

ХИРУРГИЧЕСКИЙ СТРЕСС И БЕЛКИ ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP70 ПРИ ОПЕРАЦИЯХ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Л.Г. Князькова, Т.А. Могутнова, Л.В. Ломиворотова, В.А. Бобошко, В.В. Ломиворотов

Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина

cpsc@nrisc.ru

Ключевые слова: белки теплового шока HSP70, кардиоспецифические маркеры, кортизол, аортокоронарное шунтирование.

Проблема защиты миокарда не теряет своей актуальности, особенно в настоящее время, когда хирурги выполняют сложные реконструктивные вмешательства на открытом сердце, требующие длительно искусственного кровообращения (ИК). В этой связи актуально выяснение и клиническое использование тех механизмов, с помощью которых клетки защищаются от повреждения при экстремальных воздействиях на организм.

Как правило, интенсивность стресс-реакции на хирургическую агрессию определяется соотношением активации стресс-системы, реализующей реакцию на стрессор, и стресс-лимитирующих систем, ограничивающих стрессорное повреждение.

Прогнозирование жизнеспособности миокарда, его устойчивости к повреждению несомненно связано с активностью внутриклеточных защитных систем организма, одной из которых является цитопротекторная система белков теплового шока (БТШ). Исследованию защитной функции БТШ при многих патологических состояниях придается большое значение [3, 13]. В настоящее время эта система рассматривается как одна из стресс-лимитирующих при экстремальных воздействиях.

Цель работы – исследование содержания белков семейства HSP70 как одного из основных кардиопротекторных стрессовых белков при операциях реваскуляризации миокарда в условиях искусственного кровообращения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 29 больных ИБС в возрасте от 50 до 70 лет, оперированных в условиях ИК. Длительность ИК составила $63,8 \pm 3,5$ мин. Всем пациентам выполнялось аортокоронарное шунтирование (АКШ).

Вводная анестезия осуществлялась с использованием фентанила (4,0 мкг/кг), дормикума (0,06 мг/кг). После введения ардуана в дозе 0,1 мг/кг выполнялась интубация трахеи и перевод больного на искусственную вентиляцию легких в режиме умеренной гипервентиляции (ра CO_2 артерии 30–35 мм рт. ст.). Анестезия до и после перфузии поддерживалась подачей галогенсодержащего анестетика в дыхательный контур (севоран 1,5–2,0 об%). Во время перфузии вводили дормикум (0,05–1,0 мг/(кг·ч)) и фентанил (5 мкг/(кг·ч)).

В периферической крови на этапах: 1) до операции, 2) окончание операции, 3) через 6 ч после операции, 4) к исходу первых и 5) вторых суток послеоперационного периода, определяли уровень белков теплового шока – HSP70 в крови, а также содержание кортизола, тропонина I, **активность общей и миокардиальной фракции креатинкиназы (СК-МВ)**.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Развитие стресс-реакции на этапах операции отражает содержание кортизола в крови. У больных ИБС перед операцией АКШ уровень кортизола не отличался от нормальных значений у здоровых лиц. К моменту окончания операции отмечалось достоверное увеличение в 2,7 раза, а наибольший уровень этого гормона зарегистрирован через 6 ч после хирургического вмешательства (табл. 1). К исходу первых суток после операции отмечалось значительное уменьшение содержания кортизола в крови, однако достоверные различия по сравнению с исходным сохранялись, при этом практически соответствовали верхней границе диапазона нормальных значений этого гормона у здоровых лиц. Аналогичный уровень кортизола был зарегистрирован на вторые сутки после хирургического вмешательства.

Одновременное определение содержания БТШ семейства HSP70 на этапах реваскуляризации миокарда показало, что к моменту окончания операции их уровень возрастал в 5 раз по сравнению с исходным значением ($P < 0,001$). Через 6 ч после кардиохирургического вмешательства отмечалась тенденция к снижению, а к концу первых и вторых суток после операции их уровень достоверно не отличался от исходного (табл. 1).

Исследование динамики кардиоспецифических маркеров показало, что сывороточная активность МВ-фракции креатинкиназы (КК-МВ) к моменту окончания операции была достоверно выше исходной в 3 раза и на последующих этапах наблюдения регистрировались практически аналогичные, достоверные по сравнению с исходным значения (табл. 2).

