



**Благонравов Михаил Львович** — доктор медицинских наук.

Профессор кафедры общей патологии и патологической физиологии медицинского факультета Российского университета дружбы народов.

Автор более 100 научных работ.

Круг научных интересов: патофизиология сердечно-сосудистой системы, программированная клеточная гибель, хронобиология и хрономедицина.



**Азова Мадина Мухамедовна** — доктор биологических наук, доцент.

Доцент-исследователь кафедры биологии и общей генетики медицинского факультета Российского университета дружбы народов.

Автор более 80 научных и учебно-методических работ.

Круг научных интересов: программированная клеточная гибель, молекулярная биология и медицинская генетика.



**Фролов Виктор Алексеевич** — доктор медицинских наук, профессор.

Заведующий кафедрой общей патологии и патологической физиологии медицинского факультета Российского университета дружбы народов, заслуженный деятель науки РФ.

Автор более 450 публикаций, среди которых 11 монографий и 8 книг биографического и культурно-исторического цикла.

Круг научных интересов: патофизиология клетки, патофизиология сердца, хронобиология и хрономедицина.

ISBN 978-5-4235-0125-9



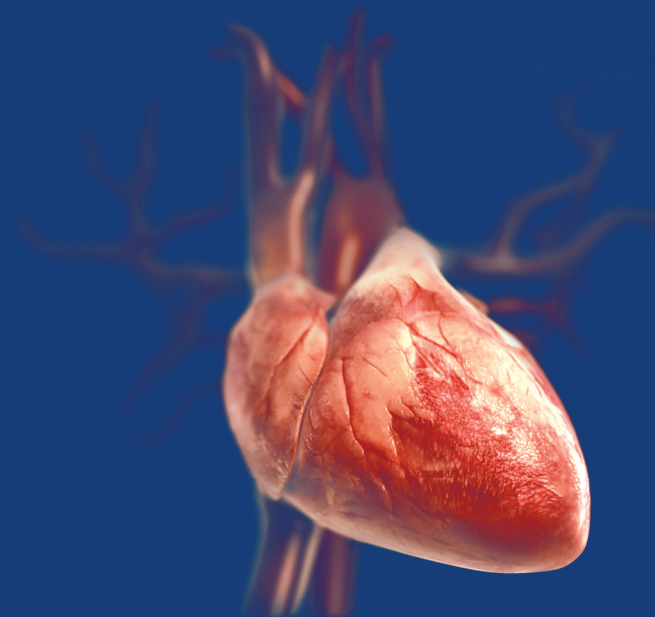
9 785423 501259 >

[www.geotar.ru](http://www.geotar.ru)  
[www.medknigaservis.ru](http://www.medknigaservis.ru)

М.Л. Благонравов,  
М.М. Азова, В.А. Фролов

ПРОГРАММИРОВАННАЯ КЛЕТОЧНАЯ  
ГИБЕЛЬ В ПАТОЛОГИИ СЕРДЦА

М.Л. Благонравов, М.М. Азова, В.А. Фролов  
**ПРОГРАММИРОВАННАЯ  
КЛЕТОЧНАЯ ГИБЕЛЬ  
В ПАТОЛОГИИ СЕРДЦА**



Litterra



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА  
«ГЭОТАР-Медиа»



**М.Л. Благонравов, М.М. Азова, В.А. Фролов**

# **ПРОГРАММИРОВАННАЯ КЛЕТОЧНАЯ ГИБЕЛЬ В ПАТОЛОГИИ СЕРДЦА**



**Москва**  
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА  
**«ГЭОТАР-Медиа»**  
**2013**



УДК 616.12-01  
ББК 54.101-2  
Б68

**Рецензенты:**

*Т.Т. Берёзов* — доктор медицинских наук, профессор, академик РАМН, заслуженный деятель науки РФ;

*Н.В. Яглова* — доктор медицинских наук.

**Благонравов М. Л., Азова М. М., Фролов В. А.**

Б68 Программированная клеточная гибель в патологии сердца: монография / М. Л. Благонравов, М. М. Азова, В. А. Фролов. — М. : Литтерра, 2013. — 272 с. : ил.

ISBN 978-5-4235-0125-9

Издание посвящено роли и месту программированной клеточной гибели в развитии различных по своей природе патологических процессов в сердце: токсического поражения миокарда, острой и хронической гемодинамической перегрузки, очаговой ишемии левого желудочка. Основное внимание уделено апоптотическим процессам в кардиомиоцитах, изучение которых проводилось с применением таких современных методик, как TUNEL (гистохимическая реакция на наличие фрагментированной ДНК), оценка активности каспазы-3 и каспазы-8 — ферментов, участвующих в реализации программы апоптоза. Представлен подробный анализ морфофункционального состояния сердца (при очаговой ишемии и острой гемодинамической перегрузке левого желудочка, при токсическом поражении миокарда) и гипертрофических процессов при хронической перегрузке сердца, обусловленной артериальной гипертензией различного генеза. Материал основан на результатах экспериментальных исследований, проведенных на соответствующих моделях повреждения миокарда с использованием лабораторных животных: кроликов и крыс. В обзоре литературы отражены современные представления о механизмах программированной клеточной гибели и ее связи с патологией сердечно-сосудистой системы. Книга содержит большое количество иллюстративного материала, включая таблицы, графики и цветные фотографии макро- и микропрепаратов.

Предназначено для специалистов, занимающихся проблемами патологии сердечно-сосудистой системы, студентов, ординаторов и аспирантов медицинских вузов.

УДК 616.12-01  
ББК 54.101-2

ISBN 978-5-4235-0125-9

© Благонравов М.Л., Азова М.М., Фролов В.А., 2013  
© ООО Издательство «Литтерра», оформление, 2013

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений и условных обозначений . . . . .	9
Введение . . . . .	11
<b>Глава 1. Программированная гибель клеток и ее роль в патологии сердечно-сосудистой системы (обзор литературы) . . . . .</b>	<b>15</b>
1.1. Особенности изменений тканевого и клеточного гомеостаза миокарда при альтерации сердца различного генеза . . . . .	15
1.1.1. Структурные и метаболические изменения миокарда, вызванные перегрузкой сердца . . . . .	16
1.1.2. Морфобиохимические изменения миокарда, обусловленные очаговой ишемией левого желудочка. . . . .	19
1.1.3. О некоторых морфологических и патогенетических особенностях диффузных процессов в сердце . . . . .	21
1.2. Современные представления о механизмах клеточной гибели . . . . .	23
1.2.1. Механизмы инициации и реализации апоптотической программы в клетках . . . . .	24
1.2.2. Современные методы исследования апоптоза. . . . .	33
1.2.3. Особенности и некоторые механизмы аутофагии. . . . .	35
1.3. Апоптоз и другие формы программированной гибели кардиомиоцитов в условиях патологии сердечно-сосудистой системы . . . . .	37
1.3.1. Апоптоз кардиомиоцитов при гемодинамической перегрузке сердца. . . . .	38
1.3.2. Апоптоз кардиомиоцитов при ишемическом повреждении миокарда левого желудочка . . . . .	50
1.3.3. Апоптоз кардиомиоцитов при воспалительных и дистрофических заболеваниях миокарда . . . . .	52
1.3.4. Аутофагия кардиомиоцитов при различных заболеваниях сердечно-сосудистой системы . . . . .	56
1.4. Современные подходы к медикаментозной супрессии апоптоза . . . . .	58
1.5. Заключение . . . . .	66
<b>Глава 2. Материал и методы исследования . . . . .</b>	<b>67</b>
2.1. Характеристика групп экспериментальных животных. . . . .	67
2.2. Экспериментальная модель острой гемодинамической перегрузки левого желудочка . . . . .	70

2.3. Экспериментальная модель очагового ишемического повреждения миокарда левого желудочка . . . . .	71
2.4. Экспериментальная модель диффузного поражения сердечной мышцы . . . . .	72
2.5. Экспериментальная модель вторичной артериальной гипертензии . . . . .	72
2.6. Экспериментальная модель эссенциальной артериальной гипертензии . . . . .	73
2.7. Методы исследования функционального состояния сердечно-сосудистой системы . . . . .	74
2.7.1. Методика регистрации артериального давления у кроликов . . . . .	76
2.7.2. Методика анализа пульсовой волны . . . . .	76
2.7.3. Методика исследования сократительной функции сердца . . . . .	77
2.7.4. Методика исследования электрической активности сердца . . . . .	78
2.8. Регистрация артериального давления у крыс . . . . .	78
2.9. Морфологические методы исследования . . . . .	79
2.9.1. Методика морфологического исследования миокарда в полутонких срезах . . . . .	79
2.9.2. Методика морфологического исследования апоптоза кардиомиоцитов . . . . .	79
2.9.3. Методика гистохимического исследования апоптоза кардиомиоцитов . . . . .	80
2.9.4. Оценка степени гипертрофии миокарда . . . . .	81
2.10. Биохимическое исследование апоптоза клеток миокарда . . . . .	81
2.11. Статистическая обработка данных . . . . .	82
<b>Глава 3. Особенности системной гемодинамики, морфофункциональное состояние сердца и апоптоз кардиомиоцитов при очаговой ишемии левого желудочка . . . . .</b>	<b>84</b>
3.1. Характеристика состояния системной гемодинамики при очаговом ишемическом повреждении левого желудочка . . . . .	85
3.1.1. Анализ центрального артериального давления при очаговой ишемии левого желудочка . . . . .	85
3.2. Влияние очагового ишемического повреждения миокарда левого желудочка на функциональное состояние сердца . . . . .	87
3.2.1. Функциональное состояние левого желудочка при его ишемическом повреждении . . . . .	87
3.2.2. Функциональное состояние правого желудочка при очаговом ишемическом повреждении левого желудочка . . . . .	88

3.2.3. Хронобиологические особенности возникновения фибрилляции сердца при очаговой ишемии левого желудочка . . . . .	89
3.2.4. Влияние острой коронарной недостаточности на функциональное состояние желудочков сердца . . . . .	92
3.3. Характеристика морфологического состояния миокарда при очаговом ишемическом повреждении левого желудочка. . .	93
3.3.1. Морфологическая картина левого желудочка . . . . .	93
3.3.2. Морфологическая картина правого желудочка . . . . .	96
3.4. Морфологическая оценка интенсивности апоптоза кардиомиоцитов при очаговой ишемии левого желудочка . . .	102
3.5. Иммуногистохимическая оценка апоптоза кардиомиоцитов при очаговой ишемии левого желудочка . . . . .	104
3.5.1. Результаты иммуногистохимической реакции TUNEL в миокарде левого желудочка . . . . .	104
3.5.2. Результаты иммуногистохимической реакции TUNEL в миокарде правого желудочка . . . . .	105
3.6. Биохимическое исследование апоптоза кардиомиоцитов при очаговой ишемии левого желудочка . . . . .	106
3.6.1. Активность некоторых ферментов каспазного каскада в миокарде левого желудочка . . . . .	106
3.6.2. Активность некоторых ферментов каспазного каскада в миокарде правого желудочка . . . . .	107
3.7. О возможных механизмах индукции апоптоза КМЦ при очаговом ишемическом повреждении левого желудочка. . . .	109
3.8. Заключение . . . . .	112
<b>Глава 4. Особенности системной гемодинамики, морфофункциональное состояние сердца и апоптоз кардиомиоцитов при диффузном токсическом поражении миокарда . . . . .</b>	<b>113</b>
4.1. Характеристика состояния системной гемодинамики при дифтерийной интоксикации . . . . .	115
4.1.1. Анализ центрального артериального давления при дифтерийной интоксикации . . . . .	115
4.1.2. Анализ пульсовой волны . . . . .	115
4.2. Влияние диффузного поражения миокарда на функциональное состояние сердца. . . . .	116
4.2.1. Функциональное состояние левого желудочка при дифтерийной интоксикации . . . . .	116
4.2.2. Функциональное состояние правого желудочка при дифтерийной интоксикации . . . . .	117

---

4.3. Характеристика морфологического состояния миокарда при дифтерийной интоксикации . . . . .	118
4.3.1. Морфологическая картина миокарда левого желудочка . . . . .	118
4.3.2. Морфологическая картина миокарда правого желудочка . . . . .	122
4.4. Морфологическая оценка интенсивности апоптоза кардиомиоцитов при дифтерийной интоксикации . . . . .	126
4.5. Иммуногистохимическая оценка апоптоза кардиомиоцитов при дифтерийной интоксикации . . . . .	128
4.5.1. Результаты иммуногистохимической реакции TUNEL в миокарде левого желудочка . . . . .	128
4.5.2. Результаты иммуногистохимической реакции TUNEL в миокарде правого желудочка . . . . .	129
4.6. Биохимическое исследование апоптоза кардиомиоцитов при дифтерийной интоксикации . . . . .	130
4.6.1. Активность некоторых ферментов каспазного каскада в миокарде левого желудочка . . . . .	130
4.6.2. Активность некоторых ферментов каспазного каскада в миокарде правого желудочка . . . . .	131
4.7. Исследование интенсивности перекисного окисления липидов в миокарде левого желудочка при дифтерийной интоксикации. . . . .	132
4.8. Об особенностях влияния токсического повреждения сердца на механизмы апоптотической гибели кардиомиоцитов . . . . .	133
4.9. Заключение . . . . .	137
<b>Глава 5. Особенности системной гемодинамики, морфофункциональное состояние сердца и апоптоз кардиомиоцитов при острой гемодинамической перегрузке левого желудочка . . . . .</b>	<b>138</b>
5.1. Характеристика состояния системной гемодинамики при острой перегрузке левого желудочка . . . . .	139
5.1.1. Анализ центрального артериального давления при острой перегрузке левого желудочка . . . . .	139
5.2. Влияние острой гемодинамической перегрузки левого желудочка на функциональное состояние сердца. . . . .	141
5.2.1. Функциональное состояние левого желудочка при стенозировании восходящей аорты . . . . .	141
5.2.2. Функциональное состояние правого желудочка при стенозировании восходящей аорты . . . . .	142

5.3. Характеристика морфологического состояния миокарда при острой гемодинамической перегрузке левого желудочка . . . .	143
5.3.1. Морфологическая картина миокарда левого желудочка . . . . .	143
5.3.2. Морфологическая картина миокарда правого желудочка . . . . .	146
5.4. Морфологическая оценка интенсивности апоптоза кардиомиоцитов при острой гемодинамической перегрузке левого желудочка . . . . .	151
5.5. Иммуногистохимическая оценка апоптоза кардиомиоцитов при острой гемодинамической перегрузке левого желудочка . . . . .	152
5.5.1. Результаты иммуногистохимической реакции TUNEL в миокарде левого желудочка . . . . .	152
5.5.2. Результаты иммуногистохимической реакции TUNEL в миокарде правого желудочка . . . . .	154
5.6. Биохимическое исследование апоптоза кардиомиоцитов при острой гемодинамической перегрузке левого желудочка . . . .	155
5.6.1. Активность некоторых ферментов каспазного каскада в миокарде левого желудочка . . . . .	155
5.6.2. Активность некоторых ферментов каспазного каскада в миокарде правого желудочка . . . . .	157
5.7. Пути реализации апоптотической программы кардиомиоцитов при острой перегрузке левого желудочка. Роль нарушений морфофункционального состояния сердца . . .	159
5.8. Заключение . . . . .	161

<b>Глава 6. Апоптоз и гипертрофия кардиомиоцитов при хронической гемодинамической перегрузке левого желудочка . . . . .</b>	<b>163</b>
6.1. Апоптотические и гипертрофические процессы в миокарде в динамике вазоренальной артериальной гипертензии . . . . .	163
6.1.1. Апоптоз кардиомиоцитов в динамике вазоренальной артериальной гипертензии . . . . .	164
6.1.2. Гипертрофия миокарда в динамике вазоренальной артериальной гипертензии . . . . .	166
6.2. Апоптотические и гипертрофические процессы в миокарде в динамике генетически обусловленной артериальной гипертензии . . . . .	170
6.2.1. Апоптоз кардиомиоцитов в динамике генетически обусловленной артериальной гипертензии . . . . .	171
6.2.2. Гипертрофия миокарда в динамике генетически обусловленной артериальной гипертензии . . . . .	173



6.3. Влияние экзогенного фосфокреатина на апоптоз и гипертрофию кардиомиоцитов при артериальной гипертензии различного генеза. . . . .	174
6.3.1. Влияние экзогенного фосфокреатина на апоптоз и гипертрофию кардиомиоцитов при вазоренальной артериальной гипертензии. . . . .	175
6.3.2. Влияние экзогенного фосфокреатина на апоптоз и гипертрофию кардиомиоцитов при генетически обусловленной артериальной гипертензии. . . . .	177
6.4. Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола*) на апоптоз и гипертрофию кардиомиоцитов при артериальной гипертензии различного генеза. . . . .	179
6.4.1. Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола*) на апоптоз и гипертрофию кардиомиоцитов при вазоренальной артериальной гипертензии. . . . .	180
6.4.2. Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола*) на апоптоз и гипертрофию кардиомиоцитов при генетически обусловленной артериальной гипертензии. . . . .	182
6.5. Влияние блокады ETA-рецепторов на апоптоз и гипертрофию кардиомиоцитов при генетически обусловленной артериальной гипертензии. . . . .	185
6.6. О возможных механизмах инициации и реализации апоптоза кардиомиоцитов при артериальной гипертензии различного генеза. . . . .	187
6.6.1. Особенности реализации апоптотической гибели кардиомиоцитов при артериальной гипертензии различного генеза. . . . .	188
6.6.2. Энергетический дефицит как возможный фактор индукции апоптоза клеток миокарда при артериальной гипертензии. . . . .	193
6.6.3. Роль окислительного стресса в инициации апоптотической гибели кардиомиоцитов при артериальной гипертензии. . . . .	195
6.6.4. Об особенностях влияния эндотелина-1 на апоптоз кардиомиоцитов при генетически обусловленной артериальной гипертензии. . . . .	197
6.7. Заключение. . . . .	199
<b>Список литературы. . . . .</b>	<b>200</b>

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- ♣ — торговое название лекарственного средства
- ∅ — лекарственное средство не зарегистрировано в Российской Федерации
- АГ — артериальная гипертензия
- АД — артериальное давление
- АДФ — аденозиндифосфат
- АКДС — вакцина для профилактики дифтерии, коклюша и столбняка [вакцина коклюшно-дифтерийно-столбнячная адсорбированная (АКДС-вакцина)♣]
- АПФ — ангиотензин-превращающий фермент
- АТ — ангиотензин
- АТФ — аденозинтрифосфат
- АФК — активные формы кислорода
- ВД — внутрижелудочковое давление
- ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения
- ВРПВ — время распространения пульсовой волны
- ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия
- ДКМП — дилатационная кардиомиопатия
- ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИБС — ишемическая болезнь сердца
- ИЛ — интерлейкин
- ИФА — иммуноферментный анализ
- КДД — конечное диастолическое давление
- КМЦ — кардиомиоцит
- ЛЖ — левый желудочек
- МКБ — Международная классификация болезней
- НАДФ — никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат
- ПЖ — правый желудочек
- ПКГ — программированная клеточная гибель
- РНК — рибонуклеиновая кислота
- ФНО- $\alpha$  — фактор некроза опухолей альфа
- ФР — функциональный резерв
- ХСН — хроническая сердечная недостаточность
- ЯЦО — ядерно-цитоплазматическое отношение
- AIF (от англ. apoptosis-inducing factor) — индуктор апоптоза
- ANT — adenine nucleotide translocator
- Apaf-1 — apoptotic protease activating factor-1

- Bak — Bcl-2 homologous antagonist/killer  
Bax — Bcl-2-associated X protein  
Bcl-2 — B-cell lymphoma 2  
BH — Bcl-2 homology domain  
CAD — caspase-activated DNase  
DLM (от англ. dosis letalis minima) — минимальная летальная доза  
ERK — extracellular-signal-regulated kinases  
ET — эндотелин  
ETA — рецептор типа А к эндотелину-1  
ETB — рецептор типа В к эндотелину-1  
FLIP — FLICE-like inhibitory protein  
IAP — inhibitors of apoptosis proteins  
MPT-пора (от англ. mitochondrial permeability transition pore) — пора, вызывающая переход мембраны митохондрии в состояние высокой проницаемости  
pH — водородный показатель  
PKC — protein kinase C  
PUMA — p53 upregulated modulator of apoptosis  
SHR (от англ. spontaneously hypertensive rats) — спонтанно гипертензивные крысы  
Smac/DIABLO — second mitochondria-derived activator of caspase/direct IAP-binding protein with low  
TUNEL — terminal deoxynucleotide nick-end labeling  
VDAC — voltage-dependent anion channel  
WHO — World Health Organization

## ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно в мире от сердечно-сосудистых заболеваний умирают более 16,5 млн человек, что составляет 29,3% общей смертности. При этом на долю ишемической болезни сердца (ИБС), гипертензивного и воспалительного поражения сердца суммарно приходится 14,9% [WHO, 2004].

При длительном течении многих видов патологии сосудов и сердца с высокой долей вероятности происходит формирование хронической сердечной недостаточности (ХСН), которая на сегодняшний день стала одной из самых распространенных и вместе с тем до конца не решенных проблем клинической медицины. Так, 5- и 10-летняя выживаемость больных с ХСН составляет 50 и 10% соответственно [MacIntyre K. et al., 2000; Cowie M.R. et al., 2000; Mosterd A. et al., 2001], а при дисфункции левого желудочка (ЛЖ) значительно увеличивается риск внезапной сердечной смерти [Chugh S.S. et al., 2008].

Применяемые в современной кардиологической практике медикаментозные средства, оказывающие влияние на патогенез основного заболевания или корректирующие проявления сердечной недостаточности, дают, как правило, лишь временный эффект. На этом фоне неизбежным последствием хронического воздействия на сердце патогенного фактора является прогрессирующее снижение количества жизнеспособных кардиомиоцитов (КМЦ). В этой связи в последнее десятилетие в число приоритетных задач фундаментальных исследований в области экспериментальной и клинической кардиологии устойчиво входит поиск возможных способов преодоления нарушений тканевого гомеостаза сердечной мышцы.

В настоящее время практически не вызывает сомнения тот факт, что определенные патологические процессы в сердечно-сосудистой системе могут сопровождаться как некрозом КМЦ, так и индукцией программированной клеточной гибели (ПКГ) — апоптоза или аутофагии.

Апоптоз представляет одну из форм клеточной гибели, свойственную эукариотическим организмам, находящимся на разных ступенях

эволюционного развития [Гордеева А.В. и др., 2004]. Это регулируемый процесс, сопровождающийся изменением экспрессии определенных генов и формированием специфического клеточного фенотипа, обеспечивающий тканевый гомеостаз и, главное, постоянство генетического материала [Elmore S., 2007]. Нарушения в механизмах инициации и реализации апоптотической гибели клеток могут способствовать развитию различных патологических процессов, особенно если это касается клеток с низким пролиферативным потенциалом, к числу которых относятся и КМЦ [Favaloro B. et al., 2012]. В этой связи в последние десятилетия интерес ученых во всем мире привлекает исследование роли гибели КМЦ в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Показано, что активность апоптотических процессов повышается в миокарде при артериальной гипертензии (АГ) [González A. et al., 2006], на фоне прогрессирующей дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) [Лушникова Е.Л. и др., 2006], аритмогенной правожелудочковой дисплазии [Цыпленкова В.Г. и др., 2007], а также при миокардитах [Kytö V. et al., 2004]. Относительно роли ПКГ в изменении морфологии миокарда при его ишемическом повреждении однозначного мнения среди исследователей нет. В одних публикациях отмечается, что очаговая ишемия сопровождается усилением апоптоза КМЦ [Рыбакова М.Г. и др., 2005; Abbate A. et al., 2007], однако другие авторы придерживаются противоположной точки зрения [Takemura G. et al., 2006]. Некоторое время назад появились данные, свидетельствующие о том, что при ишемии ЛЖ апоптотической гибели подвергаются также КМЦ правого желудочка (ПЖ) [Abbate A. et al., 2008]. Что касается апоптоза КМЦ при воздействии на миокард кардиотоксических веществ, по этому вопросу пока очень мало сведений как в российской, так и в зарубежной литературе. Наиболее многочисленные и при этом согласующиеся друг с другом результаты, свидетельствующие об усилении апоптоза КМЦ, были получены при изучении гипертонического повреждения миокарда. Вместе с тем на сегодняшний день в литературе практически отсутствуют данные о возможном участии апоптотических процессов в морфологической перестройке ЛЖ при адаптации сердца к внезапному повышению систолического сопротивления, которое наблюдается, в частности, при некоторых формах гипертонического криза. Необходимо также отметить, что в большинстве работ, опубликованных на сегодняшний день, исследовался сам факт индукции апоптотических процессов на основе выявления тех или иных специфических маркеров, в то время как механизмы апоптогенной сигнальной трансдукции в клетках миокарда изучены недостаточно.

Альтернативным вариантом ПКГ является аутофагия, которая сопровождается образованием в цитоплазме аутофагосом, содержащих продукты деградации митохондрий и других интрацеллюлярных субстанций. В отличие от апоптоза аутофагия не связана с каспазными механизмами и опосредуется катепсиновыми белками и протеазами лизосом [Lockshin R.A. et al., 2002; Bröker L.E. et al., 2005]. Считается, что подобный способ элиминации больше характерен для клеток, не способных к самовоспроизведению: для КМЦ, нейронов [Larsen K.E. et al., 2002; Terman A. et al., 2005]. Интенсификация аутофагии КМЦ происходит при некоторых формах кардиомиопатии [Martinet W. et al., 2007; Tannous P. et al., 2008], при гипертензивной перегрузке сердца [Rothenmel B.A. et al., 2008], а также на фоне гибернации миокарда [Slezak J. et al., 2009].

В связи с тем что в естественных условиях КМЦ млекопитающих обладают крайне низким потенциалом к регенерации, сравнительно недавно получила распространение концепция, согласно которой индукцию апоптоза КМЦ предлагается расценивать в качестве одного из факторов, опосредующих переход от первичной альтерации миокарда к развитию ХСН при некоторых заболеваниях сердца [Petrovic D., 2004; Sharmaetal A.K., 2007]. Подобное видение проблемы во многом определило дальнейший вектор научных исследований, направленных на разработку методов лечения ХСН. В настоящее время предлагаются разные способы прямого подавления апоптоза, в том числе ингибирование каспаз и блокада Fas-рецепторов [Fischer U., Schulze-Osthoff K., 2005]. Однако неселективная супрессия апоптотической гибели может привести к сохранению в организме генетически дефектных и функционально неполноценных клеток. Следует учитывать и тот факт, что усиление апоптоза указывает на существенные нарушения физиологических внутриклеточных процессов, поэтому более целесообразно исследовать возможности подавления не самой гибели клеток, а механизмов, создающих условия для индукции данного процесса. Фундаментом для разработки обоснованных подходов к данной проблеме является поиск как общих закономерностей, определяющих роль и место ПКГ КМЦ, так и конкретных патогенетических механизмов, опосредующих индукцию апоптотических процессов. Исследованию данных имеющих важное фундаментальное и прикладное значение аспектов гибели клеток миокарда при патологии сердечно-сосудистой системы и посвящена представленная вашему вниманию работа.

Современное состояние проблемы позволяет допустить в качестве гипотезы, что усиление апоптоза КМЦ является неспецифическим ответом миокарда на воздействие патогенного фактора. В этой связи

настоящее исследование проводилось в русле разрабатываемой в течение многих лет на кафедре общей патологии и патологической физиологии РУДН концепции о типовых реакциях альтерированного сердца [Фролов В.А., 1967; Билибин Д.П., 1987; Фролов В.А. и соавт., 1995].

*Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. (гос. контракт № 02.740.11.0440 от 30 сентября 2009 г., гос. контракт № П1258 от 27 августа 2009 г., гос. контракт № П1302 от 9 июня 2010 г.).*

## **ПРОГРАММИРОВАННАЯ ГИБЕЛЬ КЛЕТОК И ЕЕ РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

---

### **1.1. ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ТКАНЕВОГО И КЛЕТОЧНОГО ГОМЕОСТАЗА МИОКАРДА ПРИ АЛЬТЕРАЦИИ СЕРДЦА РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА**

Согласно Международной статистической классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), к началу XXI в. насчитывалось 282 заболевания сердечно-сосудистой системы [Московский центр ВОЗ, 2003]. Очевидно, что многие из них становятся причиной развития ХСН, от которой только в РФ ежегодно умирает от 880 до 986 тыс. пациентов [Мареев В.Ю. и др., 2006]. Согласно данным Фрамингемского исследования, этиологические факторы формирования ХСН у мужчин распределяются следующим образом: гипертония — 30%, гипертония + ИБС — 40%, ИБС — 19%, некоронарогенные поражения — 9%, другие заболевания (включая пороки сердца) — 2% [Беленков Ю.Н. и др., 1999]. Следовательно, ведущее клиническое значение среди всех болезней сердца имеют ИБС и гипертензивное поражение миокарда.

К сожалению, по сей день во многих случаях не существует альтернативы хирургическому лечению пациентов кардиологического профиля, а широко применяемые методы консервативной терапии зачастую позволяют лишь замедлить течение основного патологического процесса, не обеспечивая полноценное восстановление нарушенных функций сердца. В этой связи не вызывает сомнения тот факт, что решение проблем современной клинической кардиологии во многом зависит от успехов фундаментально-научных исследований, направленных на поиск молекулярных и клеточных основ патогенеза болезней сосудов и сердца.

Накопленные в последние десятилетия данные позволили установить ряд закономерностей в развитии изменений гомеостаза миокарда при его повреждении различного генеза. Несмотря на упомянутое выше многообразие нозологических форм, в основе любого заболева-



ния сердца лежит один из трех типов патологических процессов, таких как очаговая ишемия, перегрузка, диффузное поражение (включая воспаление) или их сочетание. Остановимся на некоторых фактах и гипотезах, имеющих, на наш взгляд, принципиальное значение в свете изучаемой проблемы, объединив их в несколько групп, в той или иной мере соответствующих указанным вариантам альтерации сердечной мышцы.

### 1.1.1. СТРУКТУРНЫЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОКАРДА, ВЫЗВАННЫЕ ПЕРЕГРУЗКОЙ СЕРДЦА

Увеличение пред- и постнагрузки является одним из важнейших звеньев патогенеза целого ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы: АГ, врожденных и приобретенных пороков сердца, хронических обструктивных болезней легких, миокардитов и т.д. Развивающаяся при этом гипертрофия миокарда соответствующих отделов сердца имеет многофакторный характер [Степанов В.А. и др., 1998; Шляхто Е.В. и др., 2004] и определяется целым рядом особенностей, причем некоторые из них так или иначе могут быть связаны с механизмами инициации ПКГ КМЦ.

Наиболее типичным признаком перегрузочной гипертрофии миофибрилл является уплотнение сети микротрубочек, приводящее к нарушению сократительной функции клеток миокарда [Ishibashi Y. et al., 2003; Chengetal G., 2008; Cooper G., 2009]. На этом фоне происходит постсинтетическое превращение внеклеточного проколлагена в зрелые коллагеновые волокна под действием специфического протеина SPARC (secreted protein acidican richin cystein), в результате чего нарушается диастолическая функция ЛЖ [Bradshaw A.D. et al., 2009; McCurdy S. et al., 2010].

Важную роль в поддержании нормальной структуры и функции миокардиальной ткани играет трансмембранный протеин *нектин-2*. Отмечается, что у мышей с наследственно обусловленным дефицитом нектина-2 при гипертрофии, формирующейся в результате гемодинамической перегрузки ЛЖ, гораздо быстрее развивается интерстициальный фиброз, деструкция вставочных дисков, дезорганизация мышечных волокон и усиление апоптоза КМЦ [Satomi-Kobayashi S. et al., 2009; McMullen J.R., 2009].

Согласно многочисленным экспериментальным данным, при длительной перегрузке миокарда значительно нарушается кальциевый гомеостаз КМЦ [Díaz M.E. et al., 2004; Fowler M.R. et al., 2005; Carvalho B.M. et al., 2006; Ding Y.F. et al., 2008; Song L.J. et al., 2008]. В частности, АГ сопро-

вождается накоплением ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриальном матриксе клеток, что приводит к подавлению образования аденозинтрифосфата (АТФ) и развитию энергодифицита по причине разобщения процессов окисления и фосфорилирования [Постнов Ю.В., 2000; Будников Е.Ю. и др., 2002].

На поздних стадиях АГ недостаток энергии в КМЦ усугубляется за счет формирования так называемого комплекса изнашивания гипертрофированного сердца, в основе которого лежит отставание ангиогенеза и образования дополнительного количества митохондрий от роста мышечной массы [Пауков В.С., Фролов В.А., 1982].

При некоторых формах гипертонического криза, сопровождающихся резким и значительным повышением сопротивления сердечному выбросу, возникает острая перегрузка ЛЖ сердца. На этом фоне возможно развитие серьезных кардиальных осложнений, таких как острая левожелудочковая недостаточность, острый коронарный синдром [Верткин А.Л. и др., 2006; Задонченко В.С. и др., 2001]. В экспериментах на крысах линии Wistar было показано, что уже через 2 ч после введения преднизолона развивается острое ремоделирование ЛЖ, заключающееся в уменьшении плотности КМЦ и повышении плотности коллагена. В ПЖ аналогичные изменения развиваются через 6 ч, но выражены они глубже, чем в ЛЖ [Рубанова М.П. и др., 2010].

В экспериментальных исследованиях Y. Chen et al. (2010) было показано, что при моделировании аортокавального анастомоза у крыс в миокарде ЛЖ увеличивается содержание фактора некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ), а при его медикаментозной блокаде наблюдается снижение интенсивности воспалительного ответа на острую гемодинамическую перегрузку ЛЖ.

Значительная перегрузка сердца характерна также для аортального стеноза, при котором градиент систолического давления между полостью ЛЖ и аортой увеличивается до 20–100 мм рт.ст., а иногда и более [Моисеев В.С. и др., 2001]. В данном случае изменение параметров внутрисердечной гемодинамики имеет хронический характер. В последующем это приводит к формированию комплекса патоморфологических изменений миокарда, в частности к развитию концентрической гипертрофии, характеризующейся уменьшением соотношения конечного диастолического радиуса и толщины стенки ЛЖ при сохранении его нормальной формы [Krauenbuehl H.P. et al., 1988]. Характерно, что при кальцинированном аортальном стенозе усиление концентрического ремоделирования сочетается со снижением размеров и объемов полости ЛЖ, а увеличение последних обусловлено нарастанием массы миокарда ЛЖ [Казакова Т.В. и др., 2010].

При аортальном стенозе в миокарде ЛЖ развивается гипертрофия миофибрилл [Kraeynuehl H.P. et al., 1989] с увеличением количества микротрубочек и десминовых филаментов [Watkins S.C. et al., 1987; Zile M.R. et al., 2001], а также интерстициальный фиброз [Weidemann F. et al., 2009; Azevedo C.F. et al., 2010].

Увеличение массы миокарда при повышенной нагрузке на желудочки сердца также связывают с некоторыми цитокинами и факторами роста. Так, установлена роль трансформирующего фактора роста TGF-beta1 в патогенезе формирования гипертрофии ЛЖ [Lijnen P.J. et al., 2003; Моисеева О.М. и др., 2003; Rosenkranz S., 2004; Villar A.V. et al., 2009]. В некоторых исследованиях также было показано, что интерлейкин-6 (ИЛ-6), концентрация которого в крови повышается при АГ, вызывает утолщение миофибрилл, значительно увеличивает содержание коллагена в сердечной мышце [Meléndez G.C. et al., 2010].

В экспериментах *in vitro* также было установлено, что значительное утолщение КМЦ происходит под воздействием кардиотропина-1 (цитокина, относящегося к суперсемейству ИЛ-6), причем степень гипертрофии была существенно выше у спонтанно гипертензивных крыс (SHR — от англ. spontaneously hypertensive rats) по сравнению с крысами линии Wistar [López N. et al., 2006]. Кроме того, отмечается, что под влиянием кардиотропина-1 снижаются базальная сократительная активность КМЦ и инотропный эффект  $Ca^{2+}$  [Zolk O. et al., 2005]. Исследования *in vivo* продемонстрировали, что продукция кардиотропина-1 резко усилена в гипертрофированном миокарде ЛЖ у SHR [Ishikawa M. et al., 1999; López N. et al., 2006].

Не вызывает сомнения, что определенную роль в развитии гипертрофии миокарда, вызванной гемодинамической перегрузкой сердца, играют и наследственные факторы [Никитин О.П. и др., 1999; Arnett D.K. et al., 2004; Nogueira J.B., 2005; Barbosa M.E. et al., 2005; Vanden Boschetal V.J., 2006]. В частности, при гипертрофии ЛЖ у пациентов значительно чаще выявляется генотип Arg/Arg полиморфного маркера Gly398Arg гена ADRB1 [Минушкина Л.О. и др., 2010]. Обсуждается влияние полиморфизма гена PAC на увеличение мышечной массы ЛЖ [Кларпов Р.С. и др., 2001; Рязанов С.А., 2003].

Анализ представленных литературных данных свидетельствует о том, что в настоящее время основное внимание исследователей сосредоточено на механизмах воздействия на миокард хронической гемодинамической перегрузки различного генеза. Ведется активный поиск новых факторов, регулирующих развитие гипертрофии желудочков сердца и других изменений тканевого и клеточного гомеостаза. При этом состояние сердечной мышцы при остро возникающем значи-

тельном увеличении гемодинамической нагрузки по-прежнему мало изучено.

### **1.1.2. МОРФОБИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОКАРДА, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ОЧАГОВОЙ ИШЕМИЕЙ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

В российской и зарубежной литературе последних лет часто употребляются такие понятия, как «острый коронарный синдром» и «острая коронарная недостаточность», не являющиеся, строго говоря, синонимами. Острый коронарный синдром объединяет спектр заболеваний, включающих нестабильную стенокардию, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST и инфаркт миокарда без подъема сегмента ST [Achar S.A. et al., 2005]. Данный диагноз, таким образом, является предварительным и требует дальнейшей конкретизации после тщательного инструментального и лабораторного обследования пациента.

Под острой коронарной недостаточностью с очагами дистрофии понимают ограниченное транзиторное ишемическое повреждение миокарда без некроза, которое может носить обратимый характер (гибернированный миокард) [Моисеев В.М. и др., 2001; Борисенко В.Г. и др., 2010]. При гибернированном миокарде дефицита коронарного кровотока не достаточно для возникновения некроза, однако он может вызывать изменения рН, которые, в свою очередь, приведут к снижению сократительной функции КМЦ [Ferrari R. et al., 1992]. Клинически данная форма коронарной патологии мало отличается от мелкоочагового инфаркта миокарда. Вместе с тем для дальнейшего течения и исхода заболевания имеет большое значение, развился в миокарде очаг некроза или наблюдается обратимая дистрофия.

Необходимо отметить, что при очевидном инфаркте миокарда область макроскопически не поврежденной сердечной мышцы, находящаяся на границе с некрозом, также в той или иной степени подвергается морфологическим и ультраструктурным изменениям [Хлыстов В.В. и др., 1988; Убайдуллаева В.У. и др., 2010]. Имеются данные о развитии воспалительной инфильтрации в так называемой периинфарктной зоне ЛЖ [Abbate A. et al., 2004].

Гибернированный миокард характеризуется комплексом биохимических, морфологических и функциональных изменений. КМЦ начинают потреблять повышенное количество глюкозы. Их клеточные мембраны сохраняют структурную целостность [Heusch G. et al., 2005]. Также, по некоторым данным, клетки миокарда приобретают фетальные свойства и по своей морфологии напоминают КМЦ плода [Дедов И.И. и др., 2006].

Под действием ряда факторов роста (эндотелиальный фактор роста, фактор роста фибробластов 2 (FGF-2) и др.) в миокарде, находящемся в состоянии гибернации, стимулируются ангиогенез и гипертрофия жизнеспособных миофибрилл [Vatner S.F., 2005; Slezak J. et al., 2009].

В гибернированном миокарде также может развиваться воспалительный ответ, характеризующийся повышением продукции факторов хемотаксиса мононуклеаров, аккумуляцией лейкоцитов и макрофагов, способных вызывать альтерацию миокардиальной ткани и фибропластический процесс [Frangogiannis N.G. et al., 2002]. На этом фоне повышается активность интерстициальных фибробластов и экспрессия эмбриональной изоформы тяжелых цепей гладкомышечного миозина (SMemb) [Frangogiannis N.G. et al., 2002]. Кроме того, воспалительные механизмы при гибернации миокарда опосредуются ФНО- $\alpha$  и индуцируемой синтазой окиси азота iNOS, которые в случае превышения определенного порогового уровня могут привести к необратимым изменениям в клетках и их гибели [Sawyer D.B et al., 2002].

Существует предположение, что часть клеток при гибернации подвергается дегенеративным изменениям, а также ПКГ в результате гипоперфузии миокарда [Сергиенко В.Б. и др., 2008], что рассматривается рядом авторов в качестве механизма прогрессирования хронической аневризмы сердца [Соколова Р.И. и др., 2002; Цыпленкова В.Г., 2005].

Высказывается мнение, что механизмы, развивающиеся в гибернированном миокарде, могут иметь не только патогенетический, но и адаптационный потенциал [Heusch G. et al., 2002].

Инфаркт миокарда сопровождается развитием сложного комплекса воспалительных механизмов. После возникновения очага некроза в сердечной мышце повышается содержание провоспалительных цитокинов — ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ , которые могут влиять на жизнеспособность КМЦ и стимулировать индукцию дополнительных клеточных реакций [Deten A. et al., 2002]. Упомянутый ранее трансформирующий фактор роста TGF-beta, напротив, подавляет активность воспалительного ответа при инфаркте миокарда [Bujak M. et al., 2007; Nah D.Y. et al., 2009; Dobaczewski M. et al., 2010]. Предполагается, что при блокаде сигнальной трансдукции, опосредующей эффект TGF-beta, нарушается процесс постинфарктного ремоделирования, что в свою очередь приводит к дилатации ЛЖ [Ikeuchi M. et al., 2004; Okada H. et al., 2005]. Необходимо отметить, что окончательно значение TGF-beta в процессах структурной перестройки миокарда не выяснено [Frangogiannis N.G., 2008]. Аналогичным противовоспалительным эффектом в динамике ишемического поражения миокарда обладает также ИЛ-10, который, как показали недавние исследования, снижает интенсивность вос-

палительной инфильтрации, угнетает экспрессию провоспалительных цитокинов, что в конечном итоге приводит к ограничению зоны инфаркта и улучшению систолической функции ЛЖ [Krishnamurthy P. et al., 2009].

В последние годы активно изучаются процессы репарации поврежденного в результате ишемического воздействия миокарда. Важную роль в восстановлении ишемизированной ткани играет фактор хемоаттаксиса моноцитов — (MCP-1)/CCL2, способствующий накоплению макрофагов и миофибробластов в зоне повреждения [Dewald O. et al., 2005].

В экспериментах на крысах было показано, что структурное ремоделирование ткани после инфаркта осуществляется с участием интегринов. Так, повышение активности интегрин  $\beta 1$  наблюдается в зоне воспаления и фиброза, а активность интегрин  $\beta 3$  увеличивается в сосудах пренекротической зоны. При этом превращение интегрин  $\beta 1 D$  в  $\beta 1 A$  в сердечных миоцитах регулируется ФНО- $\alpha$  [Sun M. et al., 2003]. Также установлено, что у мышей с дефицитом интегрин  $\beta 1$  возникновение инфаркта миокарда сопровождается более глубокими нарушениями сократительной и диастолической функции ЛЖ, а также более выраженной гипертрофией миофибрилл и усилением апоптоза КМЦ [Krishnamurthy P. et al., 2006].

Описанные изменения гомеостатических свойств сердечной мышцы при очаговой ишемии ЛЖ имеют двоякий характер. С одной стороны, они направлены на преодоление последствий альтерации, с другой — при определенных условиях способны усилить повреждающий эффект, вызванный нарушением коронарного кровообращения.

### **1.1.3. О НЕКОТОРЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЯХ ДИФFUЗНЫХ ПРОЦЕССОВ В СЕРДЦЕ**

Диффузная альтерация миокарда чаще всего возникает при таких заболеваниях, как кардиомиопатии и миокардиты различной этиологии. В последние годы появилось значительное количество новых данных, проливающих свет на механизмы развития указанных патологических процессов.

Основными характеристиками нарушений свойств сердечной мышцы на тканевом уровне при ДКМП являются интерстициальный миокардиофиброз и заместительный склероз [Амосова Е.Н., 1999]. Некоторое время назад было показано, что ДКМП сопровождается выраженной дисфункцией эндотелия микрососудов и нарушением ангиогенеза в миокарде [Martí V. et al., 2007; Roura S. et al., 2007, 2009].

Несмотря на то что природа ДКМП до конца не выяснена, отдельные этиологические факторы и механизмы патогенеза были раскрыты. В частности, установлена четкая связь заболевания с энтеровирусом коксаки группы В и другими вирусами [Мухарлямов Н.М. и др., 1986; Амосова Е.И. и др., 1990; Моисеев В.С. и др., 1993]. Одним из возможных путей повреждения КМЦ энтеровирусами является протеолиз дистрофина вирусной протеиназой А [Палеев Н.Р., 2006]. Несомненную роль в развитии ДКМП играют аутоиммунные процессы, что подтверждается наличием у пациентов антикардиальных аутоантител, таких как альфа- и бета-антимиозиновые аутоантитела, обладающие высокой специфичностью к КМЦ и вставочным дискам [Терещенко С.Н. и др., 2001]. Об участии генетических механизмов в патогенезе ДКМП однозначного мнения среди исследователей нет. В некоторых работах показано, что при ДКМП возникают мутации генов актина [Olson T.M., 1998], сердечного тропонина I [Carballo S. et al., 2009], тропомиозина [Olson T.M. et al., 2001], дистрофина [Frazier A.H. et al., 2010]. Однако, по другим данным, мутации генов актина и дистрофина не выявляются [Терещенко С.Н. и др., 2000].

В ряде случаев ДКМП развивается в исходе миокардита. При этом считается, что за данный переход ответственны некоторые провоспалительные цитокины, в частности ИЛ-17А [Baldeviano G.C. et al., 2010].

ДКМП сопровождается определенными метаболическими сдвигами в КМЦ. Так, на фоне нарушенного коронарного кровотока снижается интенсивность захвата и окисления свободных жирных кислот, а утилизация углеводов, напротив, активизируется [Neglia D. et al., 2007].

При гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП) морфологическая картина миокарда характеризуется следующими признаками: наблюдаются гипертрофия и дезориентация миофибрилл, развиваются миокардиофиброз, нарушается строение интрамиокардиальных микрососудов [Maron V.J. et al., 1979; Tanaka M. et al., 1987].

Доказана роль наследственных факторов в патогенезе ГКМП. В качестве причины заболевания называют мутации в митохондриальной дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК) и в различных генах, по программе которых в КМЦ осуществляется синтез белков саркомера и несаркомерных протеинов [Maron V.J. et al, 2003; Elliott P. et al, 2004; Alcalai R. et al., 2008]. Для ГКМП уже описано 11 дефектных белковых компонентов кардиального саркомера [Габрусенко С.А., 2006].

Следует отметить, что в литературе не так много данных, которые убедительно свидетельствовали бы об участии медиаторов воспалительной реакции в патогенезе ГКМП. Однако весьма интересны результаты сравнительного исследования K. Vuzás и соавт. (2004), показавшие, что

при ДКМП увеличивается содержание ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, а также проапоптозного белка Вах, тогда как при ГКМП повышается концентрация антиапоптозного белка Bcl-2 (от англ. B-cell lymphoma 2). При этом в плазме пациентов с ДКМП повышен уровень ФНО- $\alpha$ , sFas, ИЛ-6 и растворимого рецептора ИЛ-6 (sIL-6R), а при ГКМП отмечается повышение лишь ИЛ-6 и растворимого рецептора ИЛ-6.

При различных типах воспалительного поражения миокарда появляется ряд неспецифических признаков, выявляемых методом световой или электронной микроскопии биоптатов. К ним относятся интерстициальный и внутриклеточный отек, инфильтрация ткани сначала нейтрофилами и макрофагами, а на более поздних сроках лимфоцитами и гистиоцитами, расширение саркоплазматического ретикулума, отек и деструкция митохондрий, повреждение миофибрилл и полное разрушение КМЦ [Бойцов С.А. и др., 2002]. Необходимо, правда, обратить внимание на то, что в некоторых случаях миокардиты имеют очаговый характер и при заборе участка ткани из интактной зоны может быть получен ложноотрицательный результат [Бойцов С.А. и др., 2001].

Особенностью хронических инфекционно-обусловленных миокардитов является внутриклеточное персистирование возбудителя с развитием аутоиммунного процесса [Дерюгин М.В. и др., 2001, 2004]. При этом существует точка зрения, согласно которой интенсивность аутоагрессии в данном случае лимитируется некоторыми цитокинами, в частности ИЛ-6 [Poffenberger M.C. et al., 2009].

Обобщая литературные данные по диффузным патологическим процессам в сердце, можно условно выделить два компонента структурных и гомеостатических изменений в миокарде: общедегенеративный и воспалительный. Однако есть основания предполагать, что в данном случае по сравнению с перегрузочным повреждением и очаговой ишемией роль специфических факторов в патогенезе конкретных заболеваний гораздо более значима, что необходимо учитывать при анализе активности апоптотических процессов.

## **1.2. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ**

Первые представления о смерти клеток в тканях живого организма были сформулированы К. Фоггом [Vaux D.L. et al., 1999] и Р. Вирховым [Новожилова А.П. и др., 1996; Самуилов В.Д. и др., 2000] в середине XIX в. Описанные в то время морфологические изменения соот-



ветствовали процессу некротической гибели. В дальнейшем стали появляться сведения о возможности физиологического самоуничтожения отдельных клеточных элементов. Так, в 1951 г. Глуксманом было показано, что часть клеток эмбриона отмирает в процессе его индивидуального развития [Diamantis A. et al., 2008]. В 1964 г. был предложен термин «программированная клеточная гибель» (ПКГ), указывающий на неслучайный характер процесса, представляющего последовательность контролируемых стадий, ведущих к локальному и определенному по времени самоуничтожению [Lockshin R.A., Williams C.M., 1964]. Позже были обнаружены разные типы ПКГ [Formigli L. et al., 2000; Sperandio S. et al., 2000; Debnath J. et al., 2005]. В 1972 г. J. Kerr и соавт. [Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R., 1972] ввели в цитологию термин «апоптоз» (в переводе с греческого — «листопад») для описания явления, представляющего один из способов генетически детерминированной элиминации клеток. На сегодняшний день описано уже более 10 вариантов гибели клеток. Среди них, согласно рекомендациям Номенклатурного комитета по клеточной смерти (2009), выделяют некроз, апоптоз, аутофагию, кератинизацию, а также такие атипичные формы, как митотическая катастрофа, анойкис, экзитотоксичность, валлеровское перерождение, параптоз, пироптоз, пиронекроз и энтоз [Черников В.П. и др., 2010].

Кроме того, недавно был предложен гибридный термин «апонекроз» для феномена, характеризующегося неполным завершением апоптотических процессов в ядрах и развитием некротических изменений в цитоплазме [Formigli L. et al., 2000; Dumrese C. et al., 2005; Marino J. et al., 2008]. Подобные явления, в частности, наблюдаются в инфицированном хламидиями эндотелии аорты при атеросклерозе, где, с одной стороны, имеет место конденсация хроматина без фрагментации ядер, а с другой — возникает деструкция клеточных и субклеточных мембран [Лысенко А.И., 2010].

К настоящему времени наиболее подробно изучены процессы апоптоза и аутофагии. Остановимся на некоторых ключевых признаках и механизмах этих двух видов клеточной гибели.

### **1.2.1. МЕХАНИЗМЫ ИНИЦИАЦИИ И РЕАЛИЗАЦИИ АПОПТОТИЧЕСКОЙ ПРОГРАММЫ В КЛЕТКАХ**

Апоптотическая гибель клетки является активным и регулируемым процессом, играющим важную роль в развитии многоклеточных организмов и поддержании тканевого гомеостаза в физиологических и патологических условиях. Он предназначен для элиминации неполно-

ценных либо выполнивших свое предназначение клеток и широко распространен среди эукариотических организмов, находящихся на разных уровнях организации [Tittel J.N., Steller H., 2000; Richardson H., Kumar S., 2002; Ameisen J.C., 2002; Skulachev V.P., 2002; Гордеева А.В. и др., 2004].

От остальных типов клеточной гибели, в том числе от некроза, апоптоз отличается рядом характерных морфологических особенностей, к числу которых относятся конденсация и маргинация хроматина, карипикноз, блеббинг (выпячивание) мембраны и отделение клеточных фрагментов с образованием апоптозных телец [Saraste A., Pulkki K., 2000], поглощаемых впоследствии макрофагами и соседними клетками. Метками, по которым макрофаги распознают гибнущие клетки, являются экспрессирующиеся на их поверхности специфические маркеры, к числу которых относится фосфатидилсерин [Bratton D.L. et al., 1997; Arur S. et al., 2003; Elmore S., 2007; Петрищев Н.Н. и др., 2008]. Важной особенностью, отличающей апоптоз от некроза, является отсутствие ответной воспалительной реакции, так как, во-первых, деградирующая клетка сохраняет целостность мембраны до конечных стадий процесса, а затем быстро подвергается фагоцитозу, во-вторых, поглощающие клетки не продуцируют воспалительных цитокинов [Savill J., Fadok V., 2000; Kurosaka K. et al., 2003; Проскуряков С.Я. и др., 2005]. Но, несмотря на имеющиеся отличия, упомянутые способы элиминации клеток могут перекрываться на общих сигнальных путях [Zeiss C.J., 2003]. Обнаружено, что начавшийся апоптотический процесс может перейти в некроз при инактивации каспаз или снижении уровня внутриклеточной АТФ [Leist M. et al., 1997; Denecker G. et al., 2001; Leist M., Jaattela M., 2001]. Более того, выявлено, что некроз не является пассивным процессом, а реализуется как самостоятельная танатогенная программа [Проскуряков С.Я. и др., 2002]. Распространенное ранее мнение о том, что апоптоз отличается от некротической гибели отсутствием влияния гибнущих клеток на соседние, было опровергнуто открытием коллективного апоптоза, описанного на примере раковых клеток HeLa после воздействия индукторами ПКГ [Reznikov K. et al. 2000; Скулачев В.П., 2005]. Гибнущие клетки при этом секретируют пероксид водорода, инициирующий самоуничтожение окружающих клеток. Но следует отметить, что образование кластеров апоптоза *in vivo* наблюдается редко, что, вероятно, препятствует излишней потере клеточных элементов. Механизм регуляции данного явления пока еще не совсем ясен.

