

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

ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО КОМПОНЕНТА МИОКАРДА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ В ПОСТИНФАРКТНЫЙ ПЕРИОД

ГУ НЦ реконструктивной и восстановительной хирургии ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)

На модели экспериментального инфаркта миокарда изучено влияние фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) на изменение микроциркуляторного компонента миокарда в зоне инфаркта, пограничной и интактной зонах. Выявлено, что повышенные концентрации VEGF стимулируют образование капиллярного русла при развитии постинфарктного кардиосклероза, в то время как связывание эндогенного VEGF моноклональными антителами позволяет достичь значимого подавления неонангиогенеза.

Ключевые слова: VEGF, инфаркт миокарда, эндотелиоциты, микроциркуляция

MYOCARDIUM MICROCIRCULATION COMPONENT CHANGE INFLUENCED BY VESSELS ENDOTHELIUM GROWTH FACTOR DURING POSTINFARCTION PERIOD

N.N. Dremina, M.G. Shurygin, I.A. Shurygina

SE SC of reconstructive and restorative surgery of ESSC SD RSEAMS, Irkutsk

We studied influence of vessels endothelium growth factor on myocardium microcirculation component change in the infarct, frontier and intact areas with the model of cardiac infarction. We determined that increased VEGF concentrations stimulate capillary channel formation at the growth of postinfarction cardiosclerosis while binding of endogenous VEGF by homogeneous antibodies helps to achieve sizeable suppression of neoangiogenesis.

Key words: VEGF, cardiac infarction, endotheliocytes, microcirculation

В последнее время наиболее перспективным направлением развития медицины является изучение процессов управления развитием патологических и физиологических процессов. Среди естественных факторов, способных значимо влиять на течение патологических процессов, особое внимание привлекают так называемые факторы роста. Как известно, основную роль в регуляции процессов клеточной дифференциации и пролиферации играет фактор роста эндотелия сосудов (VEGF — Vasoendothelial Growth Factor). Он стимулирует пролиферацию эндотелиоцитов и участвует в активации и регуляции физиологического и патологического ангиогенеза [2, 3].

Основным физиологическим эффектом VEGF является митогенный эффект на клетки эндотелия сосудов. 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 [4]. Эндотелиальный фактор роста находится в клетке в связанном состоянии, откуда высвобождается только при клеточном повреждении [1].

С учетом того, что при формировании постинфарктного кардиосклероза значительная роль отводится формированию сосудистого компонента соединительной ткани, изучение роли VEGF при этой патологии представляется чрезвычайно актуальным. В то же время в доступной литературе нами не найдено данных о влиянии фактора роста эндотелия сосудов на зону повреждения миокарда в постинфарктный период.

Цель исследования: изучение влияния VEGF на изменение микроциркуляторного русла миокарда в постинфарктный период в эксперименте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть исследования выполнена на базе отдела экспериментальной хирургии с виварием ГУ НЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН г. Иркутска (зав. отделом — к.б.н. С.А. Лепехова).

Проведен хронический эксперимент на 125 самках крыс линии Wistar весом 200 — 250 г в возрасте 9 мес. Эксперимент на животных выполнялся 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 околоконусной межжелудочковой артерии крысы.

После моделирования ИМ животные случайным образом были разделены на 3 группы: контрольная — 45 животных, 2 основные группы: VEGF и анти-VEGF — по 40 животных в каждой группе. У животных контрольной группы исследования проводили без изменения естественной концентрации VEGF. Группе VEGF внутрисердечно вводили фактор роста эндотелия сосудов в дозе 100 нг однократно через 1,5 часа после моделирования ИМ, в сроки 6 часов и 1 сутки — 0,85% физиологический раствор. Животным группы анти-VEGF в полость левого желудочка вводили моноклональные анти-

тела к ростовому фактору в дозе 1 мкг трехкратно через 1,5 часа, 6 часов и 1 сутки. Животных выводили из эксперимента через 2, 6 и 12 часов, 1, 3, 7, 14 и 30 суток после моделирования ИМ.