Наиболее специфичным маркером повреждения миокарда считается тропонин I. Его уровень на этапах операции характеризовался достоверным увеличением к моменту окончания операции (практически в 3 раза по сравнению с дооперационным) с последую-

Таблица 1
Содержание кортизола и БТШ HSP70 у больных ИБС на этапах реваскуляризации миокарда в условиях искусственного кровообращения

Этап	Кортизол, нмоль/л	HSP70, нг/мл
Исходный до операции	356±31,9	0,08±0,02
Окончание операции	990±68,9***	0,41±0,06***
Через 6 ч после окончания	1921±187***	0,31±0,09*
1-е сутки после операции	699±73,3***	0,096±0,01
2-е сутки после операции	695±71,4***	0,08±0,01

* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ – различия достоверны по сравнению с исходным этапом

Таблица 2
Содержание тропонина I и активность миокардиальной фракции креатинкиназы у больных ИБС на этапах реваскуляризации миокарда в условиях искусственного кровообращения

Этап	Тропонин I нг/мл	Активность КК-МВ, Ед/л
Исходный до операции	0,53±0,20	13,8±1,89
Окончание операции	1,43±0,32*	36,8±3,3***
Через 6 ч после окончания	2,76±0,55***	31,5±3,35***
1-е сутки после операции	2,24±0,39***	37,1±0,01***
2-е сутки после операции	1,39±0,33*	39,2±8,2**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – различия достоверны по сравнению с исходным этапом

щим нарастанием к 6-му часу после операции в 5 раз и снижением ко вторым суткам после кардиохирургического вмешательства.

ОБСУЖДЕНИЕ

Белки теплового шока принадлежат к разным семействам, на которые они подразделяются в зависимости от молекулярной массы. Мы исследовали семейство БТШ, которые наиболее интенсивно индуцируются при стрессе, с молекулярной массой 70 кДа (HSP70). В ответ на клеточный стресс эти белки формируют олигомерные комплексы, защищающие белки клетки от действия повреждающих факторов при стрессе. Показано, что БТШ связываются с денатурированными белками и обеспечивают их транспорт в протео- и лизосомные комплексы для их деградации [8].

Известно, что экстраклеточные БТШ участвуют в регуляции функций иммунной системы, защищая организм от патогенов, а внутриклеточные БТШ участвуют в регуляции апоптоза, помогая клеткам избе-

жать гибели. Показано участие HSP70 на всех этапах каскадных процессов, вовлеченных в апоптоз. Однако следует иметь в виду, что их защитное действие в значительной мере может определяться балансом про- и антиапоптотических белков. Установлено также, что HSP70 связываются с апуриновой/апириимидиновой эндонуклеазой и повышают ее активность, поэтому считают, что эти белки участвуют в репарации поврежденной ДНК. Участие HSP70 в элиминации поврежденных белков свидетельствует о их роли в обеспечении конформационной стабильности белков.

Интенсивное освобождение БТШ клетками осуществляется не только через экзоцитоз и экспорт их в свободном виде или в составе визикул (экзосом), но и путем выноса на поверхность плазматической мембраны, где они могут функционировать как свободные внеклеточные БТШ и в качестве мишеней для распознающих их клеток иммунной системы [4, 7].

К моменту окончания операции одновременно с достоверным увеличением продукции кортизола ($p < 0,001$) отмечалось возрастание содержания БТШ, повышенный уровень которых сохранялся через 6 ч после хирургического вмешательства ($p < 0,05$). К исходу первых суток после операции отмечаемое нами снижение уровня кортизола регистрировалось при одновременном уменьшении содержания белков HSP70 практически до исходных значений.

Регистрируя увеличение уровня кортизола при одновременном возрастании в крови содержания HSP70, одного из стресс-лимитирующих факторов, по-видимому, можно отмечать адекватность включения защитных механизмов организма на хирургическую агрессию и ИК при операциях АКШ.

Считают, что молекулярной основой многих видов патологии является неправильная укладка вновь синтезированных полипептидных цепей, за корректность которой отвечают БТШ [11, 12]. Удаляя модифицированные, необратимо поврежденные белки, и способствуя их протеолизу, HSP70 защищают структуру, участвуют в процессах репарации, таким образом спасая жизненно важные белки. В связи с этим не вызывает сомнения значимость увеличения их продукции в условиях кардиохирургического вмешательства. Поскольку у любое нарушение клеточной структуры индуцирует синтез HSP70, становится понятным, что увеличение продукции активных форм кислорода, модифицирующих структуру белка, повышающих окислительную деструкцию, может быть одним из факторов, стимулирующих усиление синтеза БТШ с целью обеспечения конформационной стабильности клеточных белков.

Ранее нами было показано, что именно к моменту окончания операции, в период реперфузии имеет место активация свободнорадикальных процессов [5–6].

В этих условиях защитная функция HSP70 позволяет клетке адаптироваться к определенному уровню повреждающих воздействий в стрессовых условиях и

предупредить необратимые повреждения. Показано, что развитие эндотелиальной дисфункции в результате свободнорадикального повреждения эндотелия и кардиомиоцитов в результате ишемии и реперфузионных изменений на фоне вазоконстрикторных реакций при гипертонии сопровождается также усилением экспрессии HSP70.