На сегодняшний день обнаружен широкий спектр физиологических и патологических стимулов и условий, способных индуцировать

апоптоз, причем к важнейшим из них относится повреждение ДНК [Chobrial I.M. et al., 2005]. Механизмы инициации и реализации ПКГ сложны и включают энергозависимые каскады молекулярных событий. Клеточная гибель становится результатом взаимодействия между активаторами и супрессорами апоптоза, формирующими сложную регуляторную сеть, определяющую судьбу отдельной клетки как части многоклеточного окружения [Hengartner M.O., 2000].

Ключевыми внутриклеточными проапоптотическими факторами являются ферменты, расщепляющие белки по остатку аспарагиновой кислоты, называемые каспазами (от англ. cysteine-dependent aspartate-specific proteases). У млекопитающих семейство каспаз состоит из 14 белков, синтезируемых в клетках в виде проферментов, активирующихся при апоптозе [Kaufmann S.H., Hengartner M.O., 2001]. При этом осуществляется запуск протеазного каскада, обеспечивающего усиление апоптогенного сигнала и стремительную клеточную гибель. Вначале были открыты 10 каспаз, которые подразделили на 3 группы: инициаторные (каспаза-2, -8, -9, -10), эффекторные, или казнящие (каспаза-3, -6, -7), и воспалительные (каспаза-1, -4, -5) [Cohen G.M., 1997; Earnshaw W.C. et al., 1999]. Позже были описаны другие члены этого семейства: каспаза-11, регулирующая апоптоз и созревание цитокинов при септическом шоке, каспаза-12, опосредующая апоптотическую гибель с участием эндоплазматической сети, каспаза-13, обнаруженная у крупного рогатого скота, и каспаза-14, наиболее активная в эмбриональных тканях [Hu S. et al., 1998; Nakagawa T. et al., 2000; Koenig U. et al., 2001; Kang S.J. et al., 2002; Olsson M., Zhivotovsky B., 2011].

В большинстве случаев центральным звеном пути передачи апоптогенного сигнала являются эффекторные каспазы, активация которых приводит к фрагментации ДНК, деградации белков цитоскелета, формированию апоптозных телец, экспрессии лигандов для рецепторов фагоцитов и последующей элиминации клеток. Активация казнящих ферментов может происходить с участием клеточных рецепторов и их лигандов и/или митохондриального проапоптотического механизма, индуцирующегося в ответ на неблагоприятные внутриклеточные изменения [Igney F.H., Krammer P.H., 2002]. Существует также третий, дополнительный, транзитивный путь индукции ПКГ, с которым связана Т-клеточная цитотоксичность [Russell J.H., Ley T.J., 2002].

**Внешний сигнальный путь.** Иницирующий апоптоз внешний сигнальный путь начинается с взаимодействия определенных внеклеточных лигандов с белками семейства TNF-рецепторов (от англ. tumor necrosis factor — фактор некроза опухоли), называемых рецепторами смерти [Locksley R.M. et al., 2001; Ashkenazi A., 2002]. Это трансмем-

бренные белки, имеющие цитоплазматический домен длиной около 80 аминокислотных остатков, играющий ключевую роль в передаче апоптогенного сигнала к внутриклеточным сигнальным путям и названный доменом смерти [Ashkenazi A., Dixit V.M., 1998]. Известны следующие, участвующие в данном процессе пары «лиганд–рецептор»: FasL/FasR, TNF- $\alpha$ /TNFR1, Apo3L/DR3, Apo2L/DR4, Apo2L/DR5 [Ashkenazi A., Dixit V.M., 1998; Peter M.E., Krammer P.H., 1998; Suliman A. et al. 2001]. Последовательность событий при активации внешнего пути лучше всего изучена на моделях FasL/FasR и TNF- $\alpha$ /TNFR1. Связывание лиганда с рецептором приводит к взаимодействию рецептора с адаптерным белком FADD (Fas-associated protein with death domain) или TRADD (TNFR1-associated protein with death domain), соответственно, в результате чего формируется комплекс DISC (death-inducing signaling complex) и активируется инициаторная каспаза-8 [Kischkel F.C. et al., 1995]. Каспаза-8, в свою очередь, индуцирует в цитоплазме протеазный каскад, активирующий эффекторные каспазы, в частности каспазу-3, которая служит точкой пересечения рецепторного и митохондриального сигнальных путей [Grutter M.G., 2000; Kaufmann S.H., Hengartner M.O., 2001]. Рецепторно-опосредованный апоптоз может подавляться белками с-FLIP (от англ. FLICE-like inhibitory protein), взаимодействующими с FADD и каспазой-8 [Scaffidi C. et al., 1999].

**Внутренний сигнальный путь.** Внутренний сигнальный путь, центральным регулятором которого являются митохондрии, активируется внутриклеточными апоптогенными сигналами (повреждение ДНК, окислительный стресс, истощение ресурсов и т.д.), инициирующими клеточную гибель без участия мембранных рецепторов [Kroemer G., Reed J.C., 2000; Bernardi P. et al., 2001; Estaquier J. et al., 2012]. Триггерные факторы приводят к изменениям во внутренней мембране митохондрий, образованию MPT-пор (mitochondrial permeability transitionpore — пора, вызывающая переход мембраны митохондрии в состояние высокой проницаемости) с участием ANT (adenine nucleotide translocator), VDAC (voltage-dependent anion channel) и ряда других белков, результатом чего становится падение трансмембранного потенциала и высвобождение в цитозоль двух основных групп проапоптогических белков [Saelens X. et al., 2004; Tsujimoto Y., Shimizu S., 2007; Knudson C.M., Brown N.M., 2008]. Первая группа представлена цитохромом С, Smac/DIABLO (от англ. second mitochondria-derived activator of caspase/direct IAP-binding protein with low pI) и сериновой протеазой HtrA2/Omi [VanLoo G. et al., 2002; Garrido C. et al., 2006], активирующими каспазозависимую клеточную гибель. Цитохром С

связывается с Araf-1 (apoptotic protease activating factor-1) и формирует апоптосомный комплекс, способствующий активации каспазы-9 [Renatus M., 2002; Hill M.M. et al., 2004; Salvesen G.S., Reubold T.F., Eschenburg S., 2012]. Последняя, как оказалось, может также активироваться каспазой-12 и без участия цитохрома С [Hossain M.M., Richardson J.R., 2011]. Smac/DIABLO и сериновая протеаза HtrA2/Omi способствуют апоптозу, подавляя активность супрессорных факторов IAP (от англ. inhibitors of apoptosis proteins) [Schimmer A.D., 2004]. Ко второй группе высвобождающихся из митохондрий белков относятся индуктор апоптоза (AIF — от англ. apoptosis-inducing factor) и эндонуклеазы G и CAD (от англ. caspase-activated DNase). AIF перемещается в ядро, где вызывает конденсацию хроматина и разрезание ДНК на крупные фрагменты длиной 50–300 тысяч нуклеотидных пар [Joza N. et al., 2001; Sevrioukova I.F., 2011]. Эндонуклеазы также транслоцируются в ядро и разрезают ДНК, но, в отличие от AIF, на олигонуклеосомные фрагменты длиной 180–200 пар нуклеотидов [Li L.Y. et al., 2001]. AIF и эндонуклеаза G относятся к каспазозависимым эффекторам апоптоза [Cande C. et al., 2002; Cho B.B., Toledo-Pereyra L.H., 2008; Renault T.T., Manon S., 2011], в то время как эндонуклеаза CAD предварительно активируется каспазой-3 [Enari M. et al., 1998; Susin S.A. et al., 2000; Nagata S. et al., 2003]. Снижение трансмембранного потенциала и повышение проницаемости митохондриальной мембраны не только способствуют высвобождению проапоптотических факторов, но и приводят к нарушению биохимического гомеостаза клетки: подавляется синтез АТФ, глутатион, никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат (НАДФ) и его восстановленная форма окисляются, увеличивается образование активных форм кислорода (АФК) [Skulachev V.P., 2006]. АФК, в свою очередь, окисляют липиды, белки, вызывая дальнейшее падение трансмембранного потенциала [Marchetti P. et al., 1997], в результате чего формируется порочный круг, усиливающий клеточную гибель.

Перечисленные митохондриальные события находятся под контролем белков **семейства Bcl-2** (B-cell lymphoma 2) [Cory S., Adams J.M., 2002], характеризующихся наличием консервативных последовательностей, известных как Bcl-2 homology domains (BH1–BH4). У млекопитающих описано около 30 членов этого семейства, одни из них обладают про-, а другие — антиапоптотическим действием [Borner C., 2003; Youle R.J., Strasser A., 2008; Martinou J.C., Youle R.J., 2011]. К антиапоптотическим факторам относятся Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w, содержащие все четыре домена, к проапоптотическим — Bax (Bcl-2-associated X protein), Bak (Bcl-2 homologous antagonist/killer), содержащие три домена BH1-3,

и Bim, Bid, Bik, Bad, Noxa, Puma и другие, содержащие только домен BH3. Последние через BH3-домен либо взаимодействуют с антиапоптотическими белками, чем подавляют их функцию, либо прямо реагируют с Bax или Bak, активируя их [Giam M. et al., 2008]. BH3-домен, присутствующий у всех членов семейства, важен для гетеродимеризации между членами и является минимальным доменом, требующимся для проапоптотической активности [Kelekar A., Thompson C.V., 1998]. Основной функцией белков этого семейства является регуляция целостности митохондриальной мембраны и проницаемости наружной мембраны — MOMP (mitochondrial outer membrane permeabilization) [Vaux D.L., 2011].

Белок Bax (BCL-2-associated X protein), находясь в цитозоле, представляет мономер, но при апоптозе он изменяет свою конформацию, встраивается в наружную митохондриальную мембрану и олигомеризуется. В итоге формируется пора, обеспечивающая высвобождение цитохрома C и других белковых факторов. Показано, что Bax постоянно перемещается из цитозоля в митохондрии и обратно [Edlich F. et al., 2011]. Белок Bcl-XL и, возможно, другие антиапоптотические белки этого семейства, способствуют его транслокации из митохондрии в цитозоль, в результате чего аккумуляция Bax на митохондриальной мембране не достигает уровня, достаточного для аутоактивации. Различные триггеры, включая BH3-белки [Gallenne T. et al., 2009; Kim H. et al., 2009] и p53, могут усиливать связывание Bax с наружной митохондриальной мембраной [Chipuk J.E. et al., 2004; Kutuk O., Letai A., 2008]. В отличие от Bax, белок Bak (Bcl-2 homologous antagonist/killer) постоянно ассоциирован с наружной мембраной митохондрии с помощью C-концевого трансмембранного домена. Механизм Bax- и Bak-опосредованного порообразования не совсем ясен, но предложены 2 модели: Bax и Bak либо сами являются каналобразующими белками, либо образуют поры, взаимодействуя с компонентами MPT-пор, например, с VDAC [Tsujiimoto Y., Shimizu S., 2000; Kuwana T. et al., 2002; Westphal D. et al., 2011]. Согласно современным данным, первый вариант более вероятен.

Антиапоптотические члены семейства Bcl-2, к числу которых относится и собственно Bcl-2, подавляют гибель клеток, связываясь с BH3-доменом проапоптотических белков и предотвращая их активацию, олигомеризацию и последующие клеточные события. Под действием апоптогенных факторов активируются только BH3-содержащие белки, которые, в свою очередь, связываются с антиапоптотическими членами семейства, препятствуя их воздействию на Bax и Bak, и следовательно, способствуя апоптозу [Borner C., 2003; Chipuk J.E., Green D.R., 2008;

Lomonosova E., Chinnadurai G., 2008]. Экспрессия антиапоптотических белков семейства Bcl-2 стимулируется транскрипционным фактором NF- $\kappa$ B, который активирует и другие антиапоптотические гены, в том числе гены IAP [Heckman C.A. et al., 2002; Karin M., Lin A., 2002]. Белки IAP, антагонистами которых являются Smac/Diablo, ингибируют каспазу-3, -7 и -9 [Du C. et al., 2000; Salvesen G.S., Duckett C.S., 2002; Fulda S., Vucic D., 2012].

Важным регуляторным элементом апоптотической программы является белок p53 — опухолевый супрессор, способный активироваться внутриклеточными и внешними сигналами. В норме он представляет короткоживущий белок, но в стрессовых условиях (повреждение ДНК, гипоксия, истощение пула нуклеотидов и др.) происходит его активация, включающая стабилизацию белка, усиление его связывания с ДНК и транскрипционной активности [Giaccia A.J., Kastan M.B., 1998; Lohrum M.A., Vousden K.H., 1999]. Эти изменения обычно обуславливаются посттрансляционными модификациями [Olsson A. et al., 2007] и белок-белковыми взаимодействиями с другими факторами. В ответ на стрессовые сигналы изменяется сродство p53 к определенным нуклеотидным последовательностям в промоторах или интронах генов-мишеней [Buzek J. et al., 2002]. Регулируя активность различных генов, данный белок может индуцировать старение, остановку клеточного роста в G1 и/или G2 фазе [Jin S., Levine A.J., 2001] и апоптоз [Haupt S. et al., 2003]. Последняя активность особенно важна для опухолевой супрессии. Белок p53 предотвращает пролиферацию клеток с поврежденной ДНК или с потенциалом для неопластической трансформации [Vogt Sionov R.V., Haupt Y., 1999]. Около 50% опухолей человека связаны с мутациями в гене *p53*, в большинстве остальных случаев активность белка снижена в результате включения альтернативных механизмов [Vogelstein B. et al., 2000]. Белок p53 может влиять на апоптоз как через регуляцию транскрипции определенных генов, так и другими способами [Nelson V. et al., 2001; Pietsch E.C. et al., 2008]. Активация внешнего пути с участием p53 осуществляется через повышение экспрессии гена Fas-рецептора [Muller M. et al., 1998; Bouvard V. et al., 2000; Kuribayashi K. et al., 2011], а регуляция митохондриального сигнального пути — через воздействие на белки семейства Bcl-2: усиление транскрипции генов Bax [Thornborrow E.C. et al., 2002], PUMA (от англ. p53 upregulated modulator of apoptosis), причем сродство p53 к промотору гена PUMA значительно больше, нежели к промотору Bax [Kaeser M.D., Iggo R.D., 2002], Noxa [Oda E. et al., 2000; Michalak E.M. et al., 2008]. Белок p53 может влиять на образование апоптосомы посредством увеличения экспрессии гена Apaf-1 [Rozenfeld-Granot G. et al., 2002]. В ответ на повреж-

дение ДНК p53 также активирует ген каспазы-6 [MacLachlan T.K., El-Deiry W.S., 2002]. Интересно, что p53 при повреждении ДНК, гипоксии, активации онкогенов может прямо, а не опосредованно, транскрипцией, влиять на компоненты апоптотического комплекса, для чего белок перемещается в митохондрии [Sansome C. et al., 2001] и способствует повышению проницаемости наружной мембраны, взаимодействуя с белками Bcl-XL и Bcl-2 [Mihara M. et al., 2003; Vaseva A.V., Moll U.M., 2009]. Также обнаружено, что p53 наряду с повышением экспрессии гена *Bid* (BH3 interacting-domain death agonist) может вступать с Bid в прямое белок-белковое взаимодействие [Song G. et al., 2009].

Следует особо отметить, что описанные выше пути передачи апоптогенного сигнала (внешний и внутренний) взаимосвязаны (рис. 1.1). Так, обнаружено, что каспаза-8 катализирует активацию белка Bid, относящегося к семейству Bcl-2, и превращение его в tBid, перемещающийся в митохондрию, где он, соединяясь с Bax, способствует его олигомеризации и порообразованию в наружной митохондриальной мембране [Luo X. et al., 1998; Eskes R. et al., 2000; Esposti M.D., 2002; Billen L.P. et al., 2008]. Также оба пути сигнальной трансдукции пересекаются на эффекторной фазе — активации казнящих каспаз [Gruter M.G., 2000; Slee E.A. et al., 2001; Olsson M., Zhivotovsky B., 2011].

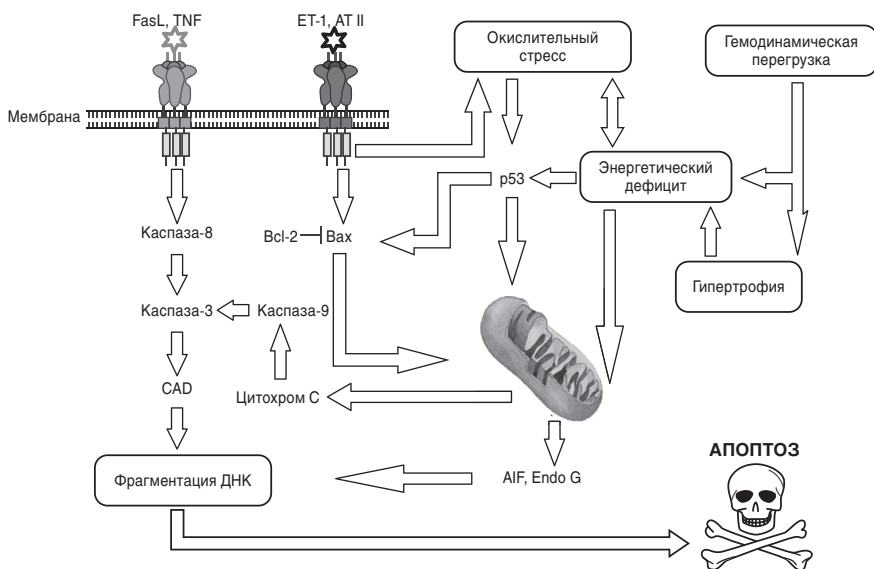


Рис. 1.1. Схема реализации апоптотической программы в кардиомиоцитах



**Гранзим-зависимый сигнальный путь.** Цитотоксические Т-лимфоциты могут усиливать клеточную гибель как через активацию обычного FasL/FasR-опосредованного сигнального пути, так и секретируя белок перфорин, формирующий мембранные поры, через которые в клетки поступают гранзимы А и В. Гранзим В, в свою очередь, активирует каспазы-3 и -10, а также митохондриальный сигнальный путь посредством частичного протеолиза белка Bid [Russell J.H., Ley T.J., 2002; Goping I.S. et al., 2003]. Гранзим А индуцирует гибель клетки, активируя некаспазные эффекторы, приводящие к деградации ДНК [Lieberman J., Fan Z., 2003; Martinvalet D. et al., 2005].

**Значение апоптотической гибели клеток.** Основная физиологическая роль апоптоза заключается в поддержании тканевого гомеостаза посредством регуляции численности клеточных популяций [Renehan A.G. et al., 2001]. Так, например, нервная и иммунная системы в своем развитии проходят через сверхпродукцию клеток, за которой следует клеточная гибель [Hutchins J.B., Barger S.W., 1998; Meier P. et al., 2000; Nijhawan D. et al., 2000; Opferman J.T., Korsmeyer S.J., 2003]. Апоптоз также необходим для элиминации аутореактивных клеток иммунной системы [Osborne B.A., 1996; Rathmell J.C., Thompson C.B., 2002] и клеток, способных к неопластической трансформации. Более того, обнаружено, что с возрастом усиливается клеточная гибель, в том числе и апоптотическая. Существует теория, согласно которой, окислительный стресс играет ведущую роль в индукции возраст-зависимого апоптоза посредством свободнорадикального повреждения митохондриальной ДНК, приводящего к нарушению функций митохондрий и энергетическому дефициту, который заканчивается гибелью клетки и старением организма в целом [Harman D., 1992; Ozawa T., 1995]. Таким образом, клетки во взрослом организме постоянно подвергаются гибели, которая для поддержания гомеостаза должна находиться в равновесии с пролиферацией. Нарушения в процессах регуляции и реализации апоптотической программы способствуют развитию разнообразных патологических процессов. Так, подавление апоптоза через активацию антиапоптотического белка Bcl-2 или супрессию проапоптотных белков Вах и р53 может играть центральную роль в развитии ряда онкологических заболеваний [Kerr J.F. et al., 1994]. Снижение интенсивности клеточной гибели также может стать причиной развития аутоиммунной патологии [Worth A. et al., 2006], что связано с нарушением элиминации аутореактивных клеток. Усиление апоптоза выявляется при нейродегенеративных заболеваниях и ишемическом повреждении тканей [Ethell D.W., Buhler L.A., 2003; Olmez I., Ozyurt H., 2012; Smith R.A. et al., 2012]. В этой связи детальное изучение механизмов инициации и

реализации апоптотической программы в разных тканях является необходимым условием для разработки методов медикаментозной регуляции данного процесса и, следовательно, для эффективного лечения соответствующих заболеваний.

### **1.2.2. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ АПОПТОЗА**

На современном этапе используется широкий спектр методов оценки апоптоза и отдельных звеньев сигнальных путей, вовлеченных в реализацию апоптотической программы. Каждый метод имеет свои достоинства и недостатки [Watanabe M. et al., 2002; Otsuki Y. et al., 2003] и, как правило, направлен на обнаружение отдельных признаков апоптотической гибели: характерных морфологических изменений, фрагментации ДНК, активации каспаз и других участвующих в апоптозе белков, изменений клеточных мембран и митохондрий.

Самой ранней техникой обнаружения апоптоза, долгое время оставшейся «золотым стандартом», было изучение морфологии клеток с помощью световой микроскопии [Hacker G., 2000; Манских В.Н., 2004]. Конденсация и маргинация хроматина, изменение контуров клеток и их фрагментация могут быть визуализированы на гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. Достоинства этого метода — его относительная простота и дешевизна. Однако он характеризуется не очень высокой чувствительностью, так как в течение часа апоптотозные клетки элиминируются из ткани путем фагоцитоза. В миокарде клетки с морфологическими признаками апоптоза обнаруживаются редко [van Heerde W.L. et al., 2000]. Более того, аналогичные изменения могут наблюдаться при некрозе и при патологических процессах, сопровождающихся дистрофией клеток [Афанасьев Ю.И., Юрина Н.А., 2001; Квачева Ю.Е., 2002]. Более надежным способом выявления морфологических признаков апоптоза считается электронная микроскопия, так как при этом изменения выявляются на субклеточном уровне, что повышает чувствительность и специфичность данного метода. Однако требуемое оборудование и сложность пробоподготовки не позволяет использовать его для рутинных исследований [Gorman A. et al., 1996; Райхлин Н.Т., 2002].

Деградация ядерной ДНК — один из ключевых признаков апоптоза, причем активированные эндонуклеазы обычно разрезают ДНК на фрагменты длиной 180–200 пн. Обнаружить олигонуклеосомную фрагментацию ДНК можно с помощью электрофореза в агарозном геле [Wyllie A.H., 1980; Itoh G.J. et al., 1995]. Этот метод легок в исполнении, но подходит только для тканей с высокой интенсивностью апоптотиче-

ской гибели, что обусловлено его низкой чувствительностью. К тому же метод предполагает потерю клеточной морфологии, что препятствует идентификации апоптотических клеток. Кроме того, известно, что при апоптозе в результате деятельности AIF могут появляться более длинные фрагменты ДНК, не регистрирующиеся на электрофореграммах. При проведении современных исследований для выявления деградации ДНК *in situ* применяют так называемый TUNEL-метод (от англ. terminal deoxynucleotide nick-end labeling), основанный на детекции 3'-концов ДНК, суть которого заключается в специфическом связывании с 3'-концом разорванной нити ДНК dUTP, меченного биотином [Kressel M., Groscurth P., 1994; Ito Y., Otsuki Y., 1998; Muppidi J. et al., 2004; Qi D., Fu M., 2012]. Несмотря на распространенность этой техники оценки апоптоза в срезах тканей, данный метод не является строго специфичным. Показано, что в миокарде TUNEL-позитивное окрашивание может быть ассоциировано не только с апоптотическими КМЦ, но и с клетками, в которых индуцированы некротические и репарационные процессы [Ohno M. et al., 1998; Kanoh M. et al., 1999].

На поздних стадиях апоптоза возможно окрашивание ДНК пропидиум йодидом, однако существует высокая вероятность получения ложноположительных результатов, обусловленных некротической гибелью клеток [Петришев Н.Н. и др., 2008].

Характерным для апоптотических клеток изменением мембраны является экспрессия на ее поверхности фосфатидилсерина, выявить которую можно с помощью меченая аннексином V [Bossy-Wetzel E., Green D.R., 2000; Qi D., Fu M., 2012]. Наряду с другими эту метку гибнущих клеток можно использовать для проточной цитометрии, позволяющей анализировать большое количество клеток за короткий период времени. Однако для проведения проточной цитометрии клетки должны находиться в суспензии, поэтому данная техника исследования различных маркеров апоптоза *in vitro*, несмотря на многочисленные достоинства, не подходит для изучения ПКГ в ткани [Darzynkiewicz Z. et al., 1992; Krysko D.V. et al., 2008; Wlodkowic D. et al., 2010].

Апоптотическая гибель клетки сопровождается выраженными биохимическими изменениями в цитоплазме, причем многие из них (активация каспаз, экспрессия про- и антиапоптотических митохондриальных белков) могут быть удобными для детекции маркерами. Оценку каспаз можно проводить с помощью различных методов. Сейчас доступны флуорогенные и хромогенные субстраты для активных каспаз, однако они не способны проникать в клетки и требуют гомогенизации тканей [Gurtu V. et al., 1997]. Также можно использовать иммуногистохимическую технику, применяя антитела против эпито-

пов, получающихся в результате протеолитической активации каспаз [Yang F. et al., 1998; Kaufmann S.H. et al., 2008]. Логично предположить, что каспазы являются наиболее специфичным маркером апоптоза [Alenzi F.Q. et al., 2010]. Однако существует немало примеров клеточной гибели, сходной с классическим апоптозом, но реализующейся с участием некаспазных механизмов [Leist M., Jaattela M., 2001; Pradelli L.A. et al., 2010]. Также известно, что каспазы могут принимать участие в отличных от клеточной гибели процессах [Human B.T., Yuan J., 2012]. Для исследования про- и апоптотических белков (Bax, Bcl-2, p53, цитохром С и др.) широко используются иммуногистохимические методы и вестерн-блоттинг. Для оценки интенсивности экспрессии кодирующих их генов можно применять полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени в комбинации с обратной транскрипцией [Castedo M. et al., 2002; Otsuki Y. et al., 2003].

Как известно, падение мембранного потенциала митохондрий является одним из ранних признаков апоптотической гибели клеток и рассматривается как своеобразная «точка невозврата». Его можно выявить с помощью специальных флуоресцентных красителей, так как снижение потенциала сопровождается уменьшением аккумулирующей способности митохондрий [Metivier D. et al., 1998; Brand M.D., Nicholls D.G., 2011]. Активация апоптотических сигнальных путей в большинстве случаев ассоциирована с увеличением концентрации ионов кальция в цитозоле, что можно обнаружить, используя специальные флуоресцентные красители [Као J.P., 2010]. Однако следует отметить, что увеличение концентрации цитозольного кальция не является специфичным для апоптоза признаком и может быть ассоциировано с другими сигнальными путями.

Таким образом, в зависимости от типа клеток, их состояния и вида индуктора основные признаки апоптоза могут варьировать, в связи с чем при строгом подходе необходимо учитывать, что критерием апоптоза может быть только комплекс признаков [Широкова А.В., 2007]. Следовательно, во избежание получения ложных результатов при проведении исследований необходимо сочетать методы, базирующиеся на определении разных параметров апоптоза.

