

АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ И ГИПЕРТРОФИЯ МИОКАРДА В ДИНАМИКЕ ВАЗОРЕНАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

¹Кафедра биологии и общей генетики медицинского факультета

ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов»,

Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8, тел. (495) 4345288. E-mail: azovam@mail.ru;

²кафедра общей патологии и патологической физиологии медицинского факультета

ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов»,

Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8

Исследованы интенсивность апоптоза кардиомиоцитов и степень гипертрофии миокарда желудочков сердца у кроликов с вазоренальной артериальной гипертензией. Обнаружено, что индекс апоптоза в обоих желудочках сердца статистически значимо повышается по сравнению с контролем через 1 неделю после моделирования артериальной гипертензии и в левом желудочке продолжает увеличиваться вплоть до 4 недель, в то время как в правом желудочке выходит на плато. Вазоренальная артериальная гипертензия также сопровождается активацией гипертрофических процессов в миокарде. Возможно, как гипертензия, так и гипертрофия миокарда вносят определенный вклад в индукцию программированной гибели кардиомиоцитов в левом желудочке сердца.

Ключевые слова: апоптоз, кардиомиоциты, гипертрофия, артериальная гипертензия.

M. M. AZOVA¹, M. L. BLAGONRAVOV², V. A. FROLOV², O. B. GIGANI¹, O. O. GIGANI¹

CARDIOMYOCYTE APOPTOSIS AND MYOCARDIAL HYPERTROPHY IN THE DYNAMICS OF VASORENAL HYPERTENSION

¹Department of biology and general genetics, medical faculty of Peoples' Friendship University of Russia,
Russia, 117198, Moscow, Miklukho-Maklaya str., 8, tel. (495) 4345288. E-mail: azovam@mail.ru;

²department of general pathology and pathological physiology, medical faculty
of Peoples' Friendship University of Russia,

Russia, 117198, Moscow, Miklukho-Maklaya str., 8

The rates of cardiomyocyte apoptosis and myocardial hypertrophy were evaluated in rabbits with vasorenal hypertension. It was found that apoptotic index significantly increased in both ventricles at 1 week after hypertension onset and kept increasing till the 4-th week in left ventricle, but stabilized in the right ventricle. Vasorenal hypertension was also accompanied by activation of hypertrophic processes in the myocardium. It is possible that both hypertension and myocardial hypertrophy contribute to the induction of programmed death of left ventricular cardiomyocytes.

Key words: apoptosis, cardiomyocytes, hypertrophy, hypertension.

Введение

В последние годы существенно возрос интерес исследователей к проблеме апоптотической гибели клеток и механизмам, регулирующим данное явление. Известно, что апоптоз является генетически детерминированным процессом, необходимым для элиминации выполнивших свое предназначение, а также структурно или функционально неполноценных клеток. Однако его избыточная активация или, напротив, подавление может стать причиной возникновения и развития различных патологических процессов [6]. Так, усиление апоптоза кардиомиоцитов (КМЦ) вносит значительный вклад в формирование хронической сердечной недостаточности [4]. Одним из видов патологии сердечно-сосудистой системы, способствующих активации апоптотических процессов в миокарде, является артериальная гипертензия (АГ). Вероятно, индукторами в данном случае выступают хроническая перегрузка левого желудочка сердца, различные гуморальные факторы, в том числе ангиотензин II и эндотелин-1, а также развивающаяся при АГ гипертрофия миокарда [7]. Известно, что влияние ростовых стимулов на КМЦ неоднозначно и с участием некоторых сигнальных

путей они способны индуцировать программированную клеточную гибель [5]. Однако, несмотря на исследования, проводимые в данной области, многие аспекты, касающиеся реализации и регуляции апоптоза клеток миокарда, остаются не до конца изученными.

Целью данной работы явилось исследование интенсивности апоптотической гибели кардиомиоцитов и степени гипертрофии миокарда правого и левого желудочков сердца в динамике вазоренальной артериальной гипертензии.

Материалы и методы

Эксперименты проводились на 12 самцах кроликов породы шиншилла массой 2,4–2,7 кг. Животные были разделены на 4 группы – 1 контрольную и 3 опытные: животные с одно-, двух- и четырехнедельной АГ соответственно. У кроликов опытных групп моделировали вазоренальную АГ по Голдблатт путем сужения брюшной аорты на 1/3 от исходного диаметра над местом отхождения от нее почечных артерий [8]. В указанные выше сроки исследования животным вскрывали грудную клетку и производили экстирпацию сердца. Аналогичным образом получали материал у интактных

кроликов контрольной группы. Все описанные манипуляции осуществлялись под общим обезболиванием. Содержание животных и работа с ними проводились в соответствии с приказом Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г.

Образцы миокарда левого (ЛЖ) и правого (ПЖ) желудочков фиксировали в течение 72 часов в 10%-ном нейтральном забуференном формалине. Далее проводили обработку материала и заливку в парафин по общепринятой методике.