Сравнительный анализ динамики кардиоспецифических маркеров и HSP70 на этапах операции реваскуляризации миокарда в условиях ИК показал, что увеличение уровня тропонина I в 3 раза к моменту окончания операции сопровождалось 5-кратным возрастанием продукции HSP70. Такая активация синтеза HSP70 может расцениваться как защитная стресс-лимитирующая реакция на повреждение миокарда. Наши данные об увеличении плазменного уровня БТШ при операциях АКШ согласуются с результатами исследования этих белков в биоптатах миокарда больных ИБС [9]. Следует подчеркнуть, что в первые сутки после операции выявлена тесная достоверная отрицательная корреляция ($r=-0,58$) уровня тропонина I и HSP70, свидетельствующая о том, что с увеличением продукции HSP70 снижается уровень основного маркера повреждения миокарда – тропонина I.

Поскольку HSP70 – это растворимые внутриклеточные белки, их появление во внеклеточном пространстве является сигналом, в ответ на который происходит активация иммунного ответа. Нельзя не согласиться с мнением, что уровень БТШ может быть использован в качестве маркера защищенности от неблагоприятных факторов, [1]. Согласно современным исследованиям, появление внеклеточного HSP70 связано с активацией иммунного ответа и индукцией синтеза провоспалительных цитокинов [9], обнаружена способность оказывать иммуностимулирующее действие на натуральных киллеров, что позволяет рассматривать систему БТШ как защитную при осложнениях воспалительного характера.

В экспериментальных исследованиях было установлено, что возрастание резистентности к острому стрессу у предварительно адаптированных животных связано с повышением продукции HSP70 как показателя активации одной из стресс-лимитирующих систем организма [2].

Эти данные дают основание полагать, что защитные эффекты прекондicionирования, представляющего собой неспецифическую адаптивную реакцию на любое, умеренное по силе повреждающее воздействие, в настоящее время получившее распространение в клинической практике, могут быть связаны с увеличением продукции цитопротекторных БТШ.

Наибольший прирост концентрации БТШ HSP70 к моменту окончания операции реваскуляризации миокарда в условиях ИК регистрировался на фоне разви-

тия стресс-ответа, о чем свидетельствовало возрастание уровня кортизола.

При этом достоверная отрицательная корреляция HSP70 ($r=-0,58$) с уровнем тропонина I к исходу первых суток после кардиохирургического вмешательства отражала адекватную цитопротекторную реакцию в условиях применявшегося анестезиологического обеспечения, с одной стороны, направленную на сохранность миокарда, а, с другой стороны, на стимуляцию репаративных процессов и снижение риска послеоперационной дисфункции миокарда.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Карпищенко А.И., Демидов О.Н., Тыренко Е.Ю. и др. // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2000. № 3. С. 10–12.
2. Пшениникова М.Г., Зеленина О.М., Круглов С.В. // *Бюл. эксперим. биол. и медицины*. 2007. Т. 144, № 12. С. 613–616.
3. Рычков И.А., Москалева Е.Ю. // *Вопросы биол., мед. и фармацевт. химии*. 2007. № 4. С. 49–54.
4. Свешников П.Г., Малайцев В.В., Киселев В.И. // *Журнал микробиологии*. 2007. № 6. С. 108–117.
5. Трубицына Е.С., Князькова Л.Г., Ломиворотов В.В. // *Патол. кровообр. и кардиохирургия*. 2008. № 2. С. 34–38.
6. Цветовская Г.А., Чернявский А.М., Иванцова О.А. и др. // *Патол. кровообр. и кардиохирургия*. 2001. № 4. С. 37–42.
7. Asea A. // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2008. V. 183. P. 111–127.
8. Burgman P.W.J., Kampinga H.H., Konings A.W.T. // *Intern. J. Hypertherm.* 1993. V. 9. P. 151–162.
9. Demidov O.N., Turenko V.V., Svistov A.S. et al. // *Eur. Cardiotorac. Surg.* 1999. V. 16. № 4. P. 444–449.
10. Dybdahl B. et al. // *Circulation*. 2002. V. 105. № 6. P. 685–690.
11. Thomas P.J., Qu B.H., Pedersen P.L. // *TIBS*. 1995. P. 456–459.
12. Mosimoto R.J., Tissieres A., Georgopoulou C. // *The biology of heart shock proteins and molecular chaperons*. N.Y. Cold Spring Harbor Press, 1994. P. 408.
13. Plumier J-C.L., Currie R.W. // *Cell stress Chap.* 1996. V. 1. № 1. P. 13–17.

SURGICAL STRESS AND HEAT SHOCK PROTEINS HSP70 DURING CORONARY ARTERY BYPASS GRAFTING

L.G. Knyazkova, T.A. Mogutnova, L.V. Lomivorotova, V.A. Boboshko, V.V. Lomivorotov

In 29 patients with coronary artery disease, operated under extracorporeal circulation the plasma level of heat shock proteins 70, cortisol, troponin I and CK-MB were studied. It was revealed, that during the surgical stress the increase in cardiac biomarkers and simultaneous rise in heat shock proteins production suggests the activation of cellular protective mechanisms to the surgical trauma and cardiopulmonary bypass and prevent the development of myocardial dysfunction after the operation.

Key words: Heat shock proteins HSP70, cardiac biomarkers, cortisol, coronary artery bypass grafting.