

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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -

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-

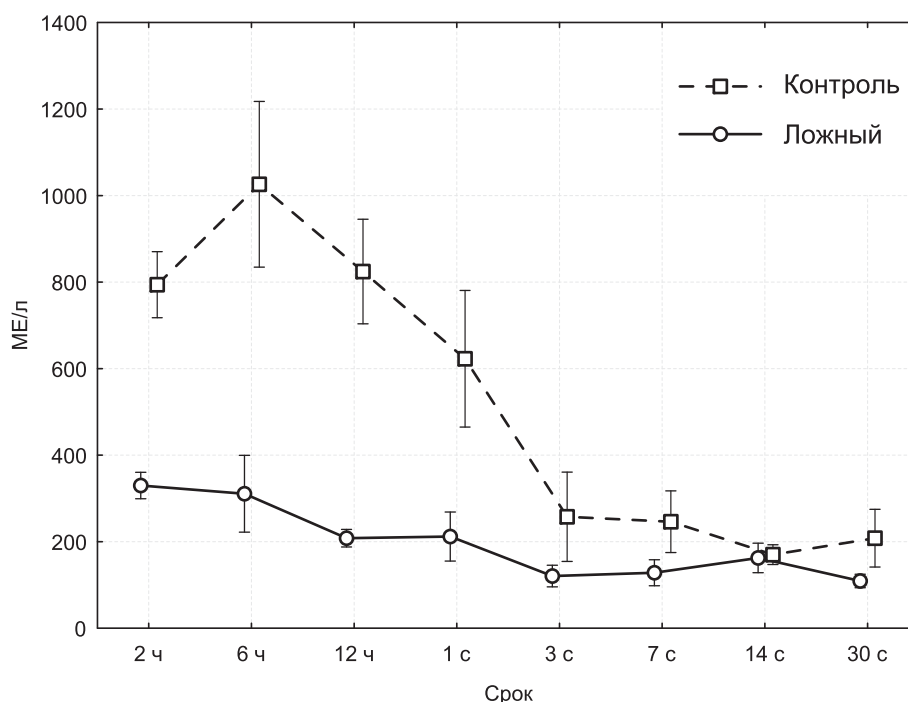


Рис. 1. Динамика уровня ГБДГ в контрольной группе и у животных с ложной операцией.

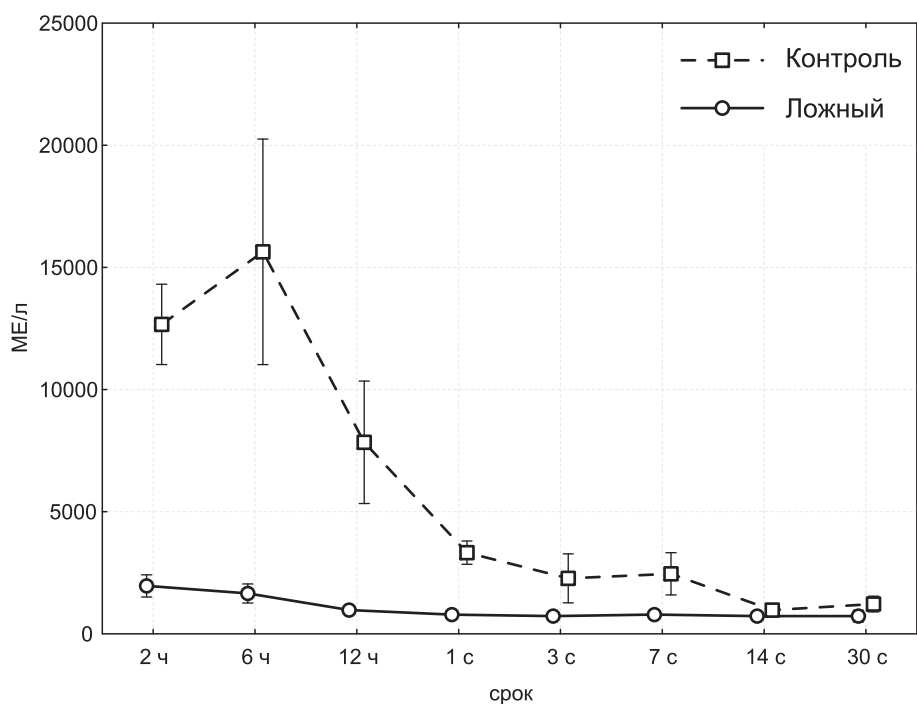


Рис. 2. Динамика уровня КФК в контрольной группе и у животных с ложной операцией.