### **1.2.3. ОСОБЕННОСТИ И НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ АУТОФАГИИ**

Аутофагия — это второй основной путь ПКГ, при котором происходит деградация органелл и цитоплазматического материала при участии внутриклеточных мембранных структур [Онищенко Г.Е., 2005]. Механизмы аутофагии не всегда направлены на полное уничтожение

клетки, и в обычных условиях они обеспечивают регенерацию органелл [Lockshin R.A. et al., 2004; Kondo Y. et al., 2005]. При этом происходит образование аутофагосомы, содержащей различные внутриклеточные структуры и компоненты, которая затем сливается с лизосомой [Okada H. et al., 2004; Levine B. et al., 2005]. При воздействии на клетку определенных стрессорных факторов активность аутофагических процессов может значительно увеличиться, приводя к гибели клетки [de Meyer G.R. et al., 2009]. Основными триггерами аутофагии являются АФК, ионизирующее излучение, ингибирование ростковых факторов, дефицит аминокислот и АТФ [Levine B. et al., 2005; Пупышев А.Б., 2006; Hait W.N. et al., 2006]. При снижении энергообеспечения клетки аутофагия выступает в качестве защитного механизма, обеспечивающего эндогенное питание, в остальных случаях ее функция заключается в элиминации поврежденных внутриклеточных компонентов [Манских В.Н., 2007].

Основным морфологическим признаком аутофагии является образование большого количества вакуолей [Levine et al., 2005]. При этом конденсация хроматина и фрагментация ДНК, характерные для апоптоза, отсутствуют [Lockshin et al., 2004; Kondo et al., 2005].

Процесс аутофагии начинается с экспрессии определенных генов, в результате чего внутриклеточные субстраты, подлежащие элиминации, приобретают специфическую метку, необходимую для их распознавания белковым комплексом, с участием которого образуется аутофагосома [Meijer A.J. et al., 2004]. Различные стадии аутофагии регулируются определенными внутриклеточными ферментами. Так, за секвестрацию удаляемых органелл отвечает Beclin-1 [Meijer A.J. et al., 2004; Gozuacik D. et al., 2004], слияние аутофагосомы с лизосомой происходит при участии фактора LAMP-2 [Meijer A.J. et al., 2004]. Примечательно, что некоторые антиапоптотические протеины (Bcl-2) инактивируют и процессы аутофагии, что косвенно свидетельствует о вовлеченности митохондриальных механизмов в реализацию данного вида клеточной смерти [Pattingle S. et al., 2005, 2006].

Выделяют 3 вида аутофагии: микроаутофагию, макроаутофагию и шаперон-зависимую аутофагию [Yorimitsu T. et al., 2005; Wang C.W. et al., 2003]. В первых двух случаях наблюдается секвестрация цитоплазмы. При макроаутофагии происходит образование везикул с двойной мембраной *de novo*. Что является источником для формирования подобных мембранных везикул, до конца не выяснено. Предполагается, что это могут быть митохондрии, комплекс Гольджи или эндоплазматический ретикулум. Далее везикулы (или аутофагосомы) сливаются с лизосомами [Yorimitsu T. et al., 2005]. Микроаутофагия характеризуется тем, что различные компоненты попадают в лизосомы без образования

аутофагосом путем инвагинации мембран, как при фагоцитозе. При шаперон-зависимой аутофагии подобных мембранных механизмов не наблюдается. Происходит перенос протеинов через мембрану лизосом, для этого необходимы шаперонные белки Hsc70, а также ассоциированный с лизосомами протеин LAMP (lysosome-associated membrane proteine) [Massey A.C. et al., 2006; Bejarano E. et al., 2010].

Будучи программируемым видом гибели клеток, аутофагия регулируется группой генов, именуемых ATG (autophagy-related), которых описано уже больше 30 [Klionsky D.J. et al., 2003; Yorimitsu T. et al., 2005; Kabeya Y. et al., 2007]. Белки, кодируемые генами ATG, можно подразделить на несколько групп в соответствии с этапами аутофагической гибели, на которые они воздействуют. Так, Atg-1-киназы участвуют в инициальных механизмах, протеины Atg-11 и Atg-19 необходимы для распознавания субстратов, Atg-8, Atg-12 убихинон-подобные конъюгаты участвуют в формировании везикул [Huang J. et al., 2007].

### **1.3. АПОПТОЗ И ДРУГИЕ ФОРМЫ ПРОГРАММИРОВАННОЙ ГИБЕЛИ КАРДИОМИОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ПАТОЛОГИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

В последнее десятилетие появилось значительное количество работ, посвященных программированной гибели клеток миокарда при тех или иных заболеваниях сосудов и сердца. Значительно возрос интерес исследователей к механизмам и возможным путям реализации апоптоза и аутофагии КМЦ и их патогенетической роли. Данная проблема представляет, на наш взгляд, не только фундаментальный научный, но и практический интерес, поскольку всесторонняя оценка процессов, опосредующих изменения тканевого гомеостаза сердечной мышцы, может стать основой для разработки методов медикаментозного воздействия на конкретные молекулярные мишени.

КМЦ представляют клетки с ограниченным пролиферативным потенциалом, в связи с чем особую значимость приобретают нарушения регуляции клеточной гибели в сердце [Целуйко В.И., Кравченко Н.А., 2004; Бершова Т.В. и др., 2009; Lee Y., Gustafsson A.B., 2009]. Обнаружено, что для них характерны все 3 основных способа гибели: некроз, апоптоз и аутофагия [Nishida K., Otsu K., 2008; Whelan R.S. et al., 2010; Chiong M. et al., 2011]. Способность КМЦ к апоптозу в ответ на различные стрессовые факторы, включая перегрузку, гипоксию, воздействие свободных радикалов, вирусную инфекцию и действие токсинов, про-

демонстрирована с использованием ряда экспериментальных моделей [Bishopric N.H. et al., 2001]. Хотя ни одна из моделей полностью не соответствует особенностям патологических процессов, наблюдаемых в сердце взрослого человека, эти исследования показали, что КМЦ обладают всем необходимым для апоптоза аппаратом, а также механизмами защиты от действия апоптогенного сигнала, что особенно важно для терминально дифференцированных клеток, к числу которых относятся и сердечные миоциты. Так, есть литературные данные, указывающие на способность КМЦ предотвращать активацию каспазы-3 и дезоксирибонуклеаз после активации каспазы-8 и высвобождения цитохрома С, что позволяет сохранить целостность ядра и отложить массовую деградацию клеточных белков [Hider N. et al., 2002].

### **1.3.1. АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОЙ ПЕРЕГРУЗКЕ СЕРДЦА**

В последние годы значительное внимание уделяется изучению апоптоза сердечных миоцитов при АГ. Усиление ПКГ КМЦ было выявлено у спонтанно гипертензивных крыс с гипертрофией ЛЖ [Diez J. et al., 1997], крыс с почечной [Li P. et al., 1993] и ангиотензин II (АТ II)-индуцированной гипертензией [Diep O.N. et al., 2002]. Повышение интенсивности апоптотической гибели клеток миокарда было обнаружено не только у модельных животных, но и у больных эссенциальной АГ [Olivetti G. et al., 1994; Gonzalez A. et al., 2002, 2003]. Причем потеря КМЦ в условиях длительной АГ наблюдается у пациентов как с сердечной недостаточностью, так и без таковой. Таким образом, по-видимому, гибель КМЦ предшествует нарушению функции желудочков. Патологические последствия потери сердечных миоцитов при АГ еще полностью не установлены, хотя очевидно, что уменьшение количества сократительных элементов сопровождается увеличением нагрузки на оставшиеся клетки, что приводит к угнетению функции желудочков [Anversa P. et al., 1997]. Вероятно, апоптоз КМЦ является фактором перехода компенсаторной гипертрофии к прогрессирующей сердечной недостаточности [Gonzalez A. et al., 2003].

Значительный интерес представляют факторы, запускающие апоптотическую программу в клетках миокарда в условиях АГ. Это могут быть механические силы, окислительный стресс, гипоксия и несбалансированное действие цитокинов, нейромедиаторов и факторов роста.

Механические силы, действующие при хронической перегрузке сердца, могут выступать одним из триггеров клеточной гибели. Установлено, что растяжение КМЦ взрослых крыс *in vitro* повышает

интенсивность апоптоза через активацию p53 и повышение экспрессии Bax [Cheng W. et al., 1995; Leri A. et al., 1998]. Интересно, что в этих условиях также наблюдаются увеличение образования АФК и повышение экспрессии Fas-рецептора на поверхности миоцитов [Cheng W. et al., 1995]. Сходные результаты были получены *in vivo* у животных с экспериментальной АГ [Teiger E. et al., 1996; Ding B. et al., 2000]. Однако в генетических моделях АГ механические силы не столь значимый индуктор апоптоза, на что указывает независимость интенсивности ПКГ КМЦ от уровня артериального давления (АД) [Hamet P. et al., 1995; Díez. J. et al., 1997; Moreau P. et al., 1997; Liu J.J. et al., 2000]. Следовательно, в этом случае на передний план выходят негемодинамические факторы, вовлеченные в апоптотическую гибель КМЦ, однако полностью исключать роль механического стресса нельзя, так как он способствует высвобождению из клеток миокарда соединений, индуцирующих ПКГ [Sadoshima J., Izumo S., 1997]. Одним из ведущих гуморальных факторов, вовлеченных как в формирование АГ, так и в инициацию гибели сердечных миоцитов, является АТ II. Обнаружено, что он способствует гипертрофии и апоптозу КМЦ через взаимодействие с АТ<sub>1</sub>-рецептором на их мембране [Diep O.N. et al., 2002; Gonzalez A. et al. 2003], в то время как в других клеточных линиях (мышинных фибробластах, клетках феохромоцитомы крыс), апоптогенный сигнал реализуется через АТ<sub>2</sub>-рецепторы [Yamada T. et al., 1996], указывая на тканеспецифичность действия пептида. В экспериментах *in vitro* показано, что связывание АТ II с АТ<sub>1</sub>-рецепторами стимулирует апоптоз КМЦ нормотензивных крыс и крыс линии SHR, причем последние более чувствительны к апоптогенному действию АТ II [Cigola E. et al., 1997; Ravassa S. et al., 2000], что позволяет предполагать наличие у них некой внутриклеточной предрасположенности к апоптотической гибели. Интересно, что при этом активность каспазы-3 одинакова у крыс обеих линий, что говорит о существовании независимого от каспазы-3 эффекторного звена апоптоза в КМЦ SHR, возможно, реализующегося через сверхэкспрессию белка Bax и высвобождение нуклеаз из митохондрий [Xiang J. et al., 1996]. В связи с вазоконстрикторным и митогенным действием АТ II является наиболее исследуемым фактором при изучении АГ. В последнее время внимание фокусируется на его способности стимулировать синтез эндотелина-1 (ЕТ-1) [Pollock D.M., 2005] и АФК [Taniyama Y., Griendling K.K., 2003]. В экспериментах *in vivo* было показано, что крысы с АТ II-индуцированной АГ имеют повышенные уровни препроэндотелиновой матричной рибонуклеиновой кислоты (РНК) и экспрессии ЕТ-1 в почках [Alexander B.T. et al., 2001; Sasser J.M. et al., 2002]. Более того, АГ и изменения в эндотелиальной



функции, ассоциированные с длительным введением АТ II, могут быть ослаблены применением селективных антагонистов ЕТА-рецепторов [d'Uscio L.V. et al., 1997; Rajagopalan S. et al., 1997]. Таким образом, регуляция почечной эндотелиновой системы с помощью АТ II может быть важным механизмом, опосредующим его эффекты при АГ [Pollock D.M., 2000].

В ходе многочисленных исследований *in vitro* и *in vivo* было обнаружено, что ПКГ КМЦ может активироваться под влиянием различных стрессовых факторов, включая гипоксию, окислительный и токсический стресс. При этом апоптотическая программа реализуется с участием обоих путей сигнальной трансдукции. В ответ на действие АФК и различных токсинов на поверхности КМЦ повышается экспрессия рецепторов Fas и TNFR-1 [Krown K.A. et al., 1996; Nakamura T. et al., 2000]. Несмотря на то что в сердечных миоцитах присутствуют все компоненты рецепторного сигнального пути, включая каспазу-8, в клетках обнаруживается достаточное количество белков-антагонистов, таких как сFLIP [Imanishi T. et al., 2000]. Поскольку рецепторно-опосредованная клеточная гибель в значительной степени зависит от белок-белкового взаимодействия, уровень экспрессии определенных белков значимо влияет на последствия данного процесса для клетки. В нормальных условиях высокая экспрессия белков-ингибиторов в сердце предотвращает апоптоз, но в ответ на стресс ее уровень может изменяться, что, возможно, повышает чувствительность к ПКГ, индуцированной с участием внешнего сигнального пути. Таким механизмом можно объяснить явную аномалию, заключающуюся в том, что сверхэкспрессия Fas-лиганда у трансгенных мышей оказывается недостаточной для индукции клеточной гибели [Nagula J. et al., 2000], а апоптоз, инициированный ишемией-реперфузией, уменьшается у животных с дефектом Fas-рецептора [Jeremias I. et al., 2000]. Вероятно, роль «рецепторов смерти» в апоптозе КМЦ в значительной степени зависит от средовых факторов. Она может быть особо значимой на поздних стадиях сердечно-сосудистых заболеваний, когда повышено количество рецепторов и их лигандов, а защитные механизмы ослаблены [Clerk A. et al., 2003].

Важнейшим звеном реализации апоптотической программы являются митохондрии [Gustafsson A., Gottlieb R., 2008], так как выживание клетки в значительной мере зависит от состояния митохондриальных мембран [Gustafsson A.B., Gottlieb R.A., 2003; Halestrap A.P., 2006]. На внутренней мембране, в норме непроницаемой для протонов и других ионов, дыхательная цепь генерирует трансмембранный потенциал, который используется для синтеза АТФ. Повышение ее проницаемости

вызывает падение трансмембранного потенциала, что разобщает дыхательную цепь и окислительное фосфорилирование, снижая продукцию АТФ. В отличие от внутренней наружная мембрана проницаема для малых молекул, но в то же время непроницаема для белков. Повышение проницаемости наружной мембраны — одно из решающих событий, приводящих к апоптотической гибели. Существуют два основных механизма повышения проницаемости митохондриальных мембран: формирование МРТ-пор во внутренней мембране и формирование гигантских пор в наружной мембране с помощью проапоптотических белков Bax и Bak. МРТ-зависимая гибель имеет место при кальциевой перегрузке митохондрий, окислительном стрессе и под действием некоторых других индукторов [Zoratti M., Szabo I., 1995; Kim J.S. et al., 2003; Halestrap A.P., 2006; Kroemer G. et al., 2007; Norenberg M.D., Rao K.V., 2007].

Митохондрии сердечных миоцитов принимают участие в регуляции кальциевого гомеостаза. Располагаясь вблизи сайтов высвобождения ионов из саркоплазматического ретикулума, они могут улавливать их значительное количество [Rizzuto R. et al., 1993], предотвращая сильные колебания уровня саркоплазматического кальция [Arnaudeau S. et al., 2001]. Кальций, в свою очередь, оказывает влияние на энергетический обмен. Так, например, его поглощение митохондриями приводит к активации дегидрогеназ в митохондриальном матриксе [McCormack J.G. et al., 1990], в результате чего повышается содержание NADH и АТФ. Также предполагают, что в матриксе кальций активирует синтез АТФ через прямое воздействие на АТФ-синтетазу [Balaban R.S., 2002; Glancy B., Balaban R.S., 2012]. Очень важным аспектом жизнедеятельности клетки является поддержание определенного уровня кальция в митохондриальном матриксе с помощью кальциевых ионных каналов и  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника. При перегрузке митохондрий кальцием открываются МРТ-поры, высвобождается цитохром С, активируются каспазы и инициируется клеточная гибель [Szabadkai G., Rizzuto R., 2004; Halestrap A.P., 2006]. Интересно, что открытие этих пор не обязательно для индукции апоптоза по митохондриальному пути. Это необходимо для кальций- или АФК-опосредованной гибели, но не для гибели, регулируемой представителями семейства Bcl-2 [Baines C.P. et al., 2005; Chen X. et al., 2005]. Повышенное содержание кальция в цитоплазме также способно стимулировать апоптоз, но уже через активацию  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулин-зависимого кальцинейрина, что ведет к дефосфорилированию белка Bad и способствует транслокации Bax в митохондрию, встраиванию его в наружную мембрану, с последующим высвобождением цитохрома С. Индуктором данного сигнального каскада может

быть избыточная адренергическая активация сердечных миоцитов [Saito S. et al., 2000]. Кальциевая перегрузка или, наоборот, истощение пула ионов в саркоплазматическом ретикулуме также могут играть важную роль в ПКГ [Crow M.T. et al., 2004], активируя кальпаины, индуцирующие апоптоз через Bad, Bid и каспазу 12 [Gill C. et al., 2002]. Резкое падение содержания кальция в саркоплазматическом ретикулуме способствует высвобождению ДНКаз и последующей клеточной гибели [Nitahara J.A. et al., 1998].

Изменения коронарного кровотока, нередко наблюдаемые при гипертонической болезни [Frohlich E.D., 2001], приводят к ишемии миокарда, которая является одним из главных факторов, нарушающих равновесие между выживанием и гибелью клеток сердца [Depre C., Taegtmeier H., 2000]. Уменьшение продукции АТФ в митохондриях вследствие гипоксии или мутаций в генах, кодирующих белки дыхательной цепи, могут индуцировать клеточную гибель или увеличивать чувствительность клеток к апоптогенным сигналам [Gogman A.M. et al., 2000]. В связи с упомянутой выше предрасположенностью КМЦ крыс линии SHR к апоптозу необходимо обратить внимание на обнаруженные у них изменения ультраструктуры митохондрий, соответствующие таковым при состояниях, характеризующихся разобщением процессов окисления и фосфорилирования [Постнов Ю.В. и др., 2000]. При проведении клинических исследований в тканях больных с эссенциальной АГ был обнаружен дисбаланс энергопродукции и энергопотребления [Емелина Л.П., 1972; Resnick L.M. et al., 1994; Ronquist G. et al., 1995], что также позволяет предполагать у них нарушение АТФ-синтетической функции митохондрий [Постнов Ю.В., 2004]. Энергетический дефицит в клетках существенно изменяет транспорт не только кальция, но и других ионов. Обнаружено, что нарушение работы  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса приводит к падению концентрации внутриклеточного калия, накоплению натрия, увеличению содержания внутриклеточного свободного кальция и активации клеточной гибели преимущественно по типу апоптоза [Ziegelhoffer A. et al., 2000; Xiao A.Y. et al., 2002] с активацией каспазы-3 и эндонуклеаз [Dallaporta B. et al., 1998; Bortner C.D., Cidlowski J.A., 1999].

После открытия МРТ-пор содержание АТФ в клетке определяет вид ее гибели [Lemasters J.J. et al., 2009], так как клеткам нужна энергия не только для выполнения жизненных функций, но и для реализации апоптогической программы. Оказалось, что апоптоз включает энергозависимые звенья, к числу которых относится активация каспаз. Было выявлено, что временное и обратимое снижение содержания АТФ в клетках стимулирует их апоптотическую гибель, в то время как

почти полное истощение энергетических запасов вызывает некроз [Kushnareva Y., Newmeyer D.D., 2010]. При слишком низком уровне внутриклеточной АТФ даже обычные апоптотические индукторы могут стать причиной некротической гибели [Nicotera P., Melino G., 2004; Skulachev V.P., 2006]. Эксперименты *in vitro* показали, что АТФ ингибирует формирование апоптосомы и, следовательно, активацию каспазы-9. Таким образом, падение содержания АТФ в клетках является не сопутствующим явлением, а проапоптотическим событием, вносящим вклад в клеточную гибель [Samali A. et al., 2007]. Активированные после повышения проницаемости митохондриальной мембраны каспазы, в свою очередь, могут привести к резкому снижению энергопродукции путем расщепления в митохондриях компонентов комплекса I и, возможно, комплекса II [Ricci J.E. et al., 2003, 2004], активность комплекса IV при этом сохраняется, обеспечивая в ограниченном объеме работу дыхательной цепи.

АГ является мультифакториальным заболеванием и результатом динамического взаимодействия между генетическими, физиологическими и средовыми факторами, к числу которых относится и окислительный стресс, возникающий при увеличении продукции АФК и ослаблении антиоксидантной защиты [Puddu P. et al., 2008; Sugamura K., Keaney J.F.Jr., 2011; Montezano A.C., Touyz R.M., 2012]. АФК включают нестабильные свободные радикалы (супероксид) и пероксид водорода, которые изначально рассматривались как индукторы негативных клеточных процессов, но сейчас доказано их участие в инициации защитных механизмов, активации транскрипционных факторов и регуляции сигнальной трансдукции [Jacob C. et al., 2011]. В сердечно-сосудистой системе АФК играют роль в физиологических процессах — контроле эндотелиальной и сердечной функции, а также в патофизиологических — воспалении, гипертрофии, пролиферации и апоптозе, вносящих вклад в ремоделирование сердечно-сосудистой системы при АГ и других заболеваниях [Touyz R.M., 2005; Förstermann U., 2008].

Гипотеза о взаимосвязи между свободными радикалами и АГ была впервые выдвинута в 1960-х гг. [Romanowski A. et al., 1960], но только в 1990-х гг. началось детальное исследование механизмов, лежащих в основе этой ассоциации. Было показано, что назначение Cu/Zn-супероксиддисмутазы гипертензивным крысам спонтанно сопровождается снижением АД [Nakazono K. et al., 1991], а при АТ II-индуцированной АГ у крыс повышается обусловленная активацией НАДФ-оксидазы продукция АФК в сосудах [Rajagopalan S. et al., 1996]. Результаты многочисленных исследований, проведенных в последующие годы, продемонстрировали значимость АФК в регу-

ляции АД [Touyz R.M., 2004]. Связь между окислительным стрессом и повышенным кровяным давлением выявлена на различных моделях АГ, включая генетически обусловленную (у крыс линии SHR) и индуцированную различными факторами (АТ II, альдостероном, сужением аорты, солевой диетой) [Rey F.E. et al., 2001; Viridis A. et al., 2004; Viel E.C. et al., 2008; Harrison D.G., Gongora M.C., 2009; Jia Z. et al., 2010; Rivera J. et al., 2010; Grande M.T. et al., 2011; Murdoch C.E. et al., 2011; Bhatia K. et al., 2012]. В связи с тем что подавление активности АФК-продуцирующих ферментов и применение антиоксидантов снижает АД, в то время как прооксиданты его повышают, было выдвинуто предположение о том, что АФК могут быть причинными факторами АГ, по крайней мере, в экспериментальных моделях [Montezano A.C., Touyz R.M., 2012]. Источниками АФК при сердечно-сосудистых заболеваниях являются NO-синтаза, ксантин-оксидоредуктаза, дыхательная цепь митохондрий, НАДФ-оксидаза [Adlam D. et al., 2007; Nishino T. et al., 2008; Sedeek M. et al., 2009], причем роль НАДФ-оксидазы особенно велика при АГ [Touyz R.M. et al., 2002; Geiszt M., 2006; Bedard K., Krause K.H., 2007; Sedeek M. et al., 2009; Briones A.M. et al., 2011; Xue B. et al., 2011]. В экспериментах *in vivo* было обнаружено, что мыши, лишённые p47phox-субъединицы НАДФ-оксидазы, дают гораздо более слабый гипертензивный ответ на введение АТ II [Landmesser U. et al., 2002]. АФК оказывают разнообразные эффекты на внутриклеточные процессы: активируют MAP-киназы, тирозин-киназы, Rho-киназу и транскрипционные факторы (NF- $\kappa$ B, AP-1, NIF-1), увеличивают концентрацию внутриклеточного свободного кальция и т.д. В сосудистом русле все это приводит к дисфункции эндотелия, вазоконстрикции, ремоделированию, повышению периферического сопротивления и увеличению АД [Lee M.Y., Griendling K.K., 2008; Touyz R.M., Briones A.M., 2011]. В почках АФК приводят к повреждению гломерул, потере нефронов, задержке воды и натрия в организме, что также важно для развития АГ [Wilcox C.S., 2005]. Образование АФК НАДФ-оксидазой в гипоталамусе и околожелудочковых органах вовлечено в центральный контроль АГ через симпатическую нервную систему [Harrison D.G., Gongora M.C., 2009]. Хотя окислительный стресс играет значимую роль в патогенезе АГ, он не единственная причина повышения АД, что подтверждается исследованиями, согласно которым антиоксиданты снижают, но не нормализуют АД в экспериментальных моделях АГ [Chen X. et al., 2001; Viridis A. et al., 2004; Viel E.C. et al., 2008]. Так, антиоксидантное лечение с миметиком супероксиддисмутазы темполом или комбинацией витаминов С и Е оказывает антигипертензивный эффект и уменьшает АТ II-индуцированные изменения в экспрессии ET-1 [Schnackenberg C.G.

et al., 1998; Nishiyama A. et al. 2001; Ortiz M.C. et al., 2001; Meng S. et al., 2003]. Длительное лечение крыс DOCA-солевой моделью гипертонии темполом и ингибитором НАДФ-оксидазы апоцинином, так же как и антагонистами ЕТА-рецепторов снижает АД [Li J.S. et al., 1994; Allcock G.H. et al., 1998; Beswick R.A. et al., 2001a, 2001b]. Исследования *in vitro*, демонстрирующие увеличение продукции ЕТ-1 в культуре эндотелиальных и гладкомышечных клеток под действием АФК, позволяют предполагать определенную зависимость ЕТ-индуцированной вазоконстрикции от продукции супероксид-аниона [Diederich D. et al., 1994; Yura T. et al., 1999; Kahler J. et al. 2001; Wedgwood S. et al., 2001], в связи с чем вопрос относительно взаимосвязи окислительного стресса с эндотелиновой системой требует дальнейшего изучения.

Наряду с НАДФ-оксидазой одним из основных источников АФК в сердце является дыхательная цепь митохондрий. До 2% молекулярного кислорода, потребляемого митохондриями, превращается в супероксид с участием комплексов I и III [Chen Q. et al., 2003; Turrens J.F., 2003]. Большое количество митохондрий в сердечных миоцитах и высокий уровень окислительного фосфорилирования приводят к генерации значительного количества супероксида, который в норме обезвреживается митохондриальными антиоксидантными ферментами (супероксиддисмутазой (MnSOD), каталазой и глутатионпероксидазой) [Nordberg J., Arner E.S., 2001; Giordano F.J., 2005]. Продукция АФК в количествах, превышающих детоксицирующую способность, приводит к окислительной модификации митохондриальных белков, липидов, ДНК, завершающихся митохондриальной дисфункцией и клеточной гибелью. Под действием АФК в АТФ/АДФ-антипортере, находящемся во внутренней мембране митохондрий, происходит окисление SH-группы Cys-56, что приводит к превращению этого переносчика нуклеотидов в неспецифический канал — МРТ-пору, нарушению осмотического баланса между матриксом и межмембранным пространством митохондрий, набуханию матрикса и разрыву митохондриальной мембраны. В результате происходит митоптоз (гибель митохондрии) или апоптоз (гибель клетки) [Скулачев В.П., 2001]. Обнаружено, что АФК в митохондриях продуцируются по принципу положительной обратной связи, т.е. осуществляется АФК-индуцированное высвобождение АФК [Zorov D.V. et al., 2000; Aon M.A. et al., 2003], что способствует дальнейшему усилению клеточной гибели.