Сердца экспериментальных животных фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина, заливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Морфометрию проводили с использованием программы ImageJ Национального института здоровья (США) с набором модулей для медицинской морфометрии от Wayne Rasband. Количественная оценка морфологических структур производилась в 3 зонах: в зоне интактного миокарда, пограничной зоне и зоне некроза. Подсчитывались количество капилляров и эндотелиоцитов.

Для статистической обработки результатов работы применяли дисперсионный анализ с использованием пакета R-project. Критический уровень значимости критериев принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами выявлено, что фактор роста эндотелия сосудов оказывает значимое влияние на ангиогенез во всех изучаемых зонах. Так, у животных, получавших VEGF внутрисердечно, в зоне интактного миокарда количество эндотелиоцитов превышало аналогичный показатель у животных контрольной группы в сроки 6 часов (VEGF – 108 (82–115); контроль – 82 (70–90)), 12 часов (VEGF – 101 (94–112); контроль – 88 (72–89)), 1 сутки (VEGF – 97 (84–117); контроль – 80 (65–88)) и 3 суток (VEGF – 114 (72–123); контроль – 89 (74–94)), при этом в сроки 12 часов и 1 сутки различия были достоверны ($p < 0,05$) (рис. 1).

В противоположность группе VEGF у животных с подавлением эндогенного фактора роста количество эндотелиоцитов в зоне интактного миокарда было меньше таковых в контрольной группе животных в сроки 12 часов (анти-VEGF – 62 (51–84); контроль – 88 (72–89)), 3 суток (анти-VEGF – 62 (48–76); контроль – 89 (74–94)) и 7 суток (анти-VEGF – 59 (34–89); контроль – 96 (83–98)) после моделирования инфаркта миокарда. Значимые различия выявлены в сроки 3 и 7 суток ($p < 0,05$) (рис. 1).

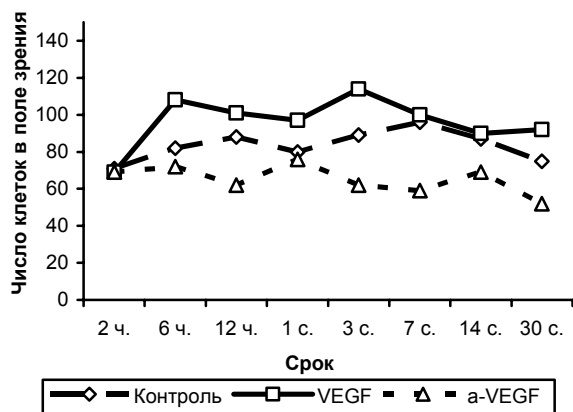


Рис. 1. Динамика количества эндотелиоцитов в зоне интактного миокарда.

В пограничной зоне количество эндотелиоцитов у животных группы VEGF в ранние сроки после моделирования инфаркта показатели контрольной группы были несколько выше, однако статистической достоверности выявить не удалось (рис. 2). Наряду с этим у животных группы анти-VEGF в пограничной зоне количество эндотелиоцитов достоверно снижалось в сроки 3–7 суток по сравнению с контролем (3 суток анти-VEGF – 53 (38–62), контроль – 98 (83–136); 7 суток анти-VEGF – 42 (26–56), контроль – 100 (96–130)) ($p < 0,05$) (рис. 2).

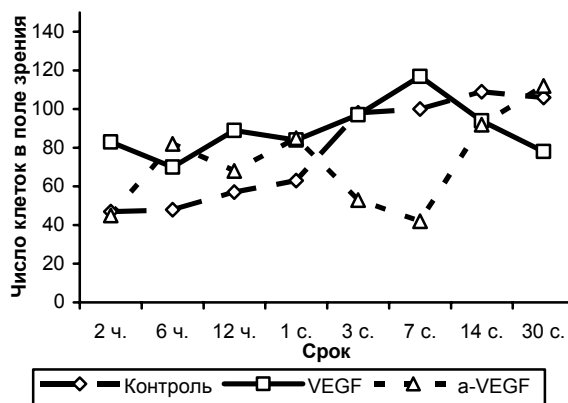


Рис. 2. Динамика количества эндотелиоцитов в пограничной зоне.

