



УДК 612.6.089.67:616.127-005.8

## Воздействие клеточной трансплантации на метаболическую активность миокарда при адреналиновом стрессе

С. Л. Богородская<sup>1</sup>, С. Н. Клинова<sup>1</sup>, М. Б. Микашова<sup>1</sup>, И. Н. Гутник<sup>2</sup>,  
Ю. И. Пивоваров<sup>1</sup>, Т. Е. Курильская<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН, Иркутск

<sup>2</sup>Иркутский государственный университет, Иркутск  
E-mail: [sbogorodskaya@mail.ru](mailto:sbogorodskaya@mail.ru)

**Аннотация.** Изучали влияние ксеногенных неонатальных сердечных клеток на ферментативные процессы в миокарде крыс при его адреналиновом повреждении. Установили, что трансплантация клеточного препарата способствовала ограничению подавления ферментативной активности в миокарде и ее более быстрому восстановлению.

**Ключевые слова:** миокард, ферменты, адреналин, клеточная трансплантация.

К настоящему времени многими исследователями показана способность клеточной терапии ускорять репаративные процессы в поврежденных органах, в том числе и миокарде. Имеются работы, которые свидетельствуют о возможности клеточных препаратов ограничивать величину повреждения, улучшать сердечную функцию, стимулировать ангиогенез [1; 4; 6; 9], улучшать перфузию миокарда [4] подавлять ремоделирование [10], рассматриваются возможности регенерации кардиомиоцитов [2; 11].

Целью нашей работы являлось изучение влияния клеточной терапии на метаболические процессы в миокарде, а именно на активность ферментов, связанных с синтезом, транспортом и утилизацией АТФ: лактатдегидрогеназы 1 (ЛДГ 1), креатинкиназы (КК) и активности АТФаз.

### Методика исследования

Эксперимент проводили на беспородных крысах, самцах, весом 250–300 г. Адреналиновый стресс моделировали однократным подкожным введением 0,1%-ного раствора адреналина в дозе 0,5 мг на 100 г веса: животным первой группы (n = 85) – сразу после адреналина вводили физиологический раствор; животным 2-й группы (n = 88) – также сразу после введения адреналина подкожно инъецировали изолированные сердечные клетки новорожденного кролика в дозе 500 тыс. клеток в 0,5 мл физиологического раствора. У 6 здоровых крыс

определяли исходные значения. Взятие крови для биохимических исследований осуществляли через 1, 4, 8, 12, 16 и 24 часа после введения адреналина, а также на 3-и, 7-е сутки. В миокарде определяли активность креатинкиназы с помощью реактивов фирмы «Bioson», Германия. ЛДГ 1 оценивали по ее  $\alpha$ -гидроксибутиратдегидрогеназной активности реактивами Corma, Польша. Исследовали суммарную активность АТФаз по приросту неорганического фосфата. Использовали спектрофотометр «Ultrospec-4050», Швеция и полуавтоматический биохимический анализатор «Roki», Ольвекс, Россия, Беларусь. Статистическую обработку результатов проводили с применением ППП «Statistica for Windows, версия 6.0», с использованием t-критерия Стьюдента и критерия Mann-Whitney. Значимыми считали различия при  $P < 0,05$ .

### Результаты исследования

В миокарде крыс контрольной группы активность ЛДГ 1 уменьшалась к 1–4 часам исследования – очевидно, этот период соответствовал максимальному гипоксическому подавлению активности фермента. В опытной группе с введением сердечных клеток минимум активности ЛДГ 1 отмечен в 1-часовой пробе. Затем намечалась тенденция к более раннему, чем в контрольной группе, восстановлению активности: уже к 4 часам и в последующие сроки активность этого фермента была достоверно

выше в группе с трансплантацией. Максимальные значения – выше исходного, что свидетельствует не только о восстановлении, но и об активации ЛДГ 1. В группе без трансплантации восстановления активности ЛДГ 1 до исходных значений в исследуемые сроки не произошло. Таким образом, изменение активности ЛДГ 1 в миокарде опытных животных, характеризующееся ранним восстановлением и активацией, предполагает более благоприятные условия для функционирования ферментов – менее гипоксические. Очевидно, динамика ЛДГ 1, фермента, являющегося участником гликолиза, соответствует менее продолжительному периоду подавления гликолитических процессов, более раннему их восстановлению и активации.

В первые часы эксперимента в миокарде происходило уменьшение активности креатинкиназы. В группе с клеточной трансплантацией начало восстановления активности креатинкиназы было более ранним: к 4 часам, аналогично ЛДГ 1, уровень активности КК был достоверно выше, чем в контрольной группе. В последующие сроки эксперимента значения активности КК в группе с трансплантацией достигали исходных значений и были более высокими, чем без трансплантации. Таким образом, креатинкиназная система транспорта фосфата к месту ресинтеза и использования АТФ восстанавливалась раньше и была более активной в группе с клеточной трансплантацией.