Резюмируя значение окислительного стресса для сердечно-сосудистой системы при АГ, следует отметить его плейотропное действие на сердечные миоциты, проявляющееся в усилении как апоптотической гибели, так и гипертрофических процессов [Siwik D.A. et al., 1999; Murdoch C.E. et al., 2006].

Гипертрофия ЛЖ выявляется примерно у половины больных с АГ. Термин «гипертоническое сердце» определяет все многообразие функциональных и морфологических изменений в сердце как в органе-мишени [Фролов В.А., Дроздова Г.А., 1984]. Будучи самостоятельным фактором риска развития сердечно-сосудистых осложнений, гипертрофия ЛЖ значительно ухудшает прогноз у больных АГ. Риск развития инфаркта миокарда и внезапной смерти, возникновения аритмии и сердечной недостаточности увеличивается в 6–8 раз [Кобалава Ж.Д., Котовская Ю.В., 2001; Рязанов А.С., 2003]. Гипертрофия миокарда ЛЖ, индуцированная АГ, представляет неадекватную реакцию на гемодинамическую перегрузку. При этом увеличивается продукция различных вазоактивных соединений, таких как АТ II, ЕТ-1, норадреналин [Yamazaki T. et al., 1997], Pho- и Ras-белки [Ainawaka R. et al., 1999; Barandier C. et al., 2003], играющих ключевую роль в гипертрофическом ответе на системную АГ. Окислительный стресс, белки теплового шока [Lee K.H. et al., 2010], кальций и кальцинейрин [Molkentin J.D. et al., 1998], NF- $\kappa$ B [Li Y. et al., 2004; Pereira S.G., Oakley F., 2008], интегрины [Marino J.S. et al., 2008], некоторые киназы (PKC, MAPK) также вовлечены в гипертрофические процессы. Однако следует отметить, что антигипертензивный эффект многих препаратов не всегда коррелирует с их способностью предотвращать развитие гипертрофии [Cacciaruoti F., 2011].

В сердце имеется локальная ренин-ангиотензиновая система, активирующаяся в ответ на гемодинамическую перегрузку и связанная с формированием гипертрофии [Schunkert H. et al., 1990; Suzuki J. et al., 1993; Yamazaki T., Yazaki Y., 1997; Lijnen P., Petrov V., 1999]. АТ II является основным вазоактивным соединением ренин-ангиотензиновой системы, оказывающим на сердечно-сосудистую систему как системное, так и местное действие, включая вазоконстрикцию, высвобождение альдостерона и клеточный рост [Zimmerman B.G., Dunham E.W., 1997]. Экспериментальные и клинические исследования показали, что подавление ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) уменьшает гипертрофию, индуцированную перегрузкой [Yamazaki T. et al., 1999; Devereux R.B., 2000]. Гипертрофия, обусловленная активацией АТ<sub>1</sub>-рецептора в КМЦ мышей, сопровождается стимуляцией MAPK-киназного каскада, PKC, повышением концентрации внутриклеточного кальция и трансактивацией рецептора к эпидермальному фактору роста [Sadoshima J. et al., 1995; Thomas W.G. et al., 2002; Chan H.W. et al., 2006]. АТ II также увеличивает уровень ЕТ-1 в культуре КМЦ крыс, что подтверждается уменьшением индуцированной АТ II гипертрофии КМЦ после применения антагонистов рецепторов к ЕТ-1 [Ito H.

et al., 1993]. Участниками сигнальных каскадов, активирующимися в миоцитах в ответ на действие АТ II, ЕТ-1 и механического стресса, и вовлеченными в развитие гипертрофии, являются малые G-протеины (Ras, Rho и др.) [Aikawa R. et al., 1999; Clerk A., Sugden P.H., 2000]. Представители ERK-семейства (от англ. extracellular signal-regulated kinases) MAP-киназ активируются в ответ на АТ II, ЕТ-1 и норадреналин и стимулируют синтез белка и гипертрофию [Clerk A. et al., 2006; Muslin A.J., 2008], но не являются единственными участниками индуцирующей гипертрофию киназного каскада [Purcell N.H. et al., 2007]. В трансдукции ростового сигнала также принимают участие JNK киназы (с-Junamino-terminalkinase) [Minamino T. et al., 2002], MAP-киназа p38 [Wang Y., 2007; Bassi R. et al., 2008], РКС [Dorn G.W.Jr., Force T., 2005]. Исследования *in vitro* показали, что растяжение КМЦ стимулирует секрецию АТ II КМЦ, и он может действовать по аутокринному механизму [Sadoshima J. et al., 1993]. Локальный АТ II вызывает активацию протеинкиназ ERK, стимулирует синтез белков в КМЦ [Zou Y. et al., 1996], стимулирует выработку фибробластами и КМЦ ЕТ-1, который также вносит вклад в активацию ERK-киназ [Yamazaki T. et al., 1996; Narada M. et al., 1997]. В то же время существуют экспериментальные данные, указывающие на способность КМЦ при растяжении увеличивать синтез белка и экспрессию специфических генов без участия внешних факторов [Komuro I. et al., 1991; Yamazaki T., Yazaki Y., 2000]. Существует предположение, что АТ<sub>1</sub>-рецепторы могут выступать механосенсорами, активирующимися при растяжении КМЦ независимо от действия АТ II [de Mello W.C., 2011].

Несмотря на то что сердечные миоциты относятся к клеткам с ограниченным пролиферативным потенциалом, обнаружено, что ростовые стимулы, в том числе гемодинамическая перегрузка, могут не только активировать гипертрофические процессы, но и стимулировать вступление некоторых клеток в митотический цикл [Beltrami A.P. et al., 2001; Quainin F. et al. 2002; Nadal-Ginard B. et al., 2003; Гудкова А.Я., Шляхто Е.В., 2008]. Индукция репликации ДНК в КМЦ может завершиться делением, образованием дву- или многоядерной клетки, а также увеличением плоидности ядра. Первые данные о полиплоидных ядрах КМЦ появились в начале 1970-х гг. [Бродский В.Я., Урываева И.В., 1981]. Полиплоидизация является вариантом пролиферации, при котором митотический цикл осуществляется не до конца и, возможно, представляет компенсаторный резерв сердца [Бродский В.Я., 1995], так как увеличение «дозы генов» может способствовать увеличению транскрипционной, а значит, и метаболической активности клеток миокарда. Наличие нескольких копий генов также может быть выгодно



в присутствии повреждающих ДНК агентов, например, в условиях развивающегося при АГ окислительного стресса [Шляхто Е.В. и др., 2007].

Патологическая гипертрофия, в отличие от физиологической, обычно ассоциирована с усилением клеточной гибели и сопровождается повышением экспрессии белка Вах и Fas-рецептора [Kang P.M. et al., 2004; Bernardo V.C. et al., 2010]. Это может быть обусловлено наличием индукторов, общих для гипертрофических и апоптотических процессов (АТ II, ЕТ-1, АФК). Возможно также, что хроническое персистирование ростовых сигналов в терминально дифференцированных клетках оказывает противоположный эффект и запускает апоптоз [Narula J. et al., 2000]. Проапоптотическими звеньями сигнальных путей, вероятно, являются JNK и MAP-киназа p38 [Wang Y. et al., 1998; Kang P.M. et al., 2002]. Можно предположить, что активация метаболизма при гипертрофии миокарда может сопровождаться формированием умеренного энергетического дефицита, также способствующего апоптотической гибели КМЦ.

Таким образом, индукторами апоптоза клеток миокарда могут выступать различные факторы: вазоактивные пептиды, АФК, механический стресс, энергетический дефицит и т.д. Но в то же время они приводят к активации одних и тех же сигнальных путей, участвующих в реализации апоптотической программы. Центральную роль в регуляции ПКГ в миокарде играют белки семейства Bcl-2. В ответ на апоптогенный сигнал ВНЗ-белки (Bid, Bnip3, Puma и др.) связываются и нейтрализуют антиапоптотические Bcl-2 белки, высвобождая, таким образом, Вах или Вак. Белок tBid, может напрямую взаимодействовать с Вах и Вак и инициировать клеточную гибель. В здоровых клетках Вах находится в цитозоле, а под действием апоптогенного сигнала стремительно транслоцируется в митохондрии, в то время как Вак изначально присутствует в митохондриях в виде интегрального мембранного белка. Хотя точные механизмы повышения проницаемости мембраны неизвестны, предполагают, что это может быть результатом конформационных изменений Вах или Вак, их полного встраивания в митохондриальную мембрану и формирования гигантских пор [Kuwana T. et al., 2002]. Хроническая гипоксия, растяжение КМЦ, хроническая гемодинамическая перегрузка миокарда ЛЖ крыс коррелируют с повышением Вах и понижением уровня Bcl-2, что сопровождается митохондриальной дисфункцией и клеточной гибелью [Condorelli G. et al., 1999; Jung F. et al., 2001]. Также обнаружено, что экспрессия Вах активируется в КМЦ в ответ на окислительный стресс [Gustafsson A.B. et al., 2004] и ишемию [Hochhauser E. et al., 2003; Eefting F. et al., 2004; Capano M., Crompton M., 2006]. Исследования *in vitro* показали, что АТ II, связываясь с АТ<sub>1</sub>-

рецепторами, запускает апоптоз путем стимуляции р38 MAP-киназной активности, активации белка р53 с последующим уменьшением соотношения Bcl-2/Bax, активацией каспазы-3, стимуляцией кальций-зависимой ДНКазы I и фрагментацией ДНК [Ravassa S. et al., 2000; Sharov V.G. et al., 2003]. Антиапоптотические белки семейства Bcl-2 выполняют присущую им защитную функцию, действуя на различные мишени. Так, Bcl-2 предотвращает повышение проницаемости внешней мембраны, подавляя активацию белков Bax и Bak [Gustafsson A.B., Gottlieb R.A., 2006], а также блокирует открытие MPT-пор, чем повышает кальциевый порог в митохондриях [Zhu L. et al., 2001]. Кальциевая перегрузка митохондрий также сопровождается образованием АФК и последующим образованием MPT-пор, причем окислительный стресс способствует повышению проницаемости мембраны. Более того, возможно, что при ишемии-реперфузии в КМЦ первичным является образование АФК, а не кальциевая перегрузка [Kim J.S. et al., 2006]. Таким образом, повышение проницаемости наружной митохондриальной мембраны и падение трансмембранного потенциала являются универсальными признаками клеточной гибели и могут рассматриваться как точка невозврата в событиях, ведущих к клеточной гибели [Green D.R., Kroemer G., 2004], реализующейся через разнообразные независимые механизмы. К их числу относятся активация каспаз и высвобождение каспазозависимых эффекторов (AIF). Основным белком, высвобождающимся из митохондрий КМЦ, является цитохром С, функционирующий в дыхательной цепи. Поступая в цитозоль, он ассоциируется с Araf-1, d-АТФ и каспазой-9, формируя комплекс, известный как апоптосома [Zou H. et al., 1999]. Это активирует каспазу-9, которая разрезает и активирует каспазу-3, приводя к кульминации клеточной гибели. Каспазы, в свою очередь, могут проникать через наружную мембрану митохондрий при повышении ее проницаемости и разрезать компоненты комплекса I, нарушая клеточное дыхание [Ricci J.E. et al., 2004]. Роль каспаз в апоптозе КМЦ исследовалась с использованием флуоресцентной микроскопии [Kostin S. et al., 2003] и ингибиторов каспаз [Holly T.A. et al., 1999]. Так, известно, что каспаза-3 расщепляет миофибрилярные белки в сердце, миофиламенты, разрушает структуру саркомеров и уменьшает сократимость поврежденного миоцита, а блокада каспазной активности улучшает сократительную способность сердца [Laugwitz K.L. et al., 2001]. Однако ингибирование каспаз не оказывает эффекта на потерю разности потенциалов и откладывает, но не предотвращает клеточную гибель, индуцированную по митохондриальному пути [Boya P. et al., 2005]. Существуют данные, согласно которым апоптоз может реализоваться в КМЦ через каспазозависимые сигнальные

пути, возможно с участием AIF и эндонуклеазы G [Bae S. et al., 2010]. Высвобождающиеся из митохондрий в цитозоль AIF и эндонуклеаза G перемешаются в ядро, где стимулируют конденсацию и фрагментацию хроматина [Li L.Y. et al., 2001; Kim G.T. et al., 2003; Bahi N. et al., 2006]. Несмотря на приведенные данные, в большинстве случаев альтерация миокарда сопровождается активацией эффекторных каспаз [Whelan R.S. et al., 2010]. В линии мышей, лишенных Fas-рецептора, выявляется меньшая интенсивность апоптоза, вызванного введением доксорубина [Nakamura T. et al., 2000], а также значимое уменьшение зоны инфаркта после ишемии-реперфузии [Lee P. et al., 2003], в то время как делеция гена TNFR не влияет на размер инфарктной зоны [Kurtelmeier K.M. et al., 2000]. Таким образом, можно предположить, что именно Fas, а не TNF, является основным фактором, активирующим внешний сигнальный путь в КМЦ. Сверхэкспрессия Bcl-2 в КМЦ также уменьшает зону инфаркта и апоптоз КМЦ после ишемии-реперфузии [Chen Z. et al., 2001], аналогичным образом влияет и дефицит Bax [Hochhauser E. et al., 2007]. Делеция гена PUMA уменьшает зону инфаркта на 50% [Toth A. et al., 2006]. Эти данные позволяют полагать, что внутренний сигнальный путь играет центральную роль в реализации апоптотической программы в клетках миокарда.

### **1.3.2. АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

Если по вопросу об участии апоптотической гибели клеток сердечной мышцы в реакции сердца на перегрузку мнения большинства исследователей в основном согласуются друг с другом и дискуссия ведется главным образом по части трактовки конкретных механизмов, то в отношении очаговой ишемии данные различных авторов нередко расходятся. Отметим сразу, что существует целая серия публикаций, основанных на результатах как экспериментальных, так и клинических исследований, в которых высказываются сомнения о возможности увеличения интенсивности апоптоза КМЦ при ишемии миокарда [Симоненко Б.В. и др., 2000; Yaoita H. et al., 2000; Elsässer A. et al., 2001; Rodríguez M. et al., 2002; Takemura G. et al., 2006]. Однако более многочисленную группу составляют работы, в которых, напротив, убедительно продемонстрировано усиление апоптотических процессов.

По данным M. Prech и соавт. (2010), после перенесенного инфаркта в участках миокарда с нарушенной микроциркуляцией наблюдается активация каспазы-3, снижение содержания Bcl-2, появление апоптотических телец. Следует отметить, что апоптоз КМЦ фиксируется

в основном в так называемой пренекротической (периинфарктной) области ЛЖ, являющейся макроскопически жизнеспособной [Rodríguez-Calvo M.S. et al., 2001; Abbate A. et al., 2005, 2007; Zidar N. et al., 2007]. Однако имеются сообщения о появлении апоптотически измененных КМЦ и в самом очаге инфаркта [Сторожаков Г.И. и др., 2000; Rodríguez-Calvo M.S. et al., 2001]. Апоптоз может выступать не только в качестве причины потери значительного числа клеточных элементов миокарда на острой стадии ишемического повреждения. Считается, что и на поздних этапах процесса за прогрессирующее снижение количества КМЦ ответственна их апоптотическая гибель, являющаяся, таким образом, одним из механизмов развития постинфарктного ремоделирования и сердечной недостаточности [Залесский В.Н. и др., 2003; Takemura G. et al., 2004]. При этом А.П. Хлапов и соавт. (2008) отмечают, что повышенной восприимчивостью к апоптогенным влияниям обладают КМЦ на ранних стадиях ишемического ремоделирования и ХСН, тогда как на этапе ухудшения коронарного кровообращения и развития кардиосклероза значение апоптоза в формировании сердечной недостаточности невелико. Вместе с тем в клинических исследованиях установлено, что апоптоз КМЦ играет определяющую роль на ранних стадиях развития дилатации ЛЖ у пациентов с ИБС [Хлапов А.П. и др., 2008].

Интенсификация апоптотической гибели гибернирующих КМЦ наблюдается в перирубцовой зоне миокарда у пациентов с хронической аневризмой, что расценивается как фактор, способствующий расширению аневризматических образований [Браниште Т. и др., 2004].

Апоптоз КМЦ способен внести свой вклад в нарушение тканевого гомеостаза миокарда не только в острый период очаговой ишемии, но, как выяснилось, и при реперфузионном синдроме [Залесский В.Н. и др., 2002]. В экспериментальных исследованиях И.А. Швед и соавт. (2009) показано, что при перевязке коронарной артерии в перифокальной зоне количество апоптотически измененных клеток увеличивается незначительно, однако при восстановлении кровотока индекс апоптоза резко повышается, достигая уровня 29,5% через 3 ч, а затем начинает снижаться. При этом, по данным тех же авторов, при реперфузии также усиливаются некротические процессы.

Одним из неблагоприятных последствий синдрома ишемии-реперфузии может быть расширение зоны инфаркта, за которую отвечают в том числе апоптотические процессы. В результате реперфузии в КМЦ увеличивается образование АФК, которые вызывают воспалительные реакции, способствуют перегрузке клеток ионами  $Ca^{2+}$ , что, в свою очередь, инициирует митохондриальный путь апоптоза, стимулируют

митоген-активированные протеинкиназы [Zhao Z.Q. et al., 2003, 2004]. В последние годы были описаны и другие механизмы, за счет которых оксидативный стресс, обусловленный ишемическим и реперфузионным воздействием, способен оказывать эффект на гомеостаз сердечной мышцы. АФК влияют на сигнальную трансдукцию, приводящую к усилению продукции в ишемическом очаге и окружающем жизнеспособном миокарде воспалительных цитокинов, таких как ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6. Последние вместе с АФК нарушают обмен внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ . При этом считается, что воспалительные цитокины в большей степени ответственны за индукцию апоптоза посредством взаимодействия ФНО- $\alpha$  с мембранными рецепторами, тогда как кальциевая перегрузка преимущественно вызывает некротические изменения за счет повреждения митохондрий [Hori M. et al., 2009]. Значение ФНО- $\alpha$  в описанных явлениях подтверждается также исследованиями X. Lu и соавт. (2006).

Напомним, что ИЛ-10 обладает противовоспалительным эффектом в отношении инфарктированного миокарда. Недавние исследования показали, что ИЛ-10 проявляет также антиапоптотическую активность в КМЦ, ингибируя ФНО- $\alpha$ -зависимую индукцию проапоптотического фактора NF  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B) [Dhingra S. et al., 2009]. Аналогичную способность к ослаблению апоптогенного эффекта ФНО- $\alpha$  на сердечные миоциты имеет фактор SOCS-1 (suppressor of cytokine signaling-1 — супрессор цитокинового сигнала 1). Механизм действия последнего реализуется через модуляцию MAPK (mitogen-activate protein kinase — митоген-активируемые протеинкиназы) [Yan L. et al., 2008]. Помимо указанных антиапоптотических механизмов, описана активация экспрессии гена Bcl-xL в КМЦ при ИБС и сердечной недостаточности [Ogata Y. et al., 2003].

Резюмируя изложенные факты, отражающие участие апоптотических процессов в реакциях миокарда на ишемическое повреждение, следует отметить, что в литературе содержится недостаточно данных о роли конкретных молекулярных путей, обеспечивающих индукцию, трансдукцию и амплификацию сигналов клеточного танатогенеза.

### **1.3.3. АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ДИСТРОФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ МИОКАРДА**

В нескольких независимых исследованиях сообщается об увеличении индекса апоптоза при остром миокардите [Kytö V. et al., 2004; Zorc-Pleskovic R. et al., 2006; Abbate A. et al., 2009].

По другим данным, усиление апоптоза КМЦ не типично для воспалительного поражения миокарда и наблюдается только у незначитель-

ной части пациентов, тогда как основную роль в развитии морфологических изменений сердечной мышцы играют некротические процессы [Цыпленкова В.Г. и др., 2002].

Анализ работ, результаты которых согласуются с первой точкой зрения, свидетельствует о том, что реализация апоптотической программы в КМЦ может отличаться в зависимости от природы воспалительного процесса. Так, установлено, что при вирусном миокардите происходит интенсификация апоптоза клеток сердечной мышцы посредством трансдукции апоптогенного сигнала по внешнему (рецепторно-опосредованному) пути [deBiasi R.L. et al., 2010].

Одним из возможных механизмов, за счет которых вирус Коксаки В может индуцировать апоптоз КМЦ, является кальциевая перегрузка. По данным X. Hu и соавт. (2001), при инфицировании культуры КМЦ *in vitro* вирусом Коксаки штамма CVB3 в клетках, с одной стороны, резко увеличивается содержание  $Ca^{2+}$ , а с другой — значительно активируются апоптотические процессы.

К. Mihatsch и соавт. (2009) сообщают, что при инфицировании лабораторных мышей вирусом Коксаки В3 (CVB3) в миокарде резко усиливается продукция проапоптотического протеина Siva. Необходимо отметить, что подобная методика моделирования не всегда позволяет успешно воспроизвести вирусный миокардит. Известно, что для этого требуется соблюдение ряда дополнительных условий, причем наиболее важным из них является принадлежность животных к определенной генетической линии [Амосова Е.Н., 1999]. В этой связи в последнее время все большее внимание уделяется наследственным факторам, определяющим предрасположенность организма к развитию воспалительных заболеваний миокарда. При этом некоторые гены обладают защитными свойствами. Например, ген *Sirt7*, относящийся к семейству сиртуинов, отвечает за деацетилирование p53, обладая, таким образом, антиапоптотическим эффектом. У мышей с дефектным геном *Sirt7* развивается выраженная гипертрофия миокарда, воспалительная кардиомиопатия на фоне 200% увеличения интенсивности апоптоза клеток миокарда и снижения устойчивости к оксидативному и генотоксическому стрессу [Vakhrusheva O. et al., 2008].

В исследованиях Y. Shen и соавт. (2009) было обнаружено, что при экспериментальном миокардите, вызванном CVB3, в первые несколько суток инфекционного процесса уровень апоптоза КМЦ находится в прямой корреляционной зависимости от титра вируса в сердечной мышце, причем вирусные протеины определялись именно в TUNEL-позитивных (апоптотически измененных) клетках, что, по мнению авторов, свидетельствует о выраженной зависимости апоптотических

процессов от интенсивности репликации вируса. На поздних стадиях заболевания воспалительные явления и апоптоз фиксировались только в тяжелых случаях.

При экспериментальном боррелиозе, вызванном у мышей изогенным серотипом *Borrelia turicatae*, было отмечено развитие миокардита, сопровождающегося выраженной инфильтрацией и активацией макрофагов и гиперпродукцией ИЛ-6 преимущественно в области основания сердца. Параллельно с этим наблюдалась интенсификация апоптоза КМЦ и макрофагов при значительном повышении активности каспаз, особенно каспазы-1 [Londoño D. et al., 2005].

Между тем при развитии миокардита, обусловленного возбудителем хламидиоза (*Chlamydia trachomatis* и *Chlamydia pneumoniae*), на фоне выраженного повреждения КМЦ, сочетающегося с увеличением высвобождения лактатдегидрогеназы, усиленной продукцией АФК и снижением уровня АТФ, признаков активизации апоптотических механизмов в инфицированных клетках, по данным G. Wang и соавт. (2002), не обнаруживается.

Пожалуй, наиболее распространенным заболеванием инфекционной природы, сопровождающимся поражением миокарда, является дифтерия. В настоящее время в связи с широким использованием вакцины для профилактики дифтерии, коклюша и столбняка [вакцины коклюшно-дифтерийно-столбнячной адсорбированной (АКДС-вакцины)\*] такое опасное для жизни инфекционное заболевание, как дифтерия, встречается крайне редко. Однако еще совсем недавно, в 1990-х гг. в странах бывшего Советского Союза возникла эпидемия дифтерии, сопровождавшаяся гибелью тысяч людей. Так, с 1990 по 1999 г. на данной территории было зарегистрировано 158 000 случаев дифтерии, среди них 4000 закончились летальным исходом [Эмироглу Н., 2001]. Данные цифры свидетельствуют о том, что забывать об этом заболевании рано.

Известно, что самым грозным осложнением дифтерии является развитие миокардита, представляющего одну из главных причин смерти при данной инфекции. Именно синдром дифтерийного сердца, а не постдифтерийные параличи, следует рассматривать как серьезный предвестник летального исхода. Уже на самых ранних стадиях дифтерийного миокардита (в пределах 1–3 сут от начала патологического процесса) начинают развиваться грубые нарушения обмена липидов, заключающиеся главным образом в резком повышении интенсивности высвобождения фосфолипидов из разрушающихся мембран митохондрий и формировании в миокарде из этих фосфолипидов массивных внутриклеточных включений [Фролов В.А. и др., 1996].

Несмотря на то что патогенез дифтерийного миокардита к настоящему времени довольно подробно изучен, в литературе практически отсутствуют данные о влиянии гистотоксина *Corynebacterium diphtheriae* на процессы ПКГ КМЦ и их возможной роли в развитии морфофункциональных изменений сердечной мышцы при данном заболевании.

В последнее время активно изучаются механизмы ПКГ КМЦ и других клеточных элементов миокарда при различных кардиодистрофических процессах, в первую очередь при кардиомиопатиях. О роли апоптоза в динамике морфологических изменений миокарда при ДКМП мнения различных авторов довольно неоднородны. В более ранних работах отмечается, что четких доказательств участия апоптотических механизмов в развитии данной формы патологии нет [Kanoh M. et al., 1999; Schaper J. et al., 1999]. Однако использование современных тонких методов детекции маркеров апоптоза позволило другим исследователям установить обратное [di Napoli P. et al., 2003; Ibe W. et al., 2007; Aharinejad S. et al., 2008; Birks E.J. et al., 2008]. При этом в одной из публикаций указывается, что при ДКМП происходит нарушение продукции мембранного протеина Apollon, который в обычных условиях ингибирует каспазу-9, проявляя антиапоптотное действие [Aharinejad S. et al., 2008].

Что касается апоптоза КМЦ при гипертрофической и рестриктивной кардиомиопатиях, данный вопрос на сегодняшний день остается малоизученным.

Недавно в качестве самостоятельной формы идиопатической кардиомиопатии была описана так называемая аритмогенная правожелудочковая дисплазия, которая характеризуется развитием в миокарде ПЖ жирового перерождения и фиброза, клинически проявляющегося в виде желудочковой тахикардии [Амосова Е.Н., 1999]. Роль апоптотической гибели КМЦ в изменении архитектоники сердечной мышцы при данном типе дистрофического процесса была убедительно продемонстрирована в исследованиях M.S. Runge и соавт. (2000) и В.Г. Цыпленковой с соавт. (2007).

В некоторых публикациях приводятся результаты исследований программированной гибели клеток миокарда при специфических формах кардиомиопатии. В частности, отмечается, что для ишемической и диабетической кардиомиопатии характерно появление дополняющих друг друга иммуногистохимических (TUNEL-позитивных ядер) и ультраструктурных признаков апоптоза КМЦ [Цыпленкова В.Г., 2009; Цыпленкова В.Г. и др., 2010]. Аналогичные результаты получены и при изучении гипертензивной кардиомиопатии, сочетающейся с гипертрофией ЛЖ [Anselmi A. et al., 2008]. Речь в данном случае идет не об



идиопатической ГКМП, а именно о вторичной миокардиодистрофии, обусловленной длительной гемодинамической перегрузкой.