Иммуногистохимическое исследование. Гистологические срезы толщиной 5 мкм наносили на стекла с поли-L-лизинным покрытием. Апоптоз кардиомиоцитов оценивали по интенсивности фрагментации ДНК в ядрах, определяемой методом TUNEL (Terminaldeoxynucleotidyltransferase-mediated dUTP nick-end labeling) с использованием набора реактивов «Apo-Brd U-INC In Situ DNA Fragmentation Assay Kit» («BioVision», США). Препараты докрашивали гематоксилином. Реакция считалась положительной при появлении коричневой окраски в ядрах кардиомиоцитов. Анализировали 20 полей зрения в каждом препарате. Количественную оценку интенсивности апоптоза выполняли, определяя индекс апоптоза, представляющий собой отношение числа TUNEL-позитивных ядер к общему количеству ядер кардиомиоцитов в поле зрения.

Гистологическое исследование. Срезы миокарда толщиной 5–7 мкм окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином. Анализировали 15 полей зрения в каждом препарате и с помощью сетки Автандилова определяли содержание ядер и миофибрилл. Затем на основании полученных данных вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО), отражающее степень гипертрофии миокарда.

Исследования проводились на оборудовании Центра коллективного пользования (НОЦ) РУДН и кафедры общей патологии и патологической физиологии медицинского факультета РУДН.

Статистические расчеты осуществлялись с использованием программы «STATISTICA 6.0» («StatSoftInc»,

США), для оценки достоверности различий изучаемых выборок применялся t-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 представлены результаты оценки фрагментации ДНК в КМЦ интактных кроликов и животных с 1-, 2- и 4-недельной АГ.

Полученные данные демонстрируют статистически значимое повышение интенсивности апоптотической гибели клеток миокарда ЛЖ уже через неделю после моделирования АГ. Более того, индекс апоптоза продолжает увеличиваться вплоть до 4 недель, причем показатель достоверно отличается на всех сроках исследования ($p \leq 0,05$). В ПЖ индекс апоптоза у кроликов с 1-недельной АГ возрастает еще более существенно, нежели в ЛЖ, но остается на том же уровне на остальных сроках исследования с выраженной тенденцией к увеличению через 4 недели после моделирования АГ. Результаты эксперимента позволяют говорить о том, что АГ почечного генеза стимулирует апоптоз кардиомиоцитов в обоих желудочках, причем в ПЖ на начальных стадиях процесса активация апоптоза происходит более стремительно, чем в ЛЖ. Проведенное нами ранее в тех же группах животных исследование активности каспазы 3, являющейся одним из проапоптотических ферментов, показало достоверное ее повышение в ЛЖ к 4-недельному, а в ПЖ – к 2-недельному сроку, что также подтверждает предположение о раннем вовлечении ПЖ в патологический процесс [2, 3]. Кроме того, сравнение результатов, полученных в представленной работе и предыдущих исследованиях, дает возможность полагать, что в реализации программированной гибели КМЦ при вазоренальной АГ существенную роль играют некаспазные механизмы, активирующиеся раньше каспазного каскада.

При АГ почечного генеза на клетки миокарда действует комплекс апоптогенных стимулов. Ишемия почек сопровождается активацией ренин-ангиотензиновой системы, что приводит к увеличению выработки ангиотензина II, который, как известно, наряду с

Таблица 1

Индекс апоптоза кардиомиоцитов в желудочках сердца кроликов, % ($M \pm m$)

	Контроль	1 неделя	2 недели	4 недели
Левый желудочек	4,74±0,46	7,84±0,76*	14,36±1,27*	31,97±1,04*
Правый желудочек	2,17±0,53	8,33±0,85*	7,31±0,60*	11,15±1,08*

Примечание: * – показатель достоверно отличается от контроля при $p \leq 0,05$.

Таблица 2

Ядерно-цитоплазматическое отношение в кардиомиоцитах желудочков сердца кроликов ($M \pm m$)

	Контроль	1 неделя	2 недели	4 недели
Левый желудочек	0,15±0,01	0,12±0,01*	0,09±0,01*	0,09±0,01*
Правый желудочек	0,15±0,01	0,15±0,01	0,12±0,01*	0,10±0,01*

Примечание: * – показатель достоверно отличается от контроля при $p \leq 0,05$.

выраженным прессорным эффектом обладает способностью индуцировать апоптоз КМЦ [10]. Также индукторами программированной гибели клеток миокарда могут выступать механический стресс, вызванный хронической перегрузкой левого желудочка сердца, и энергодефицит, обусловленный возрастанием потребления клетками АТФ вследствие увеличившейся нагрузки на сердечную мышцу и развивающейся гипертрофии миокарда [1, 7]. Гипертрофические процессы в сердце имеют мультифакториальную природу и инициируются перегрузкой миокарда, а также ангиотензином II, оказывающим на КМЦ как прямое ростовое действие, так и опосредованное через стимуляцию секреции эндотелина-1 [5]. В данной работе нами было определено ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) в КМЦ в динамике вазоренальной АГ, отражающее степень гипертрофии миокарда (табл. 2).

