динамика ГБДГ была сходной с группой контроля, однако уже через 24 часа после операции отмечалось достоверное снижение уровня фермента по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) (рис. 3).

В ходе исследования кардиоспецифического фермента КФК в группе VEGF отмечается динамика, схожая с динамикой контрольной группы животных. Со 2 часа после оперативного вмеша-

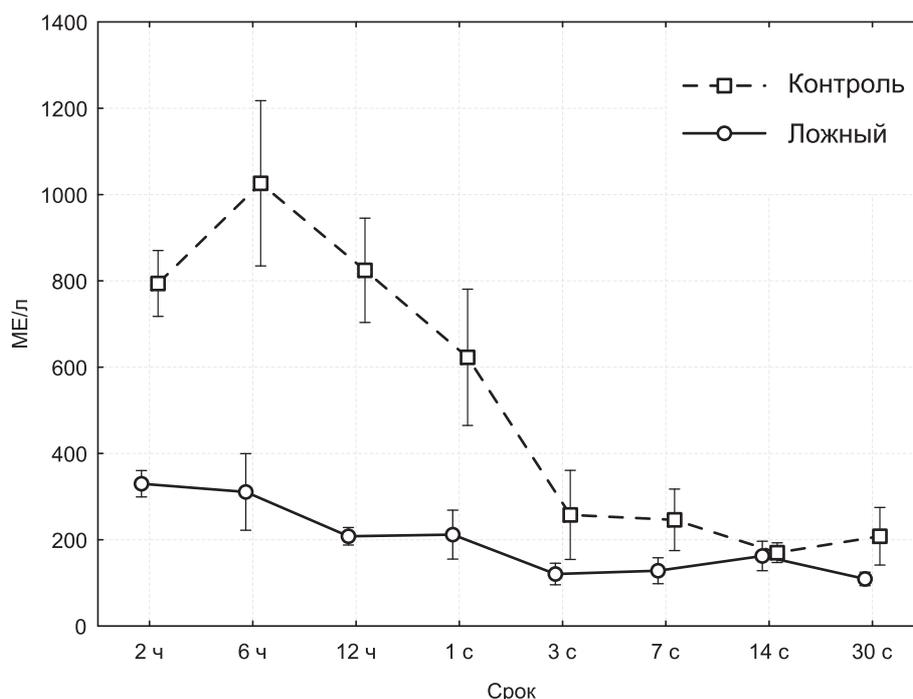


Рис. 1. Динамика уровня ГБДГ в контрольной группе и у животных с ложной операцией.

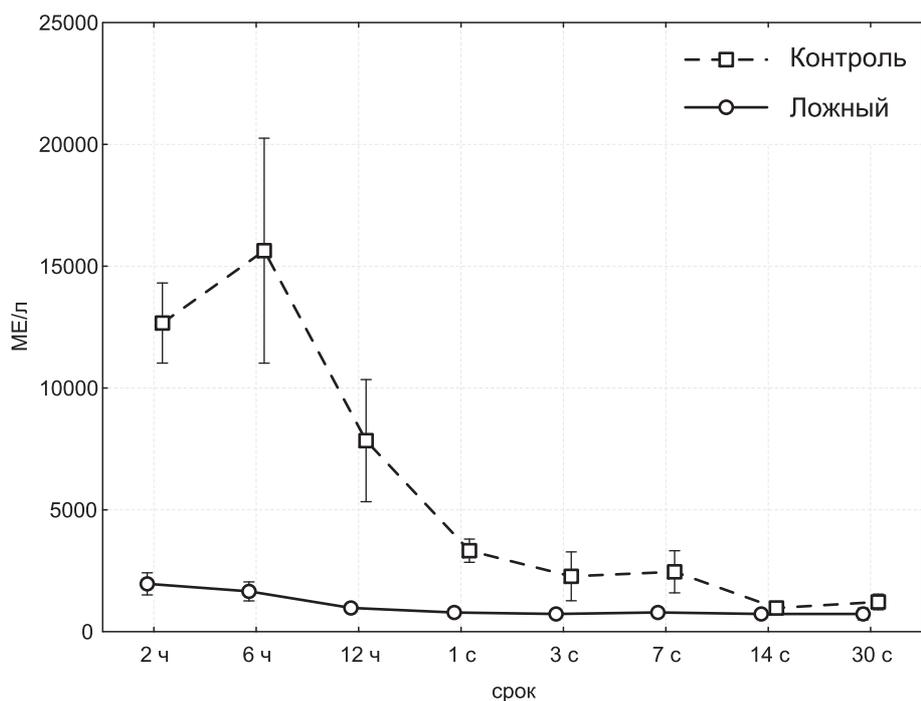


Рис. 2. Динамика уровня КФК в контрольной группе и у животных с ложной операцией.