О возможности гибели КМЦ по типу апоптоза при экспериментальной миокардиодистрофии, вызванной хронической эндогенной интоксикацией и токсическим воздействием цитостатиков, сообщается в исследовании В.Б. Писарева и соавт. (2007). В аналогичных экспериментах с введением лабораторным крысам противоопухолевого антибиотика дауномицина (антрациклиновая кардиомиопатия) наблюдалось развитие регенераторно-пластической недостаточности миокарда, сопровождающейся угнетением протеосинтеза [Семенов Д.Е. и др., 2001], лизисом миофибрилл и очаговой дегенерацией саркоплазмы [Непомнящих Л.М. и др., 2000], что приводило к апоптотической гибели части КМЦ [Непомнящих Л.М. и др., 2001].

Обобщая представленные в настоящем подразделе данные, можно отметить, что усиление апоптоза КМЦ наблюдается при многих распространенных заболеваниях сердечно-сосудистой системы. В этой связи целым рядом исследователей данный феномен рассматривается в качестве одного из основных патогенетических звеньев, опосредующих развитие ХСН [Sabbah H.N., 2001; Ikeda S. et al., 2002; Goldspink D.F. et al., 2003; Макарков А.И. и др., 2003; Рыбакова М.Г. и др., 2004; Moorjani N. et al., 2006, 2009; Hikoso S. et al., 2007; Бершова Т.В. и др., 2009; Гасанов А.Г., 2009]. Однако, на наш взгляд, для оценки правомочности данной концепции требуется дальнейшее изучение этой проблемы, поскольку далеко не во всех случаях доказана связь между индукцией ПКГ КМЦ и уменьшением их количества, а также влияние апоптоза на сократительную активность соответствующих отделов сердца. Кроме того, на сегодняшний день недостаточно изучены незавершенные и обратимые формы апоптоза, о существовании которых свидетельствуют данные некоторых публикаций [Пальцев М.А. и др., 2000; Kitazumi I. et al., 2011].

#### **1.3.4. АУТОФАГИЯ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

Как уже упоминалось ранее, вторым вариантом ПКГ является аутофагия. На сегодняшний день накоплено немало сведений об участии данного типа самоуничтожения КМЦ в патологических процессах в сердце.

Показано участие аутофагии в изменении морфологического состояния миокарда при его инфаркте [Mani K., 2008; Whelan R.S. et al., 2010]. При этом, по данным J.L. Zhang и соавт. (2009), в ответ на повы-

шенное формирование аутофагических вакуолей в перинфарктной области наблюдается усиление продукции антиапоптозных белков, в то время как в зоне самого инфаркта увеличено содержание проапоптозных протеинов.

При моделировании экспериментального атеросклероза было обнаружено нарастание процессов аутофагической гибели КМЦ с последующей инволюцией цитоплазмы [Непомнящих Л.М. и др., 2006]. Авторы высказывают предположение о том, что это происходит в результате нарушения процессов внутриклеточной регенерации и сочетается с апоптозом.

Активизацию аутофагии КМЦ при ишемии миокарда можно объяснить следующими механизмами. При энергодефиците в клетках появляются повреждения митохондрий, в результате чего последние начинают вырабатывать АФК, являющиеся индукторами аутофагических процессов [Scherz-Shouval R. et al., 2007, 2011]. В свою очередь это приводит к элиминации АФК, повышающих вероятность возникновения различных мутаций в клетке [Shintani T. et al., 2004; Dröge W. et al., 2008]. Недавно было установлено, что регулятором аутофагии может быть проапоптозный ген p53, что указывает на определенную функциональную общность молекулярных путей, обеспечивающих процессы ПКГ и выживания клеток [Желтухин А.О. и др., 2010]. Отмечается, что активация p53 возникает при дефиците АТФ под действием фермента АМФ-реактивной протеинкиназы [Budanov A.V. et al., 2008]. По другим данным, p53 может проявлять в цитоплазме и антиаутофагический эффект, однако природа этого механизма не выяснена [Tasdemir E. et al., 2008; Maiuri M.C. et al., 2010].

Повышение интенсивности аутофагии КМЦ наблюдается при формировании гипертрофии миокарда у пациентов с АГ, что, по мнению Z.V. Wang и соавт. (2010), способствует поддержанию нормального гомеостаза сердечной мышцы, но при чрезмерной выраженности может стать причиной потери клеточных элементов.

Определенная роль аутофагии в развитии ДКМП была продемонстрирована в экспериментальных [Miyata S. et al., 2006; Takemura G. et al., 2006] и клинических исследованиях [Shimomura H. et al., 2001].

Некоторые авторы сообщают об активизации аутофагии в КМЦ при ГКМП и рассматривают ее в качестве фактора, способствующего развитию ХСН [Fidziańska A. et al., 2010].

Аутофагия имеет особое значение для конечно-детерминированных клеток, поскольку обеспечивает внутриклеточные репарационные процессы и тем самым позволяет им длительно существовать [Gurusamy N. et al., 2009; Желтухин А.О. и др., 2010]. Более того, есть мнение, соглас-

но которому усиление процессов аутофагии при ХСН представляет собой защитный, а не патогенетический механизм [Nishida K. et al., 2008]. В этой связи имеющиеся в настоящее время данные не позволяют уверенно говорить о том, является ли активизация аутофагических процессов причиной гибели и снижения количества функционирующих КМЦ или, напротив, она имеет преимущественно адаптационный характер.

#### 1.4. СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ СУПРЕССИИ АПОПТОЗА

Некоторые авторы полагают, что подавление апоптоза КМЦ будет способствовать предотвращению или уменьшению прогрессирования ХСН, в связи с чем возможно открытие нового направления в лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы. Интенсивность гибели клеток миокарда может быть уменьшена воздействием на локальные факторы, запускающие процесс, прерыванием внутриклеточных апоптотических путей или индукцией механизмов, способствующих выживанию клетки [Gonzalez A. et al., 2002].

Многие современные экспериментальные исследования направлены на модификацию регуляторов и блокаду исполнителей (эксекуторов) апоптоза. К примеру, выявлено, что гиперэкспрессия антиапоптотического белка Bcl-2 уменьшает апоптоз клеток миокарда и улучшает сердечную функцию у трансгенных мышей после ишемии-реперфузии. Сходный эффект был достигнут *in vitro* и *in vivo* при применении низкомолекулярных ингибиторов каспаз [Guttenplan N. et al., 2001]. Интересно, что они не только снижали уровень апоптоза, но и замедляли развитие сердечной недостаточности. Альтернативной стратегией предупреждения апоптоза КМЦ является стимуляция клеточных механизмов выживания. Например, кардиотрофин-1 предотвращает ПКГ КМЦ, имеющую место в условиях ишемии-реперфузии [Brag B.K. et al., 2001].

Один из первых антиапоптотических подходов заключался в использовании ингибиторов каспаз, которыми выступали пептиды, имитирующие активные сайты каспазных субстратов [Rouquet N. et al., 1996; Caserta T.M. et al., 2003; Hotchkiss R.S. et al., 2003; James K.E. et al., 2004], но, к сожалению, оказалось, что в высоких концентрациях они обладают цитотоксическим действием.

Потенциальной мишенью при медикаментозного подавления апоптотической гибели клетки являются поры в наружной мембране

митохондрий, служащие для высвобождения в цитозоль цитохрома С. К числу ингибиторов каналообразующей активности белка Вах относятся дибукаин<sup>®</sup>, пропранолол, трифлуоперазин [Polster V.M. et al., 2003; Martinez-Caballero S. et al., 2004; Hetz C. et al., 2005; Dejean L.M. et al., 2006]. Также известны препараты, угнетающие образование МРТ-пор во внутренней митохондриальной мембране: циклоспорин, пропофол [Gill R.S. et al., 2012; Zhang Y. et al., 2012].

Значительный интерес представляет супрессия рецепторного пути инициации апоптоза, например блокада Fas-рецептора с помощью моноклональных анти-FasL антител и рекомбинантного растворимого Fas [Okuda Y. et al., 2000; Chung C.S. et al., 2003; Joussen A.M. et al., 2003; Sareen D. et al., 2012]. Применение пептидомиметиков является другим потенциально перспективным методом воздействия на апоптотические сигнальные пути, в том числе и на Fas-опосредованные. Они имитируют структуру и свойства определенных клеточных пептидов. Возможно создание устойчивых к деградации, легко проникающих через клеточную мембрану синтетических миметиков, эффективно воздействующих на молекулы-мишени [Hasegawa A. et al., 2004; Liles L. et al., 2004].

В последнее время все больший интерес приобретает блокада экспрессии проапоптотических генов (генов Fas, каспазы-8 и др.) с помощью малых интерферирующих РНК. Однако при их применении встает проблема быстрой деградации молекул siРНК и необходимости их точечной доставки [Song E. et al., 2003; Welshe-Soldato D.E. et al., 2005; Zhang Y. et al., 2010].

Несмотря на успехи, достигнутые в разработке способов медикаментозного подавления апоптоза, необходимо помнить, что неселективная супрессия апоптотической гибели может привести к сохранению в организме генетически дефектных и функционально неполноценных клеток. Следует учитывать и тот факт, что усиление ПКГ указывает на существенные нарушения внутриклеточных процессов, поэтому более продуктивным подходом представляется подавление не самой гибели клеток, а механизмов, создающих условия для индукции данного процесса. В связи с тем, что системная АГ сопровождается усилением апоптоза, логично предположить, что антигипертензивные препараты также должны обладать антиапоптотическим действием. Однако обнаружено, что способность подобных препаратов подавлять ПКГ в сердце не зависит от их антигипертензивного эффекта, но может быть связана с их способностью препятствовать проапоптотическому действию гуморальных факторов. Так, несмотря на одинаковую антигипертензивную эффективность, лозартан (антагонист АТ<sub>1</sub>-рецепторов) в отличие от амлодипина (блокатора кальциевых каналов) уменьшает апоптоз КМЦ

у больных гипертензивной кардиомиопатией после 1 года лечения [Gonzalez A. et al., 2002]. Также апоптоз снижается при применении ингибиторов АПФ (эналаприла, рамиприла, квинаприла<sup>®</sup>) [Gonzalez A. et al., 2003].

Еще одним перспективным направлением медикаментозного воздействия на ПКГ клеток миокарда при АГ может быть подавление ЕТ-1, опосредующего в сердечно-сосудистой системе многие эффекты АТ II. Как известно, ЕТ представляют собой группу биологически активных веществ пептидной природы, являющихся важнейшими регуляторами деятельности сердечно-сосудистой системы. Из соединений этой группы особый интерес на сегодняшний день представляет ЕТ-1, синтез которого в организме активируется под действием гипоксии, АТ II, адреналина, TNF- $\alpha$  и некоторых митогенов [Willey K.E., Davenport A.P., 2001; Stow L.R. et al., 2011]. Эти факторы в течение нескольких минут активируют экспрессию предшественников ЕТ, превращение их в ЕТ-1 и его секрецию [Патарая С.А. и др., 2000; Rothermund L. et al., 2000; Spinar J. et al., 2002]. В настоящее время известно, что эффекты ЕТ-1 реализуются через взаимодействие с рецепторами двух типов: А и В. Многочисленные исследования позволили определить локализацию данных рецепторов. Так, ЕТА-рецепторы присутствуют в гладкомышечных клетках коронарных артерий, КМЦ, мозжечке, гладкомышечных клетках желудка и обеспечивают вазоконстрикторный эффект. ЕТВ-рецепторы обнаруживаются в гладкомышечных клетках сосудов, КМЦ, клетках юкстагломерулярного аппарата и участвуют в вазодилатации [Negrusz-Kawechka M., 2001]. Обычно в мелких и средних артериях преобладают рецепторы типа А, в сосудах легких и коронарных артериях чаще встречаются рецепторы типа В, в то время как оба типа рецепторов экспрессируются в КМЦ. ЕТ-1 стимулирует процессы роста и дифференцировки тканей и играет важную роль в процессах, индуцируемых окислительным стрессом, и апоптотической гибели клеток [Stefanec T., 2000; Визир В.А. и др., 2003].

Обнаружено, что острая ишемия и инфаркт миокарда сопровождаются повышением уровня ЕТ-1 в крови [Суворов А.В. и др., 2002; Князькова И.И. и др., 2004]. Содержание пептида может выступать прогностическим фактором выживаемости для таких пациентов. Полагают, что ЕТ-1 играет важную роль в процессе ремоделирования миокарда и сосудов в постинфарктный период [Князькова И.И. и др., 2004; Horio T., 2005]. Увеличение экспрессии ЕТ-1 также обнаружено при ХСН [Modesti P.A. et al., 2000; Rothermund L. et al., 2000; Munter K., Kirchengast M., 2001], более того, по мере прогрессирования сердечной недостаточности увеличивается количество рецепторов к ЕТ-1, а их

чувствительность снижается [Luster T.F., Barton M., 2000]. ET-1, обладая митогенной активностью, стимулирует клеточную пролиферацию [Rich S., McLaughlin V.V., 2003; Murray D.B. et al., 2008], активирует MAP-киназу p38 [Rajapurohitam V. et al., 2012], усиливает транскрипцию гена тяжелой цепи бета-миозина [Kaburagi S. et al., 1999] и способствует, таким образом, развитию гипертрофии миокарда. Данные относительно уровня экспрессии ET-1 при АГ противоречивы. Так, у 4-недельных спонтанно гипертензивных крыс выявлена повышенная экспрессия мРНК ET-превращающего фермента в почках. Возможно, увеличение ET-1 у SHR способствует задержке натрия в почках, являясь фактором патогенеза АГ [Disashi T. et al., 1997]. У людей нарушения функции почек, сопровождающие АГ, также могут быть связаны с повышенным образованием и секрецией ET-1. Так, пациенты, чувствительные к потреблению NaCl, имеют более высокий уровень пептида в плазме крови и в моче [Затейников Д.А. и др., 2000]. В то же время S. Taddei и соавт. в плазме пациентов с эссенциальной АГ не обнаружили повышения уровня ET-1, но, что интересно, у этих пациентов блокада ET-рецепторов сопровождалась выраженным вазодилатирующим эффектом [Taddei S. et al., 1999]. Столь же противоречивы данные относительно влияния ET-1 на уровень АД. Показано, что эукапническая перемежающаяся гипоксия у крыс вызывает системную АГ, сопровождающуюся увеличением уровня ET-1, причем блокада ETA-рецепторов вызывает резкое снижение АД [Allahdadi K.J. et al., 2008]. В то же время применение антагонистов ET-рецепторов у крыс линии SHR незначительно снижает АД и не влияет на данный показатель у животных с вазоренальной АГ [Schiffirin E.L., 2001; Hynynen M.M., Khalil R.A., 2006]. Обнаружено, что ET-1 через ETA-рецепторы также может активировать НАДФ-оксидазу и способствовать экспрессии p53, Вах, стимулируя, таким образом, клеточную гибель [Chen D.D. et al., 2012]. M.J. Xie и соавт. недавно обнаружили, что интенсивность апоптоза гипертрофированных КМЦ *in vitro* при совместном действии АТ II и ET-1 в три раза выше, чем в отсутствие ET-1 [Xie M.J. et al., 2010].

Таким образом, на сегодняшний день ET-1 считается одним из ключевых факторов, обеспечивающих нормальное функционирование сердечно-сосудистой системы, а также влияющих на развитие и прогрессирование ряда ее тяжелых заболеваний, следовательно, медикаментозная регуляция работы эндотелинового аппарата может стать важным звеном в лечении и профилактике ХСН различного генеза, в том числе и обусловленной АГ.

Широкое применение ингибиторов АПФ в кардиологической практике служит стимулом для создания подобных препаратов, влияющих

на метаболизм ЕТ, однако к настоящему времени нет ингибиторов ЕТ-превращающего фермента, принятых к клиническому использованию [Jeng A.Y. et al., 2002]. Но в медицинскую практику активно входят антагонисты эндотелиновых рецепторов [Schiffrin E.L., 1998; Rich S., McLaughlin V.V., 2003]. У больных с тяжелой формой сердечной недостаточности применение бозентана, являющегося неселективным антагонистом ЕТА и ЕТВ рецепторов, в течение 2 недель приводило к улучшению показателей гемодинамики и сократительной активности сердца [Sutsch G. et al., 1998]. Данный препарат также способен снижать АД и замедлять процесс ремоделирования ЛЖ [Rich S., McLaughlin V.V., 2003; Murray D.B. et al., 2008]. Но в связи с тем, что вазоконстрикторный эффект ЕТ-1 опосредуется в основном через рецепторы типа А, наибольший интерес представляет применение в терапевтических целях селективных антагонистов ЕТА-рецепторов (Rodríguez-Pascuala F. et al., 2011), к числу которых относится ВQ-123, представляющий циклический пептид, состоящий из 5 аминокислот: cyclo[D-Trp-D-Asp-Pro-D-Val-Leu]. Это экспериментальный препарат, в отличие от бозентана, не введенный в клиническую практику. Показано, что он способен частично блокировать вызванную перегрузкой и действием АТ II гипертрофию миокарда [Ito H. et al., 1994; Agapitov A.V., Haynes W.G., 2002], снижать АД у крыс с различными формами АГ [Douglas S.A. et al., 1994] и количество TUNEL-позитивных клеток в культуре КМЦ крыс в условиях гипоксии (Ren A. et al., 2008). Однако, несмотря на многочисленные исследования, проводимые с использованием ВQ-123 и подобных ему препаратов, влияние блокады ЕТА-рецепторов на гибель клеток миокарда при АГ различного генеза требует дальнейшего изучения.

Как было сказано выше, одной из возможных причин индукции апоптотического процесса в клетке может стать дефицит энергии, приводящий к метаболическим и структурным нарушениям в различных органах и тканях [Лукиянова Л.Д., 2004], возникновению ацидоза [Литвицкий П.Ф., 2002], активации свободнорадикальных процессов, повреждению биологических мембран, затрагивающему как липидный бислой, так и мембранные белки [de Wind L.J. et al., 2001], нарушению ионного транспорта, в связи с чем несоответствие между потребностью клетки в энергии и энергопродукцией в системе митохондриального окислительного фосфорилирования не может не сказаться на жизнеспособности клетки. Так, было показано, что небольшое снижение содержания АТФ в клетках стимулирует их апоптотическую гибель, в то время как истощение запасов АТФ вызывает некроз [Kushnareva Y., Newmeyer D., 2010]. Данное явление объясняется тем, что апоптоти-

ческие процессы требуют энергетических затрат, и их осуществление затрудняется в условиях выраженного энергетического дефицита. В КМЦ при АГ он может быть обусловлен как возрастанием потребления клетками АТФ вследствие увеличившейся нагрузки на сердечную мышцу и развивающейся гипертрофии миокарда, так и некоторой гипоксией ткани. Недостаток восполнения энергии в клетках может также стать результатом кальциевой перегрузки митохондрий, приводящей к разобщению дыхательной цепи и окислительного фосфорилирования. Обнаружено, что снижение содержания АТФ в клетках способствует активации белка p53, формированию апоптосомы и индукции каспазозависимой апоптотической гибели [Samali A. et al., 2007; Li G.Y. et al., 2009]. Следовательно, восстановление энергетического баланса в клетках миокарда должно уменьшать интенсивность апоптоза. Известно, что универсальным источником энергии в клетке является макроэргическая связь АТФ. Однако содержащейся в миоцитах АТФ достаточно для обеспечения работы в течение весьма короткого промежутка времени, поэтому энергия запасается в виде макроэргических фосфорсодержащих соединений, называемых фосфагенами, к числу которых относится фосфокреатин [Оковитый С.В., 2005]. Креатинкиназа катализирует реакцию ресинтеза АТФ из аденозиндифосфата (АДФ) и фосфокреатина [Wallimann T. et al., 1998]. Данный фермент экспрессируется на высоком уровне в клетках со значительными энергетическими потребностями, к числу которых относятся нейроны и миоциты [Wallimann T. et al., 2007], и является тканеспецифичным. В этой связи безусловный интерес представляет исследование воздействия фосфокреатина и других макроэргических соединений на интенсивность апоптотических процессов в миокарде. Обнаружено, что экзогенный фосфокреатин, особенно в высоких дозах, может уменьшать апоптоз КМЦ у крыс при ишемии-реперфузии и инфаркте миокарда [Feng Q.Z. et al., 2007; Yan P. et al., 2011]. Аналогичный эффект данный препарат оказывает и на апоптоз нейронов в условиях ишемии-реперфузии и, более того, способствует уменьшению образования АФК [Tang L.H. et al., 2011]. Другим макроэргическим препаратом, способным компенсировать энергетический дефицит, является АТФ, но затруднение проникновения экзогенной АТФ через мембраны и ее дефосфорилирование в крови значительно снижают ее эффективность [Оковитый С.В., 2005]. В последние годы также возрос интерес к изучению эффективности применения креатина при лечении различных заболеваний, сопровождающихся энергетическим дисбалансом [Andres R.H. et al., 2008; Wallimann T. et al., 2011]. Есть единичные исследования его влияния на ПКГ. Так, И.А. Швед и



Т.Э. Владимирская (2009) обнаружили антиапоптотическое действие креатинмоногидрата на КМЦ при моделировании острого инфаркта миокарда у крыс. Таким образом, применение макроэргических препаратов для уменьшения апоптотической гибели клеток в условиях энергетического дефицита является перспективным и требует дальнейших исследований.

В то же время, кроме фосфагенов, существуют и другие соединения, способные в той или иной степени компенсировать энергетический дефицит в клетке. Согласно современным представлениям [Лукиянова Л.Д., 2004; Оковитый С.В., Смирнов А.В., 2001], при решении проблемы гипоксии встает вопрос восстановления функции дыхательной цепи, что должно включать либо коррекцию работы электронтранспортной цепи, либо активацию иных механизмов, способствующих образованию энергии [Лукиянова Л.Д., 2002]. В настоящее время в медицинской практике стали широко применяться препараты, обеспечивающие высокую активность сукцинатоксидазного звена. Антигипоксические эффекты сукцината (янтарной кислоты) были доказаны как в эксперименте, так и в клинических исследованиях [Андреева Н.Н., 2009]. Установлено, что использование сукцината натрия после клинической смерти, вызванной пережатием сосудистого пучка сердца, способствовало более быстрому восстановлению показателей неврологического статуса у выживших крыс [Мутускина Е.А. и др., 1996], оказывало антистрессорный эффект и снижало свободнорадикальные процессы в мозге [Заржецкий Ю.В., Мутускина Е.А., 1994]. Обнаружено, что применение сукцината повышает уровень АТФ в клетке, уменьшает продукцию супероксида и апоптотическую гибель нейронов [Wang X.Q. et al., 2003]. Он также оказывает антиацидозное действие, особенно в постгипоксический период, увеличивая вклад окислительного фосфорилирования в обеспечение АТФ-азных реакций и способствуя окислению накопившихся продуктов гликолиза,  $\beta$ -окисления и кетогенеза [Маевский Е.И. и др., 2005]. Таким образом, янтарная кислота и ее производные, положительно влияя на энергетический баланс клетки, играют роль модулятора общего метаболизма. Однако, применяя экзогенный сукцинат, нужно помнить о том, что он с трудом проникает через клеточные мембраны. В этой связи перспективным представляется применение этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидол<sup>а</sup>), представляющего комплекс сукцината с антиоксидантом эмоксипином, облегчающим транспорт сукцината через мембраны [Андреева Н.Н., 2009]. Мексидол<sup>а</sup> (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат) — созданный российскими учеными оригинальный лекарственный препарат. Он проявляет свойственную

всем 3-оксипиридинам способность лабилизировать мембраны, облегчая проникновение молекул в клетку. Препарат является сильным антигипоксантом. В опытах на беспородных крысах и мышах была показана его способность увеличивать продолжительность жизни и число выживших животных в условиях различных гипоксических состояний [Чернобаева Г.Н. и др., 1991; Лукьянова Л.Д., 2004.]. В клинической практике данный препарат широко применяется при ишемии головного мозга [Луцкий М.А., 2008]. Выраженное кардиопротекторное действие этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидол<sup>®</sup>) выявлено при моделировании у крыс инфаркта миокарда [Гацура В.В. и др., 1996] и клинической смерти [Андреева Н.Н. и др., 2005]. Существует ряд исследований, показавших эффективность комбинированной терапии антигипертензивными препаратами и этилметилгидроксипиридина сукцинатом (мексидолом<sup>®</sup>) больных АГ различного возраста [Булахова Е.Ю., 2006; Одинцова Н.Ф., 2006; Шалашова М.Л., Дудаева М.Л., 2006]. Следует отметить, что защитный эффект мексидол<sup>®</sup> при патологических состояниях в значительной мере обусловлен антиоксидантной активностью 3-оксипиридинов, а не только антигипоксическим свойством сукцината [Воронина Т.А., 2009].

В связи с тем, что эндогенная антиоксидантная система зачастую не справляется с окислительным стрессом, развивающимся при различных патологических состояниях, в том числе и при АГ, требуется поступление антиоксидантов извне. Поиск и разработка средств антиоксидантной терапии ведется в двух направлениях. Первое базируется на применении природных антиоксидантов, например, витаминов Е и С, в виде пищевых добавок и витаминных комплексов [Qin F. et al., 2003; Шилов А.М., 2004; Montezano A., Touyz R.M., 2012]. Однако, обладая мягким действием, они обычно используются как профилактические или дополнительные средства в комплексной терапии, но малоэффективны как средства монотерапии, что, возможно, обусловлено недостаточной биодоступностью препаратов. В связи с тем что дыхательная цепь митохондрий является одним из основных источников АФК, разработка антиоксидантов, действующих на митохондриальном уровне, является важным направлением лечения сердечно-сосудистых заболеваний [Sheu S.S. et al., 2006; Murphy M.P., Smith R.A., 2007]. В последние годы активно ведутся исследования, цель которых — улучшение проникновения антиоксидантов через митохондриальные мембраны, что увеличивает их эффективность. В результате созданы такие препараты, как митохинон (производное убихинона), митовитамин Е, митотемпол и др. [Subramanian Sh. et al., 2010; Dikalov S., 2011]. Другое направление заключается в создании синтетических антиоксидантов со

значительно более выраженным антиокислительным действием, к числу которых относится описанный выше этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол\*), обладающий помимо антигипоксического антиоксидантным и мембранопротекторным действием [Воронина Т.А., 2009; Галенко-Ярошевский В.П., 2005]. Антиоксидантными свойствами также характеризуются некоторые адреноблокаторы (карведилол, небиволол) [Беленков Ю.Н. и др., 2009]. В связи с тем, что антиоксиданты не подавляют продукцию АФК, а только элиминируют уже образовавшиеся агрессивные соединения, значительный интерес представляет разработка препаратов, снижающих продукцию АФК в клетках, к числу которых относятся ингибиторы НАДФ-оксидазы [Drummond G.R. et al., 2011; Kim J.A. et al., 2011].

Таким образом, перспективными направлениями медикаментозной регуляции апоптотической гибели КМЦ могут быть уменьшение сопутствующих сердечной патологии окислительного стресса и энергетического дефицита в клетках миокарда, а также подавление действия ET-1, опосредующего многие эффекты в сердечно-сосудистой системе, наблюдаемые в условиях АГ.

## 1.5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая литературные данные, следует отметить, что к настоящему времени накоплено достаточно много сведений, подтверждающих значимую роль апоптотической гибели КМЦ в развитии различных заболеваний сердечно-сосудистой системы. Активно ведутся исследования влияния разнообразных гуморальных факторов на интенсивность ПКГ сердечных миоцитов и молекулярных механизмов, вовлеченных в реализацию апоптотических процессов в миокарде. Однако остается ряд вопросов, не имеющих на сегодняшний день однозначных ответов: является ли активизация апоптотической программы в КМЦ типовым ответом на альтерацию сердца или же индукция апоптоза возникает лишь в результате специфических нарушений метаболизма и морфофункционального состояния миокарда; отличаются ли механизмы инициации и реализации апоптоза в миокарде ПЖ и ЛЖ сердца; возможна ли эффективная медикаментозная супрессия ПКГ в миокарде? Исследованию данных имеющих важное фундаментальное и прикладное значение аспектов проблемы ПКГ КМЦ при патологии сердечно-сосудистой системы и посвящена настоящая работа.