К 4 часам происходило понижение суммарной активности АТФаз. В этот срок АТФазная активность в опытной группе была достоверно выше, а значит, ее гипоксическое подавление было менее выражено, чем в контрольной группе; дальнейшее восстановление было более интенсивным с максимумом к четырем часам. В контрольной группе восстановление АТФазной активности происходило в более поздние сроки, максимум отмечен на третьи сутки. Наблюдаемый в большинстве сроков исследования более высокий уровень АТФазной активности в миокарде у животных с клеточной трансплантацией свидетельствует о меньшем нарушении и более раннем восстановлении активного транспорта ионов через мембраны, что является условием для сохранения функции клетки и ее меньшего повреждения.

Таким образом, ферментативная активность в миокарде животных без трансплантации ниже, чем у животных с трансплантацией: в исследуемые сроки активность ЛДГ 1 и КК не восстанавливается до исходного уровня, а восстановление активности АТФаз происходит в

более позднее время. Это свидетельствует о состоянии, сходном с «оглушенностью» миокарда [5]. Механизм понижения активности метаболических процессов в миокарде является адаптивным и направлен на то, чтобы, экономно расходуя энергетические ресурсы, ограничить их истощение, сохранить и пролонгировать жизнедеятельность обратимо поврежденных кардиомиоцитов, и тем самым ограничить повреждение клетки, сохранить резерв, необходимый для последующего восстановления. Но с «оглушением» и «гибернацией» миокарда связан механизм развития сердечной недостаточности. «Оглушение» миокарда приводит к дисфункции левого желудочка, а по мере развивающихся структурных изменений – к сердечной недостаточности.

Степень и продолжительность метаболического «оглушения» зависят от выраженности и длительности стресса и ишемии. Следовательно, можно предполагать, что в группе с трансплантацией данные процессы менее выражены и менее продолжительны.

### **Выводы**

1. Клеточная трансплантация ксеногенных неонатальных сердечных клеток при адреналиновом повреждении миокарда способствовала ограничению стрессового/ишемического метаболического «оглушения» миокарда и более быстрому и значительному восстановлению активности ферментов.

2. Трансплантация ксеногенных неонатальных сердечных клеток при адреналиновом повреждении миокарда способствовала меньшему торможению и раннему восстановлению активности мембранных белков АТФаз; следовательно – ограничению и более быстрому восстановлению активного мембранного транспорта ионов.

3. Раннее восстановление активности фермента ЛДГ 1 при трансплантации предполагает более оптимальные условия его функционирования (менее гипоксические) и более высокую активность гликолитических процессов в данной группе.

4. Креатинкиназная система транспорта фосфата АТФ претерпевала меньшую инактивацию, раньше восстанавливалась и значительно активировалась также в группе с клеточной трансплантацией.

## Литература

1. Атеросклероз и клеточная терапия / под ред. А. А. Руновича, Ю. И. Пивоварова, Т. Е. Курильской. – Иркутск, 2005. – 304 с.
2. Беленков Ю. Н. Стволовые клетки и их применение для регенерации миокарда. Журнал сердечная недостаточность / Ю. Н. Беленков [и др.] // Журн. серд. недост. – 2003, – Т. 4, № 4. – С. 168–173.
3. Биленко М. В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов / Биленко М. В. – М.: Медицина, 1989. – 368 с.
4. Бокерия Л. А. Первый опыт применения стволовых клеток костного мозга для регенерационной терапии ишемической болезни сердца / Л. А. Бокерия [и др.] // Кардиология. – 2004. – № 9. – С. 16–22.
5. Бушмелев А. С. Негомогенность жизнеспособного миокарда / А. С. Бушмелев // Журн. серд. недост. – 2003. – Т. 3, № 6. – С. 318–321.
6. Вермель А. Е. Стволовые клетки: общая характеристика и перспективы применения в клинической практике / А. Е. Вермель // Клиническая медицина. – 2004. – № 1. – С. 5–11.
7. Литвицкий П. Ф. Патогенные и адаптивные изменения в сердце при его регионарной ишемии и последующем возобновлении коронарного кровотока / П. Ф. Литвицкий // Патологич. физиол. и эксперим. терапия. – 2002. – № 2. – С. 2–12.
8. Пшенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М. Г. Пшенникова // Патологич. физиол. и эксперим. терапия. – 2000. – № 4. – С. 21–31.
9. Шумаков В. И. Первый опыт клинического применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для восстановления сократительной функции миокарда / В. И. Шумаков [и др.] / Российский кардиолог. журн. – 2003. – № 5. – С. 42–50.
10. Huang H.-Y. Di-er junyi daxue xuebao / H.-Y. Huang [et al.] // Acad. J. Second Mil. Univ. – 2004. – Vol. 25, № 9. – С. 950–955.
11. Orlic D. Stem cells for myocardial regeneration / D. Orlic, J. M. Hill, A. E. Arai // Circ. Res. – 2002. – Vol. 91. – P. 1092–1102.

