

ОСОБЕННОСТИ ВОВЛЕЧЕНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ И ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ПРОЦЕСС РАЗВИТИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

Хидирова Л.Д.¹, Маянская Н.Н.²

1. Новосибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ, г. Новосибирск, Россия.

2. Казанский медицинский университет, г. Казань, Россия, e-mail: h_ludmila73@mail.ru

Развитие некротических изменений в сердечной мышце определяется усиленным притоком в нее ПМЯЛ, повышением их биоцидной активности, снижением функционального резерва и значительным снижением активности лизосомальных ферментов в миокарде, и повышением в крови, которые могут играть решающую роль в активации процессов повреждения в сердечной мышце.

Ключевые слова: нейтрофилы, лизосомальные ферменты, инфаркт миокарда.

PECULIARITY OF THE INCLUDING OF THE NEUTROPHILS AND LYSOSOMAL ENZYMES INTO METHABOLIC MOCARDIAL INFARCTION.

Hidirova L.¹, Mayansky N.²

1. Novosibirsk State Medical University, Federal Agency for Health and Social Development of Russian Federation, Novosibirsk, Russia.

2. Kazan State Medical University, Russia, e-mail: h_ludmila73@mail.ru

The development of necrotic changes in the cardiac muscle is determined by the inflow into it polymorphonuclear leucocytes, a significant decrease in activity of the lysosomal enzymes in the myocardium and increase in blood. Impacts on the lysosomal apparatus can be significant and crucial for the pathological process in the myocardium and vascular system as a whole.

Keywords: neutrophils, lysosomal enzymes, myocardial infarction.

Введение

Особенности воспалительной реакции при коронарогенном инфаркте миокарда описаны довольно подробно [1]. Однако в настоящее время все большее распространение получают некоронарогенные повреждения миокарда, в том числе так называемые метаболические инфаркты, в основе которых лежат гормональные нарушения: сахарный диабет, гиперкатехоламинемия, гиперкортизолемиа и другие. О развитии воспаления в сердечной мышце при этих состояниях известно значительно меньше. Не ясно, каков

характер вовлечения основных эффекторных механизмов, среди которых важное место занимают нейтрофилы крови, макрофаги, а также гуморальные факторы воспаления, такие как цитокины, лизосомальные ферменты, про- и антиоксидантные системы.

Целью настоящего исследования было выявление особенностей воспалительной реакции в динамике развития некоронарогенного повреждения миокарда в эксперименте.

Материалы и методы исследования

В исследованиях использовали 48 крыс-самцов Вистар, полученных из вивария НГМУ, массой 180–220 г. Метаболический инфаркт миокарда (МИМ) воспроизводили у животных подкожным введением ежедневно в течение недели раствора адреналина (0,2 мл 0,1%-ного раствора на крысу). Инфаркт миокарда подтверждали с помощью анализа данных электрокардиографии (ЭКГ), а также с помощью гистологического контроля. Животных забивали под эфирным наркозом путем декапитации на 1, 3, 7 и 14-е сутки эксперимента – по 10–12 крыс на каждый срок. От экспериментальных животных брали для исследования цельную кровь, сыворотку крови и ткани сердца.

В качестве контроля использовали интактных животных.

Для определения кислородзависимой биоцидности нейтрофилов и их функционального резерва использовали спонтанный (сНСТ) и индуцированный зимозаном (зНСТ) тесты. Результат выражался в индексах стимуляции (ИС). В крови измеряли интенсивность хемиллюминесценции (ХМЛ) нейтрофилов на биохемиллюминометре СКИФ-0301 (СКТБ «Наука», Красноярск, Россия) с 5-амино-2,3-дигидрофталазиндионом-1,4 в качестве люминофора.

Содержание цитокинов: интерлейкина 1 β (ИЛ-1 β), интерлейкина 6 (ИЛ-6) и туморнекротизирующего фактора (ТНФ- α) в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием реагентов ProCon («Протеиновый контур», Санкт-Петербург, Россия) [3].

Определение активности лизосомальных ферментов проводилось спектрофотометрическими исследованиями. Определяли активность лизосомальных ферментов в сердечной мышце и в сыворотке крови (кислая фосфатаза, катепсин D).

Статистический анализ результатов производили с помощью пакетов программ Statistica 6.0, программного обеспечения MS Excel XP. Выборочные данные проверялись на нормальность распределения по критерию Шапиро–Уилка для применения параметрических методов вариационного анализа с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты представлены в виде среднего арифметического \pm стандартная ошибка среднего (n), где n – количество измерений. Уровень значимости $<0,05$ принимался за достоверный.

Результаты исследований и их обсуждение

Исследования показали, что в процессе развития МИМ в миокарде обнаруживалась значительная диффузная инфильтрация лейкоцитами, преимущественно – нейтрофилами. В связи с этим в данной работе исследовали биоцидность лейкоцитов, которая возрастала с первых суток введения адреналина и продолжала увеличиваться вплоть до окончания эксперимента (14-е сутки). В то же время функциональные резервы нейтрофилов крови по результатам подсчета ИС резко падали уже с первых суток эксперимента и не приходили к норме вплоть до конца наблюдения (табл. 1).