В зоне инфаркта в ранние сроки (от 2 часов до 1 суток) различий между группами в плотности эндотелиоцитов не выявлено. Однако при подавлении VEGF моноклональными антителами в зоне повреждения миокарда на 3-е сутки после моделирования инфаркта число эндотелиоцитов продолжало оставаться низким, в то время как в группах VEGF и контроля наблюдалось резкое увеличение количества эндотелиальных клеток (анти-VEGF – 58 (51–67), контроль – 121 (68–136), $p < 0,05$). Такое же соотношение регистрировалось и на 7 суток наблюдения (анти-VEGF – 50 (35–83), контроль – 167 (118–184), $p < 0,05$) (рис. 3).

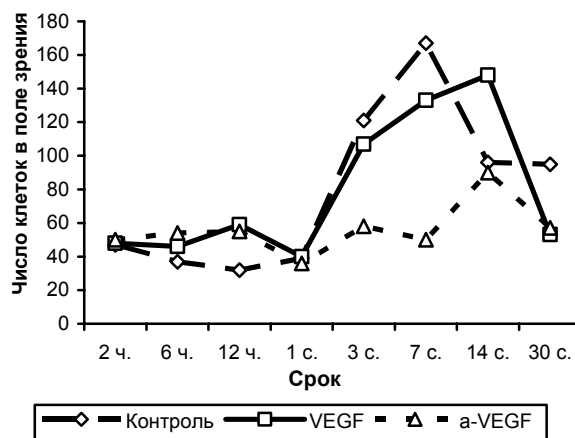


Рис. 3. Динамика количества эндотелиоцитов в зоне инфаркта миокарда.

Закономерно, что динамика количества эндотелиальных клеток при изменении естественной

концентрации VEGF сопровождалось и изменением числа капилляров в исследуемых зонах.

Так, в зоне интактного миокарда при введении VEGF увеличивалось количество капилляров с достоверным отличием от группы контроля в сроки 6 часов (VEGF – 95 (87–102), контроль – 66 (63–67)), 1 сутки (VEGF – 101 (96–121), контроль – 73 (65–79)), 14 суток (VEGF – 93 (88–98), контроль – 57 (47–79)) ($p < 0,05$) (рис. 4). Подавление эндогенного VEGF значимо не влияло на число капилляров в интактной зоне.

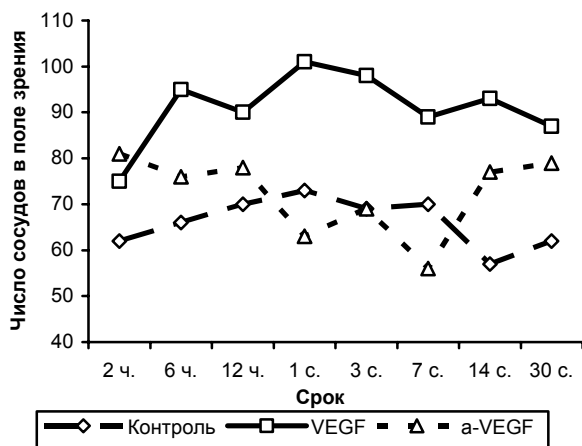


Рис. 4. Динамика количества капилляров в зоне интактного миокарда.

В пограничной зоне у животных группы VEGF с 12 часов наблюдалось нарастание количества капилляров с достижением максимальных показателей к 7 суткам (122 (115–146)). Количество капилляров достоверно превышало показатели контрольной группы в сроки 7 и 14 суток ($p < 0,05$). В то же время у животных группы анти-VEGF число капилляров отставало от показателей контрольной группы до 3 суток исследования с достоверным отличием в этот же срок (анти-VEGF – 84 (74–110), контроль – 94 (91–117)) ($p < 0,05$) (рис. 5). В дальнейшем различия нивелировались.