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

---

Материал для данного исследования был получен в экспериментах, при которых у животных в разных сериях экспериментов воспроизводилось 4 типа патологических процессов:

- очаговое ишемическое повреждение миокарда ЛЖ;
- диффузное поражение сердечной мышцы;
- острая гемодинамическая перегрузка ЛЖ;
- хроническая гемодинамическая перегрузка сердца (АГ).

На первых трех моделях по истечении соответствующих сроков от начала эксперимента (1, 3 и 5 сут) выполнялись комплексное исследование функционального состояния сердечно-сосудистой системы, морфологических изменений миокарда ЛЖ и ПЖ, изучение интенсивности и механизмов апоптотической гибели клеток миокарда с использованием морфологических, гистохимических и биохимических методик, подробное описание которых приводится далее в настоящей главе. На модели АГ исследовались апоптотические и гипертрофические процессы в КМЦ и возможность их медикаментозной регуляции.

Также проводились отдельные эксперименты по изучению функции сердца при очаговой ишемии ЛЖ и особенностей перекисного окисления липидов при дифтерийной интоксикации.

### **2.1. ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Всего в эксперименте было задействовано 20 морских свинок, 253 кролика и 94 крысы. Морские свинки использовались для определения минимальной летальной дозы дифтерийного токсина, который затем применялся с целью моделирования диффузного поражения сердечной мышцы (подробнее это описано в соответствующем подразделе данной главы). Основные же эксперименты проводились на взрослых

самцах кроликов породы шиншилла массой тела 3,0–3,5 кг и самцах крыс линий SHR и Wistar-Kyoto трех возрастов: 8, 15 и 52 нед.

Распределение животных по группам в основных сериях исследования приведено в табл. 2.1–2.3.

Таблица 2.1

**Распределение подопытных животных (кроликов) по группам исследования (очаговое ишемическое повреждение левого желудочка, диффузное поражение сердечной мышцы, острая гемодинамическая перегрузка левого желудочка)**

Исследование	Методики исследования												всего
	исследование функционального состояния сердечно-сосудистой системы				морфологическое исследование миокарда желудочков сердца				исследование апоптоза клеток миокарда биохимическими и иммуногистохимическими методами				
	контроль	1 сут	3 сут	5 сут	контроль	1 сут	3 сут	5 сут	контроль	1 сут	3 сут	5 сут	
Очаговое ишемическое повреждение ЛЖ	5	5	5	5	2	2	2	2	5	5	5	5	<b>48</b>
Диффузное поражение сердечной мышцы	5	5	5	5	2	2	2	2	5	5	5	5	<b>48</b>
Острая гемодинамическая перегрузка ЛЖ	5	5	5	5	2	2	2	2	5	5	5	5	<b>48</b>
<b>Итого</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>144</b>

Эксперимент по исследованию миокарда при АГ проводился в двух сериях, каждая из них включала две группы животных: (1) животные с АГ (опытная группа); (2) нормотензивные животные (контроль). В I серии эксперимента животные не получали лечения. Во II серии животным из опытных групп в течение 10 дней вводили один из препаратов: фосфокреатин (неотон<sup>®</sup>) в дозе 30 мг/кг, этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол<sup>®</sup>) в дозе 5 мг/кг или BQ-123 (Sigma, США), разведенный в 0,9% водном растворе натрия хлорида, в дозе 100 нмоль/кг.

Кроликам с экспериментальной вазоренальной АГ вводили соответствующий препарат [фосфокреатин (неотон<sup>®</sup>) или этилметилгидрок-

Таблица 2.2

**Распределение животных (крыс) по группам исследования  
(генетически обусловленная артериальная гипертензия)**

	I серия эксперимента					II серия эксперимента				
	контроль 8 нед	SHR 8 нед	контроль 15 нед	SHR 15 нед	контроль 52 нед	SHR 52 нед	контроль	SHR + фос- фокреатин (неотон*)	SHR + этилме- тилгидроксипи- ридина сукцинат (мексидол*)	SHR + BQ-123
Количество животных	8	11	8	8	8	8	6	9	9	9

Таблица 2.3

**Распределение животных (кроликов) по группам исследования  
(вазореальная артериальная гипертензия)**

	I серия экспери- мента				II серия эксперимента		
	контроль	1 нед АГ	2 нед АГ	4 нед АГ	контроль	АГ + фос- фокреатин (неотон*)	АГ + этилме- тилгидрок- спиридина сукцинат (мек- сидол*)
Количество животных	6	6	6	7	6	6	6

сипиридина сукцинат (мексидол\*)] с 19-го по 28-й день после операции 1 раз в сутки внутримышечно. Крысам линии SHR начинали вводить препарат [фосфокреатин (неотон\*), этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол\*) или BQ-123] внутрибрюшинно 1 раз в сутки за 10 дней до достижения ими 15-недельного возраста.

Для уточнения особенностей некоторых исследуемых явлений были проведены эксперименты в нескольких дополнительных сериях. Во второй серии на 16 кроликах изучались хронобиологические особенности возникновения фибрилляции сердца методом электрокардиографии. В третьей серии (10 кроликов) исследовалась сократительная функция сердца в контроле и через 30 мин от начала острой коронарной недостаточности. В четвертой серии (20 кроликов) оценивалась интенсивность перекисного окисления липидов в миокарде ЛЖ при

дифтерийной интоксикации в контроле и через 1, 3 и 5 сут от начала эксперимента. Для определения динамики АД нормотензивных крыс линии Wistar-Kyoto и спонтанно гипертензивных крыс была проведена пятая дополнительная серия эксперимента, в ходе которой у 5 животных из каждой линии, начиная с 15-недельного возраста, в течение 8 мес методом телеметрического мониторинга осуществлялась непрерывная регистрация кривых АД.

Как в основных, так и в дополнительных сериях экспериментов в качестве контроля использовались интактные животные того же пола, возраста и веса.

Известно, что различные функции организма, а также динамика патологических процессов подвержены значительным сезонным колебаниям [Фролов В.А., 1984; Заславская Р.М., 1991; Чибисов С.М., 1993]. В этой связи для повышения достоверности получаемых результатов эксперименты проводились в одинаковых сезонных условиях для каждой группы подопытных животных. Большой объем исследований определил такой график работы, при котором материал накапливался в течение нескольких лет в одни и те же месяцы года.

Содержание животных и работа с ними проводились в соответствии с приказом Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 и Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.).

На проведение экспериментов получено разрешение этического комитета медицинского факультета РУДН (протокол № 22 от 20.09.2005, протокол № 92 от 15.04.2009).

## **2.2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ОСТРОЙ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОЙ ПЕРЕГРУЗКИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

Острую гемодинамическую перегрузку ЛЖ сердца моделировали у кроликов посредством хирургической операции по сужению восходящей аорты на 1/3 путем наложения на нее металлической спирали меньшего диаметра. Техника операции заключалась в следующем. Животное фиксировалось в станке спиной книзу, под внутривенным наркозом (2% рометар<sup>р</sup> 2–2,5 мл) и местной анестезией [0,5% прокаин (новокаин<sup>\*</sup>) 2–2,5 мл в третье межреберье слева] в стерильных условиях производилось послойное вскрытие грудной клетки в третьем межреберье слева. Предварительно в полость плевры вводили 1,0 мл 0,5% раствора прокаина (новокаина<sup>\*</sup>). Животное переводилось на искусствен-

ную вентиляцию легких. С помощью ранорасширителя обеспечивали экспозицию. В полость перикарда вводили 0,5 мл 0,5% раствора прокаина (новокаина<sup>★</sup>). Производили широкое рассечение перикарда, после чего выделяли восходящую аорту и брали ее на лигатуру. Измеряли диаметр аорты, подбирали спираль с внутренним диаметром — 2/3 от диаметра аорты. С помощью зажима накладывали спираль на аорту, в результате чего она оказывалась суженной на 1/3 (см. цветную вклейку, рис. 2.1). Извлекали лигатуру. В грудную полость вводили бициллин-5 в дозе 250000 ЕД. Операционная рана послойно зашивалась наглухо. Из плевральной полости отсасывался воздух. Животное переводили на естественное дыхание.

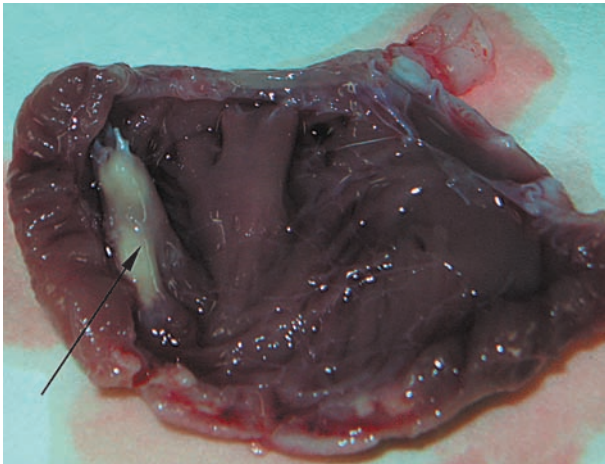
### **2.3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ОЧАГОВОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

Очаговое ишемическое повреждение моделировали у кроликов посредством хирургической операции. Выполняли перевязку нисходящей ветви левой коронарной артерии на границе ее средней и нижней трети. Техника операции заключалась в следующем. Животное фиксировалось в станке спиной книзу, под внутривенным наркозом (2% рометар<sup>р</sup> 2–2,5 мл) и местной анестезией [0,5% прокаин (новокаин<sup>★</sup>) 2–2,5 мл в третьем межреберье слева] в стерильных условиях производилось послойное вскрытие грудной клетки в третьем межреберье слева. Предварительно в полость плевры вводили 1,0 мл 0,5% раствора прокаина (новокаина<sup>★</sup>). Животное переводилось на искусственную вентиляцию легких. С помощью ранорасширителя обеспечивали экспозицию. В полость перикарда вводили 0,5 мл 0,5% раствора прокаина (новокаина<sup>★</sup>). Перикард широко рассекался. С помощью атрауматической иглы под нисходящую ветвь левой коронарной артерии подводилась хирургическая шовная нить 4/0, которая затем туго затягивалась. В грудную полость вводили бициллин-5 в дозе 250 000 ЕД. Операционная рана послойно зашивалась наглухо. Из плевральной полости отсасывался воздух. Животное переводили на естественное дыхание. В результате в передней стенке ЛЖ развивался инфаркт миокарда (см. цветную вклейку, рис. 2.2).





**Рис. 2.1.** Макропрепарат восходящей аорты кролика со спиралью после забора сердца для исследования



**Рис. 2.2.** Макропрепарат сердца кролика. 3 сут от момента перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии. Папиллярная мышца с некрозом (указана стрелкой)

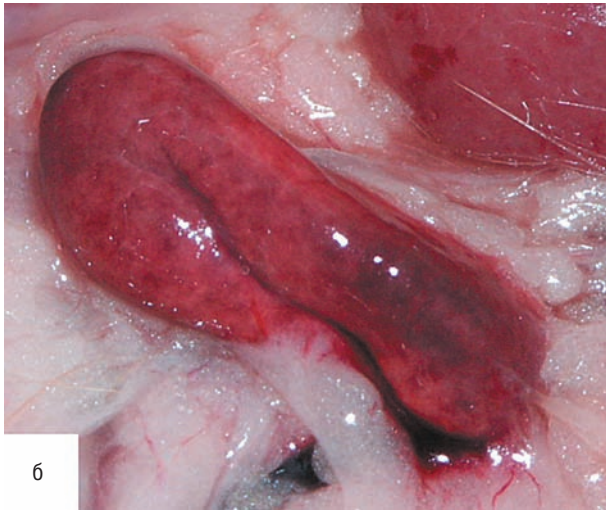
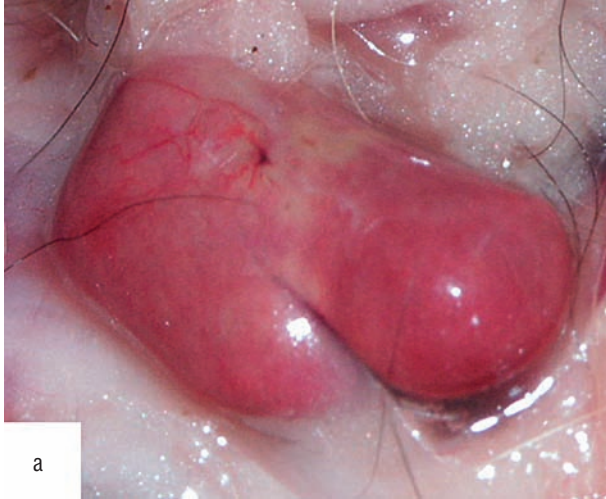
## 2.4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ДИФFUЗНОГО ПОРАЖЕНИЯ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

Диффузное поражение сердечной мышцы моделировали у кроликов путем однократного внутривенного введения 0,3 минимальной летальной дозы (DLM — от *dosis letalis minima*) на 1 кг нативного дифтерийного токсина, предварительно оттитрованного на морских свинках. За 1 DLM токсина принималось такое его количество, которое при однократном внутрибрюшинном введении морской свинке приводило через 3 суток к гибели более 50% животных при явлениях поражения надпочечников [Фролов В.А., Далин М.В., 1996]. На рис. 2.3 (цветная вклейка) для сравнения представлены фотографии надпочечников интактной морской свинки (а) и на 4-е сутки после введения дифтерийного токсина (б).

## 2.5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ВТОРИЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

В настоящее время существует несколько вариантов моделирования вторичной АГ у животных, в числе которых ДОСА-солевая АГ, обусловленная введением минералокортикоидов и назначением солевой диеты [Pinto Y.M. et al., 1998], нейрогенная модель, связанная с раздражением гипоталамических центров [Mancia G. et al., 1997], почечная АГ, вызванная нарушением кровоснабжения почек. Наиболее приемлемой и максимально приближенной к патогенезу процесса моделью, обеспечивающей достаточно высокий уровень АД, является почечная АГ. Экспериментальная модель вазоренальной АГ, в основе которой лежит повышение АД, вызванное ишемией почек, была разработана Н. Goldblatt и соавт. (1938, 1939). В представленной работе был выбран один из вариантов данной модели: АГ, развивающаяся в результате сужения брюшной аорты на 1/3 от ее первоначального диаметра непосредственно над местом отхождения от нее почечных артерий.

Патологический процесс моделировали у самцов кроликов породы шиншилла. Техника операции заключалась в следующем. Животное фиксировалось в станке спиной книзу и под внутривенным наркозом (рометар<sup>®</sup> 2—2,5 мл) в стерильных условиях производилось послойное вскрытие брюшной полости по срединной линии. Кишечник обкладывался марлевыми салфетками, смоченными теплым физиологическим раствором, и в ретробрюшинное пространство в окологочечной



**Рис. 2.3.** Макропрепараты надпочечников морской свинки. Контроль (а), 4 сут от начала дифтерийной интоксикации (б)

зоне вводился прокаин (новокаин\*, 2–4 мл 0,5% раствора), после чего брюшная аорта осторожно отсепаровывалась в области отхождения нижней брыжеечной и правой почечной артерии. Над местом отхождения почечной артерии брюшная аорта мобилизовывалась и бралась на лигатуру. Измерялся ее наружный диаметр, подбирался металлический зонд толщиной 2/3 диаметра аорты и лигатура на нем завязывалась. После извлечения зонда аорта расправлялась и оказывалась суженной на 1/3 от своего исходного диаметра. Животному внутрибрюшинно вводился бициллин-5 в дозе 500 000 ЕД. Операционная рана послойно зашивалась наглухо. Всем оперированным животным также вводили бициллин-5 в дозе 200 000 ЕД внутримышечно однократно после операции.

Исследование апоптоза КМЦ проводили у кроликов с 1-, 2- и 4-недельной АГ в сравнении с контрольной группой, представленной интактными животными соответствующего пола и возраста.

## 2.6. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Известно, что эссенциальная АГ представляет мультифакториальное полигенное заболевание, причем вклад генетических факторов в вариацию величины давления может составлять от 30 до 50% [McBride M.W. et al., 2004]. Выявлено, что с данной патологией ассоциированы полиморфизмы в генах АТ<sub>1</sub>-рецептора к АТ II, АПФ и ангиотензиногена [Jeunemaitre X., Charru A., 1993; Tingleff J., Munch M., 1996; Jeunemaitre X., 1997; Моисеев В.С. и др., 1998; Степанов В.А., Пузырев К.В., 1998; Моисеев В.С., 2000; Baudin B., 2005].

Моделью, наиболее близкой к эссенциальной АГ человека, являются спонтанно гипертензивные крысы линии SHR [Yigal M. et al., 1998]. Линия была выведена доктором К. Окамото в Медицинской школе г. Киото в 1963 г. из аутбредных крыс Wistar-Kyoto путем скрещивания самцов, имеющих высокое АД, с самками со слегка повышенным АД и последующего братско-сестринского скрещивания, сопровождавшегося непрерывной селекцией на спонтанную АГ [Okamoto K., Aoki K., 1963]. С использованием гибридологического и молекулярно-генетических методов у животных этой линии был картирован ряд локусов, ассоциированных с гемодинамическими и метаболическими показателями [Rapp J.P., 2000; Pravencs M. et al., 2010]. К их числу относятся гены АПФ, фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы, катализирующей синтез адреналина из норадреналина [Hilbert P. et al., 1991; Jacob H.J.

et al., 1991], предсердного натрийуретического пептида и его рецептора [Samani N.J. et al., 1996; Zhang L. et al., 1996]. Наряду с АГ для крыс линии SHR характерна гипертрофия ЛЖ, развивающаяся в раннем возрасте, когда АД находится в пределах нормы. Результаты скрещиваний крыс SHR с нормотензивными животными показали отсутствие корреляции между АД и массой ЛЖ. При исследовании гибридов было обнаружено расщепление фенотипических признаков уровня АД и величины гипертрофии миокарда, подтверждающее независимое наследование генетических детерминант, определяющих эти признаки [Innes B.A. et al., 1998; Постнов А.Ю. и др., 2003].

Контрольные группы к крысам линии SHR обычно формируют из нормотензивных животных линии Wistar-Kyoto, систолическое давление которых в среднем составляет 120 мм рт.ст. [Ernesto A. et al., 2004.]. Систолическое АД у крыс SHR по сравнению с животными линии Wistar-Kyoto достоверно увеличивается с 4-недельного возраста и продолжает повышаться далее, выходя на плато (190–200 мм рт.ст.) к 15–16-недельному возрасту [Dickhout J.G., Lee R.M., 1998; Постнов Ю.В. и др., 2000; Цыпленкова В.Г. и др., 2006].

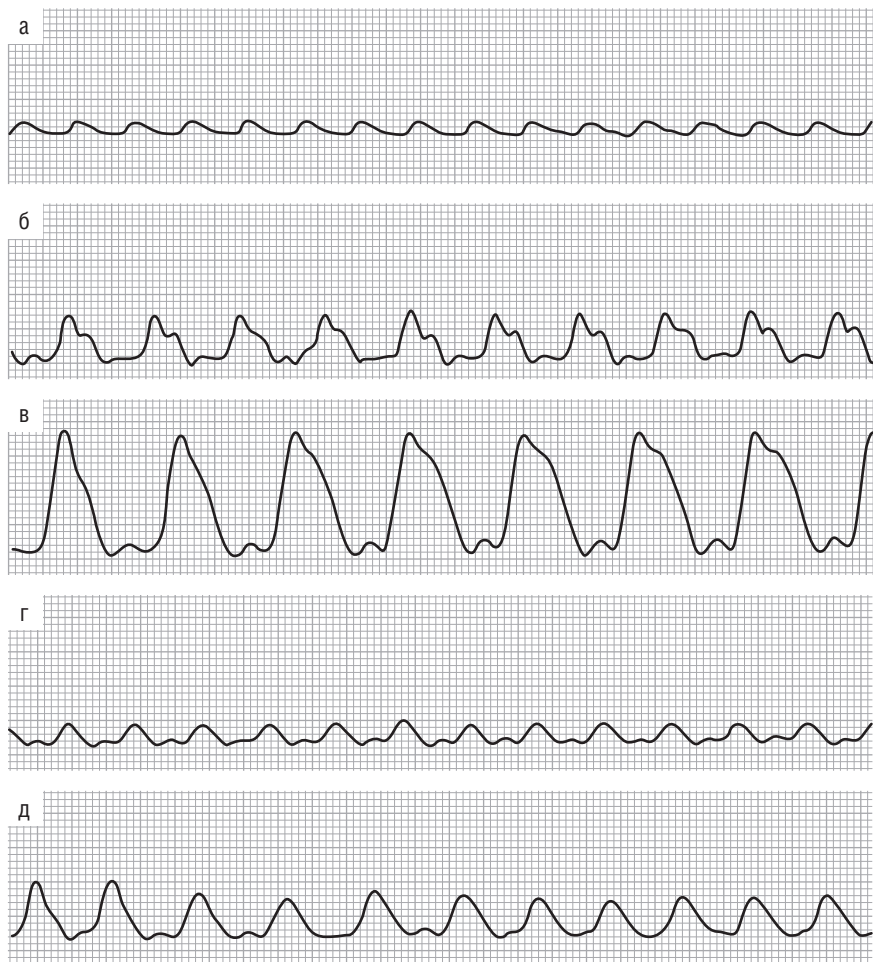
В настоящей работе изучение особенностей апоптотической гибели КМЦ при генетически обусловленной АГ проводилось в трех группах самцов крыс линии SHR разного возраста: 7–8 нед (становление гипертонии), 15–16 нед (выход АД на плато) и 1 год (длительно существующая АГ) в сравнении с соответствующими показателями у нормотензивных животных линии Wistar-Kyoto того же пола и возраста.

## **2.7. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

Функциональное состояние сердечно-сосудистой системы изучали с помощью аппаратно-программного комплекса «Микард», представляющего аналогово-цифровой преобразователь с электромагнетрическими датчиками и электродами для регистрации биопотенциалов сердца, совмещенный с персональным компьютером.

Для определения величины кровяного давления использовался электромагнитный преобразователь давления с предварительной и последующей после определения давления калибровкой прибора при помощи водяного столба. Цифровой сигнал с прибора поступал на персональный компьютер. При помощи специальной программы «Micam» полученные данные отображались на экране монитора в виде кривых кровяного давления в режиме реального времени. Программа «Micam»

позволяла в любой момент производить запись фрагмента кривой с сохранением ее в памяти компьютера и с возможностью оцифровки ее в дальнейшем (рис. 2.4).



**Рис. 2.4.** Оригинальные кривые, полученные при определении артериального и внутрижелудочкового давления кролика: а — артериальное давление (определяемое в сонной артерии), б — реальное внутрижелудочковое давление в полости левого желудочка, в — максимальное внутрижелудочковое давление в полости левого желудочка, г — реальное внутрижелудочковое давление в полости правого желудочка, д — максимальное внутрижелудочковое давление в полости правого желудочка

## 2.7.1. МЕТОДИКА РЕГИСТРАЦИИ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ У КРОЛИКОВ

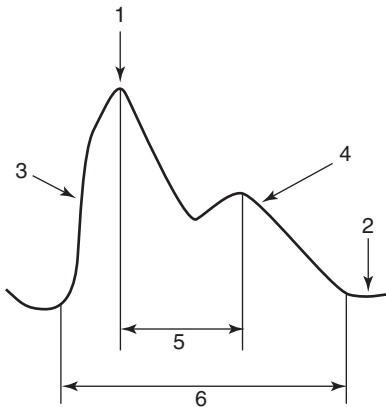
АД определялось в остром эксперименте в общей сонной артерии (рис. 2.4 а), в центральный конец которой вводился пластиковый зонд, заполненный физиологическим раствором и соединенный с электромагнитным преобразователем давления. Поскольку наркоз оказывает значительное влияние на сосудистый тонус, кровяное давление в общей сонной артерии измерялось под местной новокаиновой анестезией.

## 2.7.2. МЕТОДИКА АНАЛИЗА ПУЛЬСОВОЙ ВОЛНЫ

Известно, что изменение упруго-эластических свойств центральных артерий, определяемое по скорости распространения пульсовой волны, может служить важным предиктором неблагоприятных исходов как различных видов патологии сердца и сосудов, так и заболеваний внесердечной природы [Лопаткин Ю.М. и др., 2007]. В экспериментальных исследованиях анализ пульсовой волны, зарегистрированной в центральных артериях, может быть использован в качестве метода для выяснения патогенетических механизмов изменения показателей системной гемодинамики при тех или иных патологических процессах.

Анализ пульсовой волны проводили путем исследования нескольких показателей, косвенно отражающих жесткость сосудистой стенки (рис. 2.5).

На рис. 2.5 ВО — амплитуда волны отражения, под которой понимается волна, возникающая в результате отражения ударной волны от бифуркаций проводящих артерий и более мелких мышечных артерий [Котовская Ю.В., Кобалава Ж.Д., 2007]; ВПВО — время появления волны отражения (время между пиками ударной и отраженной волны); ВРПВ — время распространения пульсовой волны (время от начала зарождения пульсовой волны до ее



**Рис. 2.5.** Одиночный цикл распространения пульсовой волны. 1 — систолическое артериальное давление (АДсист), 2 — диастолическое артериальное давление (АДдиаст), 3 — ударная волна, 4 — амплитуда волны отражения (ВО), 5 — время появления волны отражения (ВПВО), 6 — время распространения пульсовой волны (ВРПВ)

полного затухания). Пульсовая волна представляет собой сумму ударной волны и волны отражения [Котовская Ю.В., Кобалава Ж.Д., 2007].

### 2.7.3. МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ СЕРДЦА

Для оценки сократительной функции сердца проводили электронометрическое измерение давления в его полостях. Техника эксперимента заключалась в следующем. Животное фиксировалось в станке спиной книзу и под внутривенным наркозом (рометар<sup>р</sup> от 2 до 3,5 мл за все время операции) в третьем межреберье слева послойно вскрывалась грудная клетка. Непосредственно перед вскрытием грудной клетки животное переводилось на искусственную вентиляцию легких. В полость плевры и перикарда вводилось по 0,5 мл 0,5% раствора прокаина (новокаина<sup>\*</sup>). Перикард рассекался. На участки ЛЖ и ПЖ сердца, свободные от крупных сосудов, атравматичной иглой накладывался кисетный шов. В центре шва прорезывалось сквозное отверстие диаметром 0,5 мм, через которое в него вводился пластиковый зонд, наполненный физиологическим раствором. Лигатура вокруг зонда плотно затягивалась. Центральный конец зонда соединялся с головкой электроманометра. На экране монитора отображались кривые внутрижелудочкового давления (ВД), которые сохранялись в памяти компьютера (см. рис. 2.4 б, г). В дальнейшем полученные кривые использовались для оценки функционального состояния миокарда, для чего производилось определение реальной и максимально достижимой функции ЛЖ и ПЖ, интенсивности функционирования структур [Меерсон Ф.З., 1965], вычисление функционального резерва (ФР) желудочков и потенциальной работоспособности миокарда [Фролов В.А. и соавт., 1969].