## The impact of cells therapy on the metabolic activity of myocardium in the adrenal stress

S. L. Bogorodskaya<sup>1</sup>, S. N. Clinova<sup>1</sup>, M. B. Mikashova<sup>1</sup>, I. N. Gutnik<sup>2</sup>, J. I. Pivovarov<sup>1</sup>, T. E. Kuril'skaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The Science Centre of the Reconstructive and Restorative Surgery of the East-Siberian Science Centre SB RAMS, Irkutsk

<sup>2</sup> Irkutsk State University, Irkutsk

**Abstract.** The authors studied the impact of xenogenic neonatal heart cells on the enzyme processes in the myocardium of rats with the adrenal injury. It was stated that heart cells transplantation promoted the limitation of the enzymatic activity suppression in myocardium and her more quick restoration.

**Key words:** myocardium, enzymes, adrenalin, cells transplantation.

*Богородская Светлана Леонидовна  
ГУ Научный Центр реконструктивной  
и восстановительной хирургии Восточно-  
Сибирского научного центра СО РАМН  
664079, г. Иркутск, м/р Юбилейный, 100, а/я 23  
кандидат биологических наук  
зав. лабораторией биохимии  
тел. (395 2) 46–52–70, факс (395 2) 46–53–31  
E-mail: sbogorodskaya@mail.ru*

*Bogorodskaya Svetlana Leonidovna  
The Science Centre of the Reconstructive  
and Restorative Surgery of the East-Siberian Science  
Centre SB RAMS  
664079, Irkutsk, 100, Yubileyny  
Ph. D. in Biology, Head of Laboratory of Biochemistry  
phone: (395 2) 46–52–70, fax: (395 2) 46–53–31  
E-mail: sbogorodskaya@mail.ru*

*Клинова Светлана Николаевна  
ГУ Научный Центр реконструктивной  
и восстановительной хирургии Восточно-  
Сибирского научного центра СО РАМН  
664079, г. Иркутск, м/р Юбилейный, 100, а/я 23  
аспирант Иркутский государственный университет  
младший научный сотрудник лаборатории биохимии  
тел. (395 2) 46–52–70, факс (395 2) 46–53–31*

*Klinova Svetlana Nikolaevna  
The Science Centre of the Reconstructive  
and Restorative Surgery of the East-Siberian Science  
Centre SB RAMS  
664079, Irkutsk, 100, Yubileyny  
doctoral student, research scientist  
Laboratory of Biochemistry  
phone:(395 2) 46–52–70, fax: (395 2) 46–53–31*

*Микашова Марина Борисовна*  
ГУ Научный Центр реконструктивной  
и восстановительной хирургии Восточно-  
Сибирского научного центра СО РАМН  
664079, г. Иркутск, м/р Юбилейный, 100, а/я 23  
младший научный сотрудник лаборатории биохимии  
тел. (395 2) 46-52-70, факс (395 2) 46-53-31

*Гутник Игорь Нерисович*  
Иркутский государственный университет  
664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1  
доктор биологических наук  
профессор, зав. кафедрой  
физиологии и психифизиологии  
тел. (395 2) 24-34-93, факс (395 2) 24-22-38

*Пивоваров Юрий Иванович*  
ГУ Научный Центр реконструктивной  
и восстановительной хирургии Восточно-  
Сибирского научного центра СО РАМН  
664079, г. Иркутск, м/р Юбилейный, 100, а/я 23  
доктор медицинских наук, профессор  
ведущий научный сотрудник отдела коронарного  
атеросклероза  
тел. (395 2) 46-52-70, факс (395 2) 46-53-31

*Курильская Татьяна Ефимовна*  
ГУ Научный Центр реконструктивной  
и восстановительной хирургии Восточно-  
Сибирского научного центра СО РАМН  
664079, г. Иркутск, м/р Юбилейный, 100, а/я 23  
доктор медицинских наук  
руководитель отдела коронарного атеросклероза  
тел. (395 2) 46-52-70, факс (395 2) 46-53-31

*Mikashova Marina Borisovna*  
The Science Centre of the Reconstructive  
and Restorative Surgery of the East-Siberian Science  
Centre SB RAMS  
664079, Irkutsk, 100, Yubileyny  
research scientist  
Laboratory of Biochemistry  
phone: (395 2) 46-52-70, fax: (395 2) 46-53-31

*Gutnik Igor Nerisovitch*  
Irkutsk State University  
664011, Irkutsk, 1, K. Marksa St.  
D. Sc. in Biology, Prof, Head of Department of  
Physiology and Psychophysiology  
phone: (395 2) 24-34-93, fax: (395 2) 24-22-38

*Pivovarov Yury Ivanovitch*  
The Science Centre of the Reconstructive  
and Restorative Surgery of the East-Siberian Science  
Centre SB RAMS  
664079, Irkutsk, 100, Yubileyny  
D. Sc. in Medicine, Prof., leading research scientist  
Department of  
Coronary Atherosclerosis  
phone: (395 2) 46-52-70, fax: (395 2) 46-53-31

*Kurilskaya Tatiana Efimovna*  
The Science Centre of the Reconstructive  
and Restorative Surgery of the East-Siberian Science  
Centre SB RAMS  
664079, Irkutsk, 100, Yubileyny  
D. Sc. in Medicine, Prof, Head of Department of  
Coronary Atherosclerosis  
phone: (395 2) 46-52-70, fax: (395 2) 46-53-31