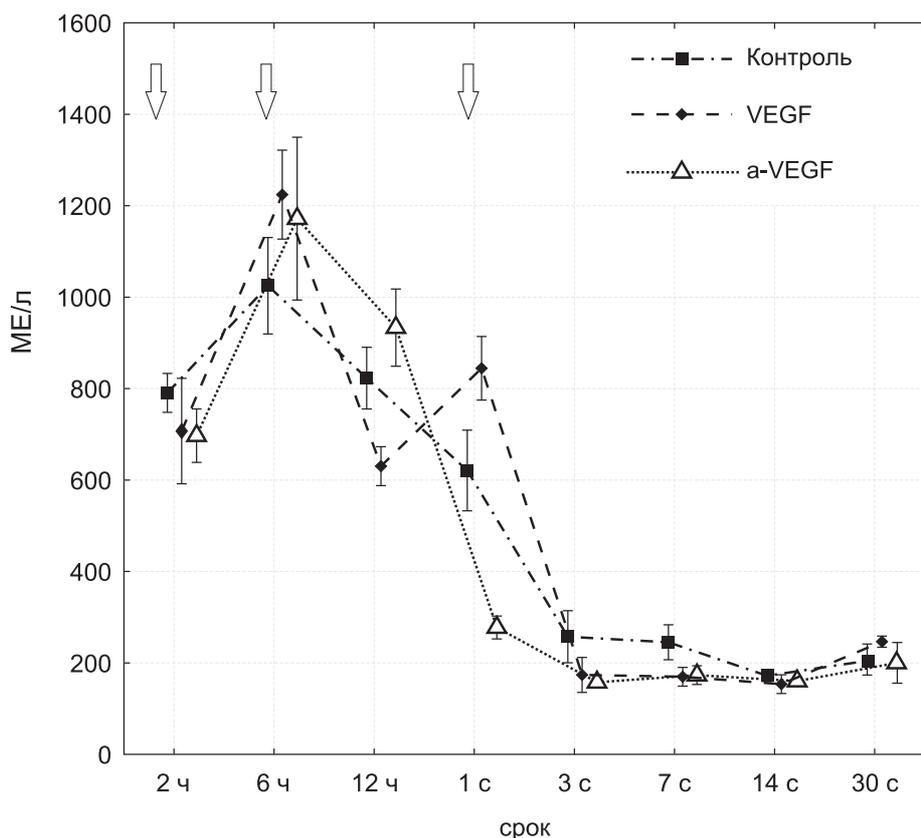


Рис. 3. Динамика уровня ГБДГ в сыворотке крови экспериментальных животных.

тельства нами наблюдалось значительное увеличение уровня КФК с максимальной активностью через 6 часов после моделирования ИМ. На последующих сроках отмечалось резкое снижение уровня гиперферментемии. В группе животных с

преднамеренным подавлением активности собственного фактора роста эндотелия сосудов динамика гиперферментемии КФК была сглажена и растягнута во времени по сравнению с группой контроля (рис. 4).