Таблица 1 – Средние показатели спонтанного НСТ-теста (в%), ИС и ХМЛ-активности лейкоцитов крыс с гормональными моделями метаболического инфаркта миокарда (МИМ)

Условия опытов	Контроль	МИМ 1-е сутки	МИМ 7-е сутки	МИМ 14-е сутки
сНСТ	5,3±0,33	16,8±3,08*	18,8±1,49*	12,4±1,13
ИС	3,05±0,07	1,75±0,06*	1,3±0,03*	1,3±0,03*
I max (имп/100 нф\мин)	4,8±0,06	7,1 ±0,09*	8,4±0,10*	12,0±0,11*
Tmax (мин)	5,3±0,37	9,2±0,75*	10,18±0,67*	8,8±0,72*

I max – количество импульсов на пике ХМЛ-ответа в минуту на 100 нейтрофилов.

Tmax – время достижения максимума (мин). Здесь и в следующей таблице число определений в каждой группе – по 12 животных.

* – достоверные различия между показателями у крыс с МИМ и у контрольных животных, $p < 0.05$.

Как известно, лейкоциты и макрофаги, накапливающиеся в миокарде при его повреждении, являются одними из основных источников таких воспалительных цитокинов, как ИЛ-1, ИЛ-6 и ТНФ- α [2], под влиянием которых клетки-эффекторы воспаления начинают вести себя еще более агрессивно по отношению к эндотелию сосудов.

Результаты исследования показали, что содержание ИЛ-1 β постепенно нарастало параллельно с увеличением деструктивных нарушений в миокарде у крыс с МИМ. На третьи сутки концентрация ИЛ-1 β была выше, чем в контроле, почти на 40% ($p < 0,01$), на 14-е сутки – на 85% ($p < 0,01$). Концентрация ТНФ- α в крови у этих животных также нарастала в соответствии с динамикой биоцидности нейтрофилов по мере развития изменений в миокарде.

До настоящего времени в литературе мало уделялось внимания изменениям лизосомального аппарата как самого миокарда, так и нейтрофилов крови, хотя их высокий деструктивно-дистрофический потенциал не подлежит сомнению. Проведенные в настоящей

работе исследования активности лизосомальных ферментов показали ее существенное снижение в сердечной мышце и повышение в сыворотке крови, особенно ярко выраженное к 14-м суткам метаболического инфаркта миокарда (табл. 2). Эти данные совпадали по динамике с падением функциональных резервов нейтрофилов.

Таблица 2 – Изменения активности КФ и катепсина D в миокарде и сыворотке крови у крыс с МИМ

Условия опытов	Свободная	Общая	Своб./общ.	Сыворотка
КФ: Контроль	3.9±0.4	11.1±0.6	0.38±0.03	27.6±1.62
МИМ 1-е сутки	5.3±0.3*	8.1±0.2*	0.53±0.03*	37.4±2.46*
МИМ 14-е сутки	6.5±0.5*	9.7±0.8	0.67±0.05*	45.9±2.41*
Кат D: Контроль	0.38±0.03	1.79±0.14	0.249±0.02	Нет
МИМ 1-е сутки	0.34±0.04	1.36±0.09*	0.310±0.05*	Нет
14-е сутки	0.44±0.02	1.17±0.06*	0.382±0.01*	3.38±0.56

В скобках – число животных.

* – достоверные отличия от интактных животных (P<0.05).

Основная роль лизосомальных ферментов при МИМ состоит не в быстром высвобождении из клеточных структур и прямом повреждающем действии на ткани, а в постепенной опосредованной активации лизосом через потенцирование альтерации эндотелия сосудов и кардиомиоцитов агрегированными тромбоцитами, лейкоцитами, и продуктами их деятельности, например гистамином, серотонином, тромбоксаном A₂ и другими [3]. Таким образом, можно предположить, что активность лизосомальных ферментов при метаболических поражениях миокарда предназначена для поддержания гомеостаза клетки в условиях хронического воздействия патогенного фактора.

Высокие показатели содержания в сыворотке крови провоспалительных цитокинов, а также повышение активности маркерных лизосомальных ферментов служат одним из маркеров развития повреждения и репарации в миокарде. Полученные в работе результаты исследования указывают на то, что в условиях гормональных перестроек важное значение имеет деструкция лизосомального аппарата клеток, как в миокарде, так и в гранулярных лейкоцитах.

Список литературы

1. Маянская Н.Н. [и др.]. Диагностическая и прогностическая оценка изменений активности лизосомальных ферментов в крови у больных острым инфарктом миокарда и нестабильной стенокардией. // Тер. архив. – 1994. – № 4. – С. 36–39.
2. Лысикова М., Вальд М., Масиновски З. Механизмы воспалительной реакции и воздействие на них с помощью протеолитических энзимов // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3. – № 3. – С. 48–53.
3. Baggiolini M., Kheren P., Deranleau D.A. et al. Control of motility, exocytosis and the respiratory burst in human neutrophils. Biochem. Soc. Trans. – 1991. – V. 19. – P. 56–59.
4. Barandier C., Leiris J. Antioxidant trace elements // Pathophysiology. – 1998. – V. 5. – № 1. – P. 16.
5. Burrell Ch. I., Blake D.R. Reactive oxygen metabolites and the human myocardium // Brit. Heart J. – 1989. – V. 1. – № 1. – P. 4–8.

Рецензенты:

Ломиворотов В.Н., д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе, заведующий отделом анестезиологии и реаниматологии ФГУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина», г. Новосибирск.

Зубахин А.А., д.м.н., профессор, старший преподаватель кафедры физиологии ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ, г. Новосибирск.

Работа получена 22.09.2011