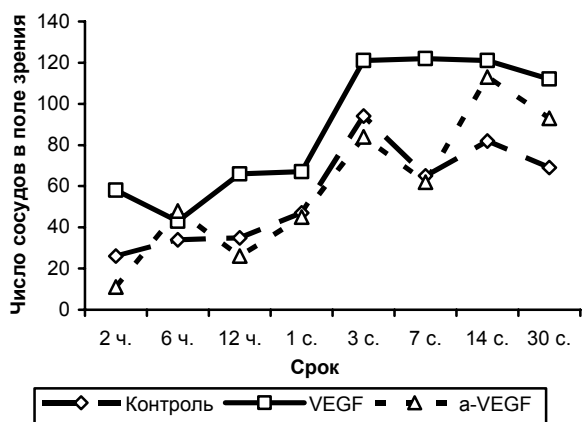


Рис. 5. Динамика количества капилляров в пограничной зоне.

В зоне инфаркта миокарда при повышении естественной концентрации VEGF отмечалась тенденция к более интенсивному неоангиогенезу в сроки 7, 14 и 30 суток, по сравнению с группой контроля. Через 14 суток после моделирования инфаркта миокарда выявлено достоверное отличие при подсчете количества сосудов (VEGF – 144 (93–166), контроль – 81 (78–84)) ($p < 0,05$) (рис. 6). У животных при подавлении эндогенного фактора роста эндотелия сосудов моноклональными антителами в инфарктной зоне количество капилляров значимо не отличалось от группы контроля.

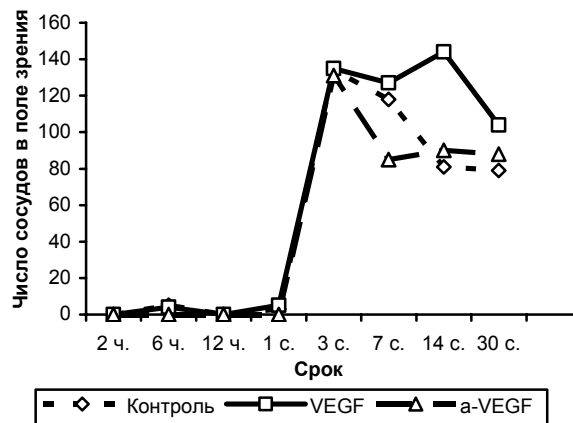


Рис. 6. Динамика количества капилляров в зоне инфаркта миокарда.

Таким образом, нами установлено, что повышенные концентрации VEGF стимулируют образование капиллярного русла в зонах интактного миокарда, пограничной и инфарктной зонах при развитии постинфарктного кардиосклероза, в то время как связывание эндогенного VEGF моноклональными антителами позволяет достичь значимого подавления неоангиогенеза.

Очевидно, что связывание VEGF путем введения моноклональных антител дискретно в сроки 1,5 часа, 6 часов и 3 суток не позволяет полностью подавить стимуляцию неоангиогенеза при повреждении миокарда, которая резко усиливается после прекращения введения антител.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заридзе Д.Г. Канцерогенез / Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.
2. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis / P. Carmeliet // Nat. Med. – 2000. – Vol. 6, N 4. – P. 389–395.
3. Isner J.M. Angiogenesis and vasculogenesis as therapeutic strategies for postnatal neovascularization / J.M. Isner, T. Asahara // J. Clin. Invest. – 1999. – Vol. 103, N 9. – P. 1231–1236.
4. Vascular endothelial growth factor induces EDRF-dependent relaxation in coronary arteries / Ku D.D., Zaleski J.K., Litu S. et al. // Am. J. Physiol. – 1993. – Vol. 265. – P. 586–592.