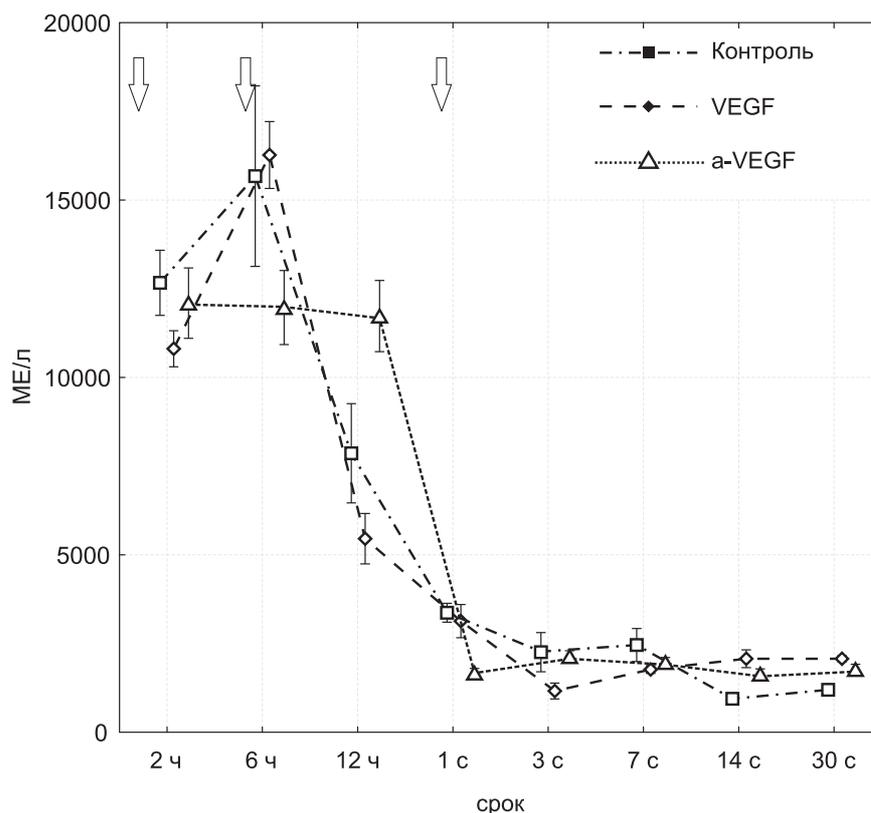


Рис. 4. Динамика уровня КФК в сыворотке крови экспериментальных животных.

Таким образом, в группе ложнооперированных животных активность цитолитических ферментов была незначительной в ответ на повреждение при операции, в остальных группах отмечено многократное повышение уровня цитоплазматических ферментов ГБДГ и КФК в сыворотке крови экспериментальных животных. При этом концентрация VEGF не влияла на выраженность цитолиза при экспериментальном инфаркте миокарда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
2. Adeno-associated virus-mediated transduction of VEGF165 improves cardiac tissue viability and functional recovery after permanent coronary occlusion in conscious dogs / M. Ferrarini, N. Arsic, F.A. Recchia et al. // *Circ. Res.* — 2006. — Vol. 98, N 7. — P. 954–961.
3. A promising strategy for the treatment of ischemic heart disease: Mesenchymal stem cell-mediated vascular endothelial growth factor gene transfer in rats / F. Gao, T. He, H. Wang et al. // *Can. J. Cardiol.* — 2007. — Vol. 23, N 11. — P. 891–898.
4. Injection of adeno-associated viral vector encoding vascular endothelial growth factor gene in infarcted swine myocardium: MR measurements of left ventricular function and strain / A. Jacquier, C.B. Higgins, A.J. Martin et al. // *Radiology.* — 2007. — Vol. 245, N 1. — P. 196–205.
5. Glantz S.A. Primer of applied regression and analysis of variance / S.A. Glantz, B.K. Slinker. — N.Y.: McGraw-Hill / Appleton & Lange, 2000. — 949 p.
6. Placenta growth factor: identification and characterization of a novel isoform generated by RNA alternative splicing / Y. Cao, W.-R. Ji, P. Qi et al. // *Biophys. Res. Commun.* — 1997. — Vol. 27, N 3. — P. 493–498.
7. Rissanen T.T. Current status of cardiovascular gene therapy / T.T. Rissanen, S. Yla-Herttuala // *Mol. Ther.* — 2007. — Vol. 15. — P. 1233–1247.
8. The vascular endothelial growth factor expression and vascular regeneration in infarcted myocardium by skeletal muscle satellite cells / J.H. Xia, A.N. Xie, K.L. Zhang et al. // *Chin. Med. J. (Engl.)*. — 2006. — Vol. 119, N 2. — P. 117–121.
9. Vascular endothelial growth factor induces EDRF-dependent relaxation in coronary arteries / D.D. Ku, J.K. Zaleski, S. Litu, T.A. Brock // *Am. J. Physiol.* — 1993. — Vol. 265. — P. 586–592.
10. Vascular permeability factor/endothelial growth factor (VPF/VEGF): accumulation and expression in human synovial fluids and rheumatoid synovial tissue / R.A. Fava, N.J. Olsen, G. Spencer-Green et al. // *Ibid.* — 1994. — Vol. 180. — P. 341–346.