В ЛЖ уже через неделю после моделирования АГ статистически значимо по сравнению с контролем снижается ЯЦО, что указывает на наличие гипертрофии, к 2-недельному сроку данный показатель достигает минимума и выходит на плато. В ПЖ гипертрофические процессы инициируются позже, и ЯЦО достоверно снижается у кроликов с 2-недельной АГ. У животных с 4-недельной АГ в ПЖ ЯЦО статистически значимо не отличается от показателя на предыдущем сроке исследования, хотя и наблюдается тенденция к его снижению. Из полученных результатов следует, что при вазоренальной АГ гипертрофия представляет собой реакцию миокарда на хроническую перегрузку, обусловленную повышением артериального давления. В этом существенное отличие данной экспериментальной модели от спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR, у которых гипертрофия миокарда является наследуемым независимо от уровня артериального давления генетически детерминированным признаком [9]. Сравнение динамики интенсивности апоптоза КМЦ и степени гипертрофии миокарда позволяет предполагать, что развивающаяся гипертрофия может вносить вклад в индукцию апоптотических процессов в ЛЖ, но не оказывает значимого влияния на программированную гибель клеток миокарда ПЖ, т. к. усиление

программированной гибели КМЦ в ПЖ предшествует формированию гипертрофии.

Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азова М. М., Благодоров М. Л., Демуров Е. А., Фролов В. А. Энергетический дефицит как возможный фактор индукции каспазо-зависимого апоптоза клеток миокарда левого желудочка при генетически обусловленной и вторичной артериальной гипертензии // Бюл. эксп. биол. и мед. – 2012. – Т. 153. № 6. – С. 800–802.
2. Азова М. М., Благодоров М. Л., Фролов В. А. Активность каспазы 3 и каспазы 8 в клетках миокарда правого желудочка при экспериментальной артериальной гипертензии // Вестник РУДН. Серия «Медицина». – 2011. – № 4. – С. 44–47.
3. Азова М. М., Благодоров М. Л., Фролов В. А. Биохимическое исследование апоптотической гибели клеток миокарда левого желудочка при экспериментальной артериальной гипертензии // Вопр. биол. мед. и фарм. химии. – 2012. – № 5. – С. 27–30.
4. Бершова Т. В., Монаенкова С. В., Гасанов А. Г. Патогенетическое значение апоптоза кардиомиоцитов при сердечной недостаточности // Педиатрия. – 2009. – Т. 88. № 1. – С. 147–154.
5. Bernardo B. C., Weeks K. L., Pretorius L., McMullen J. R. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies // Pharmacology & therapeutics. – 2010. – № 128. – P. 191–227.
6. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death // Toxicol. pathol. – 2007. – V. 35. № 4. – P. 495–516.
7. Fortuno M. A., Ravassa S., Fortuno A. et al. Cardiomyocyte apoptotic cell death in arterial hypertension. Mechanisms and potential management // Hypertension. – 2001. – № 38. – P. 1406–1412.
8. Goldblatt H., Kahn J. R. Experimental hypertension: construction of the aorta at various levels // J. A.M.A. – 1938. – № 9. – P. 685.
9. Innes B. A., McLaughlin M. G., Kapuscinski M. K et al. Independent genetic susceptibility to cardiac hypertrophy in inherited hypertension // J. hypertension. – 1998. – V. 31. № 3. – P. 261–267.
10. Ravassa S., Fortuno M. A., Gonzalez A. et al. Mechanisms of increased susceptibility to angiotensin II-induced apoptosis in ventricular cardiomyocytes of spontaneously hypertensive rats // Hypertension. – 2000. – № 36. – P. 1065–1071.

Поступила 18.06.2012

Т. В. АКСЕНОВА¹, А. Н. БОНДАРЕНКО², Е. А. БРАГИН³,
Н. А. МАРТИРОСЯН², М. А. БОНДАРЕНКО¹

РЕЗУЛЬТАТЫ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ МЕТАЛЛОКЕРАМИЧЕСКИМИ ПРОТЕЗАМИ С РАЗЛИЧНЫМ СОСТОЯНИЕМ ПУЛЬПЫ ОПОРНЫХ ЗУБОВ

¹Кафедра стоматологии ФПК и ППС Кубанского государственного медицинского университета,
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Кубанская набережная, 52/1, оф. 5. E-mail: bma_doc@mail.ru;

²кафедра стоматологии Кубанского медицинского института,
Россия, 350000, г. Краснодар, ул. Красная, 52, тел. 8 (862) 267-31-22;

³кафедра ортопедической стоматологии Ставропольской государственной медицинской академии,
Россия, 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310, тел. 8 (8652) 35-06-06

Проведено исследование результатов диспансеризации после лечения и (или) протезирования зубов металлокерамическими протезами у группы из 232 стоматологических больных. Была установлена более высокая эффективность проведения восстановительного лечения у пациентов, находившихся под диспансерным наблюдением.