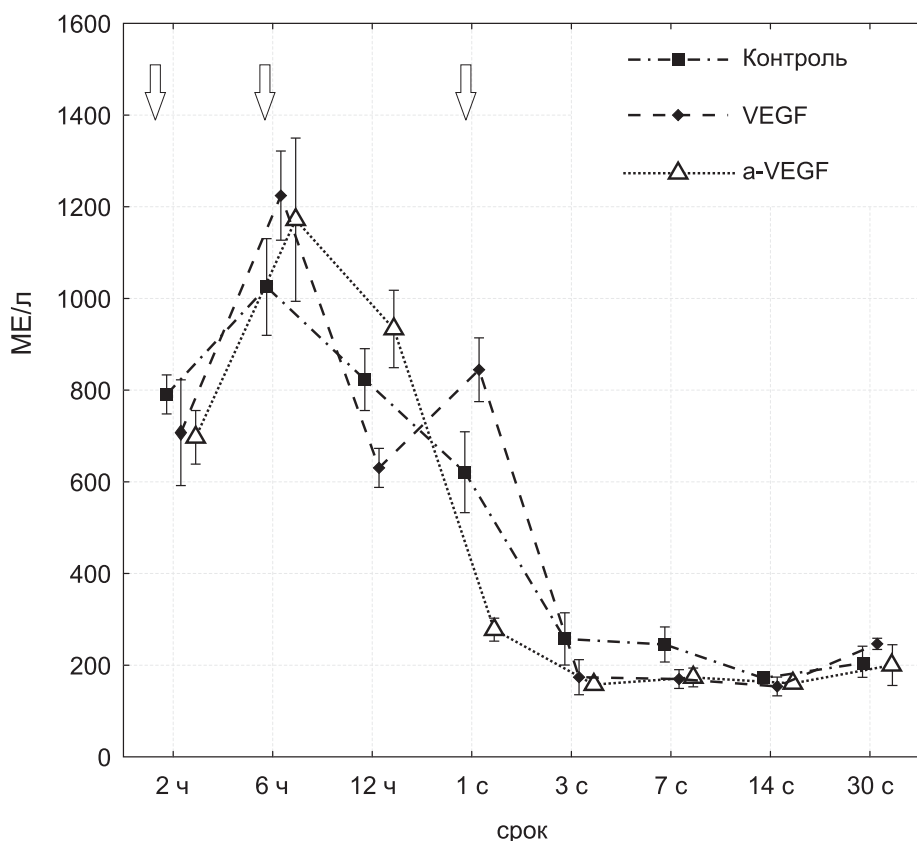


Рис. 3. Динамика уровня ГБДГ в сыворотке крови экспериментальных животных.

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).

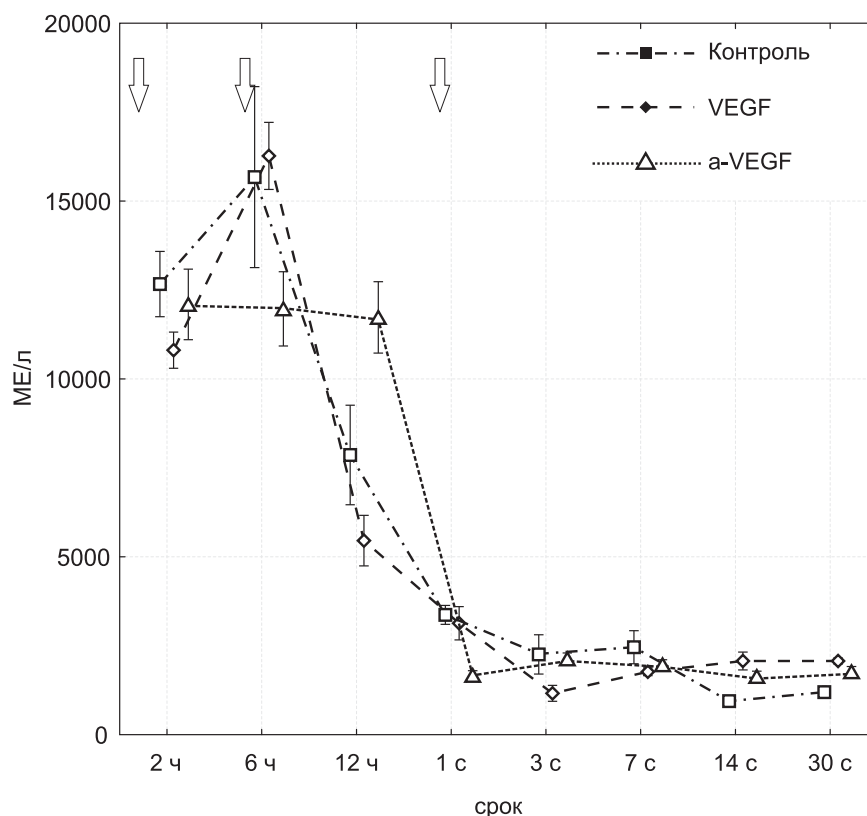


Рис. 4. Динамика уровня КФК в сыворотке крови экспериментальных животных.

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.