*Определение реальной функции желудочков сердца.* На кривой ВД определялся и переводился в цифровое выражение его пиковый уровень, который соответствовал систолическому давлению в желудочках. Величина систолического давления характеризует гемодинамическую функцию сердца в реальных условиях определенного объема притекающей к сердцу крови и периферического сопротивления, преодолевая которое, сердце выбрасывает кровь в аорту. Поэтому данную величину обозначают как реальное ВД.

*Определение максимально достижимой функции желудочков.* Для определения максимально достижимой функции желудочков нами была использована методика, разработанная Ф.З. Меерсоном (1965), которая позволяет регистрировать ВД в тот период, когда миокард находится в состоянии изометрии. Для этого после регистрации реаль-



ного ВД производилось пережатие на 5 сек. восходящей аорты для ЛЖ и легочного ствола для ПЖ, во время которого вновь производили запись кривых ВД (см. рис 2.4 в, д). Далее определяли пиковый уровень ВД, по которому судили о максимальном ВД, которое может развить желудочек в условиях изометрического сокращения.

Казалось бы, эта методика не отвечает условиям полной изометрии, поскольку резкое возрастание ВД приводит к тому, что часть крови будет сбрасываться в ретроградном направлении в систему коронарных артерий через сосуды Вьесенна–Тебезия. Однако пережатие аорты осуществлялось выше ответвления от нее коронарных артерий, поэтому интрамиокардиальная циркуляция крови происходила по замкнутому кругу в пределах ЛЖ, что через несколько сокращений сердца приводило к состоянию практически полной изометрии. В данном случае определялось не первое, а максимальное сокращение сердца, которое и соответствует этому состоянию.

*Определение ФР и потенциальной работоспособности миокарда.* Под ФР В.И. Кандрор (1968) понимал отношение максимально достижимой к реальной функции сердца и использовал его для оценки сократительной способности миокарда. Однако данный коэффициент не всегда адекватно отражает истинное функциональное состояние сердца. В связи с этим был предложен метод расчета величины ФР и работоспособности сердца с учетом его потенциальных возможностей [Фролов В.А. и др. 1969].

Данная методика широко применяется на кафедре патологической физиологии РУДН с 1970 г. [Дроздова Г.А., 1980, и т.д.], поэтому мы сочли возможным не описывать детали вычисления этого показателя. Результаты многих проверочных опытов показали высокую информативность и однонаправленность измерений ФР по мере углубления патологии [Фролов В.А. и др., 1969].

#### **2.7.4. МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЕРДЦА**

Электрическую активность сердца оценивали методом электрокардиографии в шести отведениях (I, II, III, aVR, aVL, aVF).

### **2.8. РЕГИСТРАЦИЯ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ У КРЫС**

Для оценки уровня АД у крыс проводили непрерывную его 24-часовую регистрацию методом телеметрического мониторингования на установке Data Sciences international (США). С этой целью животным в ходе

хирургической операции под общим наркозом имплантировали радиотрансмиттеры — устройства, непрерывно измеряющие АД в просвете брюшной аорты и в беспроводном режиме (в виде радиосигнала) передающие данные на воспринимающие устройства с сохранением кривых АД в памяти компьютера. При мониторинговании каждое животное содержалось в отдельной клетке, в помещении поддерживался искусственный световой режим: светлая фаза — 7:00–19:00, темная фаза — 19:00–7:00. Обработка полученных данных проводилась с помощью программы Dataquest A.R.T.4.2 Gold (США). В рамках данного исследования определяли среднесуточное систолическое и диастолическое АД.

## **2.9. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

С помощью морфологических методов изучали структурные особенности миокарда и апоптоз КМЦ ЛЖ и ПЖ.

### **2.9.1. МЕТОДИКА МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МИОКАРДА В ПОЛУТОНКИХ СРЕЗАХ**

У животных под общим наркозом (см. выше) вскрывали грудную клетку, выполняли экстирпацию сердца и перфузировали его через восходящую аорту 2,5% раствором глутарового альдегида. Папиллярные мышцы отдельно ЛЖ и ПЖ иссекали, дофиксировали  $\text{OsO}_4$  при  $\text{pH}=7,2-7,4$  и заливали в эпон с араддитом. Полутонкие срезы толщиной 1,2–1,5 мкм изготавливали на ультрамикротоме Reichert-Jung-Ultracut и окрашивали препараты метиленовым синим и фуксином по P. Anthoni и соавт. (1984).

Полутонкие срезы исследовали с помощью светового микроскопа Nikon Eclipse E400 при иммерсионном увеличении 1000 и видеосистемы TauVideo с программой «Tau Морфология» на основе камеры Watec 221s. При этом анализировали 30 полей зрения в каждом препарате. Морфометрический анализ проводили в каждом поле зрения: определяли в объемных процентах (об. %) относительное содержание в миокарде мышечных волокон, ядер, коллагена, сосудов, участков деструкции и межклеточных пространств.

### **2.9.2. МЕТОДИКА МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ**

Морфологическую оценку апоптоза КМЦ проводили путем визуализации в полутонких срезах ЛЖ и ПЖ (см. п. 2.7.1) свободно лежащих

ядер, под которыми подразумеваются ядра с измененной морфологией (конденсация и маргинация хроматина, сжатие ядра), находящиеся в межклеточных пространствах. Считается, что экструзия ядра из клетки в межклеточное пространство является одним из механизмов ПКГ КМЦ [Runge M.S. et al., 2000; Цыпленкова В.Г. и др., 2007]. Количественный анализ интенсивности апоптоза КМЦ выполняли с помощью методики, разработанной на кафедре общей патологии и патологической физиологии РУДН: подсчитывали в каждом поле зрения общее число ядер, а среди них количество свободно лежащих ядер и далее вычисляли *индекс апоптоза (ИА)* по формуле:

$$\text{ИА} = \frac{\text{СЛЯ}}{\text{Я}} \cdot 100\%,$$

где СЛЯ — количество свободно лежащих ядер, Я — общее количество ядер.

### 2.9.3. МЕТОДИКА ГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ

У животных под общим наркозом (см. выше) вскрывали грудную клетку, выполняли экстирпацию сердца. Из стенки ЛЖ<sup>1</sup> и ПЖ вырезали образцы миокарда и фиксировали в течение 72 ч в 4% нейтральном параформальдегиде. Далее проводили обработку материала и заливку в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы толщиной 5 мкм изготавливали на микротоме Slidt-2003 (Германия) и наносили на стекла с поли-L-лизинным покрытием. Срезы депарафинировали ксилолом и проводили по спиртам нисходящей концентрации. Апоптоз КМЦ оценивали путем постановки реакции TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling) с использованием стандартного набора реактивов Apo-BrdU-ИНС In Situ DNA Fragmentation Assay Kit (BioVision, США). Препараты докрашивали гематоксилином. Реакция TUNEL считалась положительной при появлении коричневой окраски в ядрах КМЦ. В каждом препарате методом световой микроскопии при 400-кратном увеличении с использованием микроскопа Nikon Eclipse E-400 и видеосистемы на основе камеры Watec 221S (Япония) анализировали 20 полей зрения и определяли индекс апоптоза, представляющий собой отношение числа TUNEL-позитивных ядер к общему количеству ядер КМЦ в поле зрения.

<sup>1</sup> Здесь и в п. 2.10 при исследовании очаговой ишемии ЛЖ ткань миокарда ЛЖ выделяли из участков жизнеспособной сердечной мышцы, граничащей с зоной некроза.

## 2.9.4. ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ГИПЕРТРОФИИ МИОКАРДА

Срезы миокарда толщиной 5–7 мкм окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином. Препараты исследовались с помощью описанной выше микроскопической методики, на том же оборудовании. При этом в 15 полях зрения в каждом препарате определяли количество равноудаленных точек на сетке Г.Г. Автандилова, приходящихся на ядра и миофибриллы КМЦ. Затем на основании полученных данных вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО), отражающее степень гипертрофии миокарда (чем меньше значение ЯЦО, тем более выражена гипертрофия КМЦ).

## 2.10. БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АПОПТОЗА КЛЕТОК МИОКАРДА

*Получение лизатов клеток миокарда.* Из стенки ЛЖ и ПЖ сердец кроликов и крыс вырезали образцы миокарда массой 200–250 мг и измельчали их в гомогенизаторе WiseTis серии HG-15 с ротором 8 мм при скорости 4500 об/мин. Для этого использовали среду выделения [20 mM HEPES, водородный показатель (pH) 7,5, 10 mM KCl, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM ДТТ], к которой добавляли коктейль ингибиторов протеаз (104 mM AEBSF, 0,08 mM апротинин, 1,5 mM пепстатин А<sup>®</sup> 2 mM лейпептин<sup>®</sup>, 4 mM бестатин<sup>®</sup>, 1,4 mM E-64) в соотношении 100:1 (все реактивы были произведены фирмой Sigma, США). Необходимость наличия ингибиторов протеаз была обусловлена возможностью расщепления каспаз высвобождаемыми из клеток протеолитическими ферментами или их дополнительной активации путем частичного протеолиза. Требованием при выборе ингибиторов было отсутствие подавления ими каспазной активности. Гомогенаты центрифугировали на микроцентрифуге Heraeus fresco 17 (Thermo Electron LED GMBH, Германия) при 15 000g в течение 30 мин при 4 °C и полученные супернатанты (лизаты) использовали для оценки активности каспазы-3 и каспазы-8.

Важным условием при гомогенизации тканей являлось проведение всех манипуляций при низкой температуре во избежание преждевременной активации ферментов.

*Оценку активности каспазы-3* проводили колориметрическим методом с использованием набора реактивов Caspase 3 Assay Kit, Colorimetric (Sigma, США) по скорости расщепления синтетического субстрата Ac-DEVD-pNA (N-ацетил-Асп-Глу-Вал-Асп-нитроанилин).

Лизаты клеток миокарда инкубировали в 96-луночных микропланшетах в течение 95 мин при 37 °С в реакционном буфере (20 мМ HEPES, рН 7,4, 2 мМ этилендиаминтетрауксусная кислота, 5 мМ дитиотреитол, 0,1% CHAPS) в двух параллельных пробах, одна из которых содержала 20 нмоль Ac-DEVD-pNA, а другая — 20 нмоль Ac-DEVD-pNA и 2 нмоль специфического ингибитора каспазы-3 Ac-DEVD-CMO. Оптическую плотность регистрировали каждые 20 мин в течение 100 мин на ИФА(иммуноферментный анализ)-ридере Sunrise (Tecan) при длине волны 405 нм. Активность каспазы-3 рассчитывали по разнице скоростей расщепления субстрата в пробах без ингибитора и в присутствии ингибитора с учетом калибровочной кривой оптической плотности стандарта pNA.

*Оценку активности каспазы-8* производили колориметрическим методом с использованием набора реактивов Caspase 8 Assay Kit, Colorimetric (Sigma, США) по скорости расщепления синтетического субстрата Ac-IETD-pNA (N-ацетил-Иле-Глу-Тре-Асп-нитроанилин). Лизаты клеток миокарда инкубировали в 96-луночных микропланшетах при 37 °С в реакционном буфере (20 мМ HEPES, рН 7,4, 2 мМ этилендиаминтетрауксусная кислота, 5 мМ дитиотреитол, 0,1% CHAPS, 5% сахароза) в двух параллельных пробах, одна из которых содержала 20 нмоль Ac-IETD-pNA, а другая — 20 нмоль Ac-IETD-pNA и 0,05 нмоль специфического ингибитора каспазы-8 Ac-IETD-CMO. Оптическую плотность регистрировали каждые 10 минут в течение 1 ч на ИФА-ридере Sunrise (Tecan) при длине волны 405 нм. Активность каспазы-8 рассчитывали по разнице скоростей расщепления субстрата в пробах без ингибитора и в присутствии ингибитора с учетом калибровочной кривой оптической плотности стандарта pNA.

Активность каспазы-8 определяли только в те сроки эксперимента, на которых активность каспазы-3 достигала максимального значения.

## 2.11. СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ

Статистические расчеты осуществлялись с использованием программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США), Microsoft Excel 7.0 (Microsoft), Biostat (McGraw-Hill, Inc., 1993). При проведении исследований оценивались количественные параметры и представлялись в виде среднего значения признака и ошибки среднего значения. Для проверки достоверности различий между изучаемыми выборками были использованы U-критерий Манна–Уитни и t-критерий Стьюдента при уровне значи-

мости  $p \leq 0,05$ . Также проводился корреляционный анализ, позволяющий оценить связь между отдельными процессами и параллелизм в их развитии. Связь оценивали по величине коэффициента корреляции  $r$  как сильную при  $r \geq 0,75$ ; связь средней силы при  $r = 0,5 - 0,75$ ; как слабую при  $r = 0,25 - 0,5$  [Плохинский Н.А., 1970]. Значение  $r < 0,25$  оценивалось нами как отсутствие связи.

## **ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ, МОРФО- ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЦА И АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ОЧАГОВОЙ ИШЕМИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

---

---

Как было показано в предыдущей главе, при значительной перегрузке ЛЖ, вызванной увеличением сопротивления сердечному выбросу, происходит повышение интенсивности апоптотической гибели КМЦ на фоне выраженной деструкции миокарда обоих желудочков и нарушения их функциональных характеристик.

Принципиально иным механизмом альтерерирующего воздействия на сердце обладает очаговая ишемия. При этом, согласно мнению ряда авторов, в ишемизированном миокарде также наблюдается активизация апоптоза КМЦ [Rodriguez M. et al., 2002; Abbate A. et al., 2005]. Существуют, однако, работы, в которых подобные выводы ставятся под сомнение [Nakagawa T. et al., 2005; Takemura G. et al., 2006]. Учитывая определенную степень противоречивости литературных данных, мы сочли необходимым провести собственное исследование для более корректной оценки гипотезы о типовом характере реакции усиления апоптотических процессов в ответ на повреждение миокарда.

Эксперимент был поставлен на 74 кроликах-самцах породы шиншилла массой тела 3–3,5 кг и включал в себя 5 серий, в каждой из которых у животных моделировали очаговую ишемию ЛЖ путем перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии на границе ее средней и нижней трети.

Первая серия была представлена 4 группами: 1 контрольная (интактные кролики) и 3 опытных: 1, 3 и 5 сут очаговой ишемии ЛЖ. У 5 кроликов из каждой группы определялись показатели, отражающие функциональное состояние сердечно-сосудистой системы.

Во второй серии деление на группы не производилось. У 16 кроликов последовательно с интервалом 30 минут с 11:00 до 18:00 ч (1 кролик в полчаса) выполняли моделирование острой коронарной недостаточности описанным выше способом и проводили мониторинг

электрокардиограммы, начиная за 10 мин до операции и заканчивая через 30 мин после нее.

В третьей серии экспериментов исследовались 2 группы животных: 1 контрольная и 1 опытная. У кроликов опытной группы моделировали острую коронарную недостаточность и измеряли значения показателей внутрисердечной гемодинамики через 30 мин после операции. Аналогичные показатели определяли и в контрольной группе. В каждой из 2 групп (контрольной и опытной) было по 5 животных.

Четвертая серия была представлена 4 группами (см. описание первой серии). У 2 кроликов из каждой группы изучали морфологическое состояние ЛЖ и ПЖ методом световой микроскопии.

Пятая серия также включала в себя 4 группы (см. описание первой серии). У 5 кроликов из каждой группы оценивали специфическую активность каспазы-3 в миокарде ЛЖ и ПЖ. Далее с учетом данных по каспазе-3 оценивали специфическую активность каспазы-8 в контроле и в той группе, где активность каспазы-3 показала максимальный результат. В этой же серии у 3 кроликов из каждой группы изучали апоптоз КМЦ ЛЖ и ПЖ с применением иммуногистохимической методики TUNEL.

### **3.1. ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ СИСТЕМНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПРИ ОЧАГОВОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

#### **3.1.1. АНАЛИЗ ЦЕНТРАЛЬНОГО АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ ПРИ ОЧАГОВОЙ ИШЕМИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

В табл. 3.1 представлены данные по АД и отдельным показателям, отражающим свойства пульсовой волны. Полученные результаты свидетельствуют о следующем. Через 1 сут от начала очаговой ишемии ЛЖ сердца происходит достоверное снижение систолического и диастолического АД. На 3-и сутки исследования наблюдается повышение обоих этих показателей по сравнению с первыми сутками, но тем не менее они остаются достоверно ниже, чем в контрольной группе. На 5-е сутки и систолическое, и диастолическое АД возвращаются на исходный уровень.

Можно предположить, что при резком ослаблении сократительной способности миокарда ЛЖ, вызванном очаговой ишемией, снижается фракция выброса, в результате чего наблюдается падение как систолического, так и диастолического АД на ранних сроках процесса. Однако



Таблица 3.1

**Показатели центрального артериального давления кроликов в контроле и при очаговой ишемии левого желудочка ( $M \pm m$ )**

Показатель	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Систолическое АД, мм рт.ст.	122,7±1,6	105,7±2,9*	115,3±2,9*	123,5±2,0
Диастолическое АД, мм рт.ст.	106,6±1,0	83,5±2,8*	95,8±1,7*	106,4±2,1
ВО, мм рт.ст.	111,3±1,1	94,1±1,6*	107,2±1,8	109,6±1,2
ВПВО, мсек	39,32±3,3	36,2±2,2	39,7±1,4	38,1±3,1
ВРПВ, мсек	102,6±3,2	114,5±3,4*	108,2±3,0	104,4±3,4

*Примечание:* ВО — амплитуда волны отражения, ВПВО — время появления пульсовой волны, ВРПВ — время распространения пульсовой волны; звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

в дальнейшем, по-видимому, происходит включение центральных механизмов регуляции сосудистого тонуса, что и приводит к его нормализации.

Амплитуда волны отражения достоверно снижается на 1-е сутки исследования, но к 3-м суткам практически возвращается к исходному значению и остается на этом уровне до 5-х суток.

Время появления пульсовой волны не меняется по сравнению с контролем ни в один из сроков эксперимента, что указывает на отсутствие изменения упруго-эластических свойств и степени констрикции центральных артерий при очаговой ишемии ЛЖ.

ВРПВ достоверно увеличивается на 1-е сутки исследования. Очевидно, что это связано с удлинением ударной волны, поскольку время появления пульсовой волны не менялось по сравнению с контролем, а пульсовая волна представляет собой сумму ударной и отраженной волн. Вероятнее всего, причиной данного изменения служит значительное ухудшение биомеханических свойств ЛЖ. На 3-и сутки ВРПВ возвращается на исходный уровень и далее уже не меняется вплоть до 5-х суток.

Таким образом, анализ пульсовой волны свидетельствует о том, что свойства центральных артерий не претерпевают существенных изменений в первые несколько суток от начала острой коронарной недостаточности, а наблюдаемые нарушения системной гемодинамики связаны с развитием систолической дисфункции ЛЖ.

## 3.2. ВЛИЯНИЕ ОЧАГОВОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЦА

### 3.2.1. ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА ПРИ ЕГО ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ

Данные, характеризующие сократительную способность и диастолическую функцию ЛЖ, приведены в табл. 3.2.

Таблица 3.2

**Показатели функциональной активности левого желудочка сердца кроликов в контроле и при его очаговом ишемическом повреждении ( $M \pm m$ )**

Показатель	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Реальное ВД ЛЖ, мм рт.ст.	135,7±3,2	110,6±3,1*	115,6±2,8*	117,4±1,1*
Максимальное ВД ЛЖ, мм рт.ст.	182,8±3,4	131,8±3,7*	139,9±3,8*	144,6±3,8*
ФР	1,35	0,70	0,80	0,84
$\eta$ , %	100	52	59	63
КДД ЛЖ, мм рт.ст.	7,1±0,4	10,2±0,8*	10,7±1,2*	10,3±0,6*

*Примечание:* для ФР и  $\eta$  не указаны погрешности, поскольку данные коэффициенты рассчитывались по средним значениям реального и максимального ВД в соответствующих группах исследования; КДД — конечное диастолическое давление; звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .

Полученные результаты свидетельствуют о следующем. На 1-е сутки после моделирования очаговой ишемии отмечается значительное достоверное снижение реального ВД ЛЖ (на 18,5%). В последующие сроки эксперимента данный показатель начинает постепенно увеличиваться, однако вплоть до 5-х суток он остается достоверно ниже контрольного уровня.

Аналогичная динамика характерна и для максимального ВД ЛЖ. При этом обращает на себя внимание изменение разницы между реальным и максимально достижимым давлением в полости ЛЖ на протяжении эксперимента. На первые сутки наблюдается сокращение интервала между двумя этими показателями (за счет более резкого падения максимального ВД ЛЖ), а в последующие сроки (3 и 5 суток) заметной динамики уже не отмечается. Абсолютное значение максимального ВД ЛЖ остается достоверно ниже нормы во все сроки наблюдения.

Потенциальная работоспособность ЛЖ, характеризуемая расчетными показателями ( $\Phi$ Р и  $\eta$ ), в 1-е сутки эксперимента угнетается значительно глубже (на 48%) и в последующие сроки восстанавливается гораздо менее эффективно, чем его реальная сократительная активность.

КДД ЛЖ к исходу 1-х суток достоверно увеличивается по сравнению с контролем и в последующие сроки исследования практически не меняется. Таким образом, при острой коронарной недостаточности развивается также и диастолическая дисфункция ЛЖ.

Следует отметить, что у 90% животных на любом сроке исследования во время эксперимента мы наблюдали отчетливые макроскопические признаки инфаркта миокарда. В 10% случаев наличие некроза вызвало сомнения, однако, очаговая ишемия миокарда была очевидна. При этом нельзя исключить, что нарушение систолической и диастолической функции ЛЖ связано также и с развитием морфологических изменений в макроскопически неизменной (пренекротической) зоне сердечной мышцы. Насколько это предположение является справедливым, мы попытаемся выяснить в следующем подразделе данной главы (п. 3.3).

### **3.2.2. ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА ПРИ ОЧАГОВОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

Значения показателей, отражающих функциональное состояние ПЖ при ишемическом повреждении ЛЖ, приведены в табл. 3.3.

Представленные данные свидетельствуют о следующем. В конце первых суток реальное ВД ПЖ достоверно увеличивается, затем, в последующие сроки несколько снижается, но остается при этом выше нормы, что, по-видимому, связано со значительно возросшей на ПЖ гемодинамической нагрузкой, обусловленной застоем крови в малом круге кровообращения. Кроме того, начиная с первых суток, значительно сокращается разница между реальным и максимальным ВД ПЖ, однако абсолютное значение максимального ВД ПЖ на всех сроках остается достоверно выше, чем в контроле.

$\Phi$ Р и коэффициент потенциальной работоспособности ( $\eta$ ) ПЖ значительно увеличиваются по сравнению с контролем на 1-е сутки от начала ишемического повреждения ЛЖ. На 3-и сутки оба эти показателя существенно снижаются относительно 1-х суток, а к 5-м суткам эксперимента опять немного увеличиваются. Характерно, что на всех сроках  $\Phi$ Р и  $\eta$  остаются выше своих контрольных значений.

Таблица 3.3

**Показатели функциональной активности правого желудочка сердца кроликов в контроле и при очаговом ишемическом повреждении левого желудочка ( $M \pm m$ )**

Показатель	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Реальное ВД ПЖ, мм рт.ст.	31,5±0,6	50,1±1,0*	47,1±1,2*	46,6±0,8*
Максимальное ВД ПЖ, мм рт.ст.	47,0±1,0	59,8±1,5*	53,3±1,6*	55,6±1,3*
ФР	1,5	2,42	1,92	2,09
η, %	100	162	129	140
КДД ПЖ, мм рт.ст.	2,8±0,5	2,1±0,4	2,8±0,8	2,6±0,6

*Примечание:* для ФР и η не указаны погрешности, поскольку данные коэффициенты рассчитывались по средним значениям реального и максимального ВД в соответствующих группах исследования; звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .

Описанные изменения свидетельствуют о том, что снижение сократительной активности ЛЖ по причине его ишемического повреждения приводит к увеличению гемодинамической нагрузки на ПЖ, обусловленному, очевидно, застоем крови в малом круге кровообращения. При этом, в отличие от острой гемодинамической перегрузки ЛЖ (см. п. 5.2.2), ослабление сократительной функции ПЖ не наблюдается. Кроме того, отмечается повышение потенциальной работоспособности ПЖ. Таким образом, можно сказать, что перегрузка ПЖ при очаговой ишемии ЛЖ носит умеренный характер и не приводит к истощению его энергетических ресурсов.

КДД на всем протяжении эксперимента остается на уровне контрольного значения, что указывает на отсутствие изменений диастолической функции ПЖ.

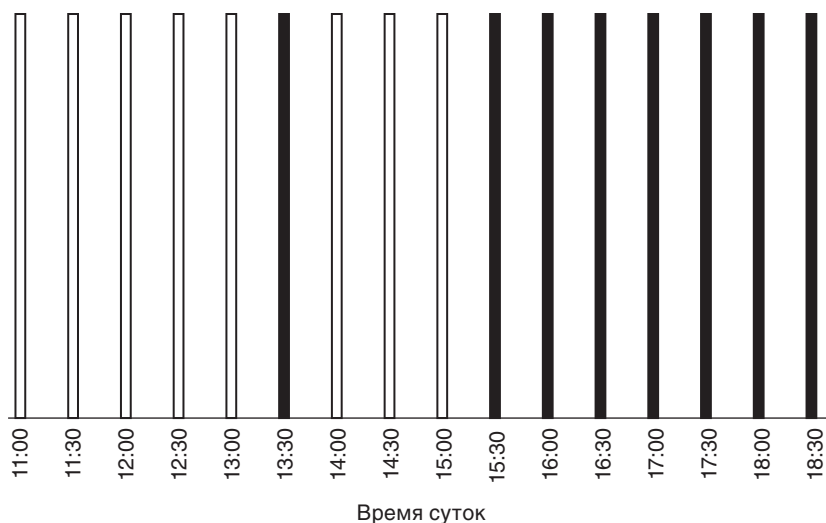
### **3.2.3. ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ФИБРИЛЛЯЦИИ СЕРДЦА ПРИ ОЧАГОВОЙ ИШЕМИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

В ходе выполнения экспериментов по моделированию очаговой ишемии ЛЖ у изначально интактных кроликов нами было замечено, что при одних и тех же условиях у части животных возникает необратимая фибрилляция с переходом в асистолию, а у другой части подобных явлений не наблюдается и они выживают. Поскольку в своих

исследованиях мы моделировали острую коронарную недостаточность в разные часы в течение дня, появилось следующее предположение: возникновение фибрилляции желудочков при острой коронарной недостаточности может быть событием, зависящим от времени суток. Для проверки данной гипотезы мы и провели отдельную серию эксперимента, в которой животным (16 кроликов) в период с 11:00 до 18:00 ч с интервалом в 30 мин под общим наркозом и искусственной вентиляции легких выполнялась операция по перевязке нисходящей ветви левой коронарной артерии. У каждого животного за 10 мин до, а также во время и в течение 30 мин после операции производился мониторинг и регистрация биоэлектрической активности сердца методом электрокардиографии.

В ходе проведенного исследования была установлена четкая связь между возникновением фибрилляции желудочков сердца и временем суток, в которое животным выполняли операцию по воспроизведению острой коронарной недостаточности (рис. 3.1).

У кроликов, которым острая коронарная недостаточность моделировалась в период с 15:30 до 18:00 ч, во всех случаях (7 животных) на 9–15-й минуте после перевязки коронарной артерии возникала

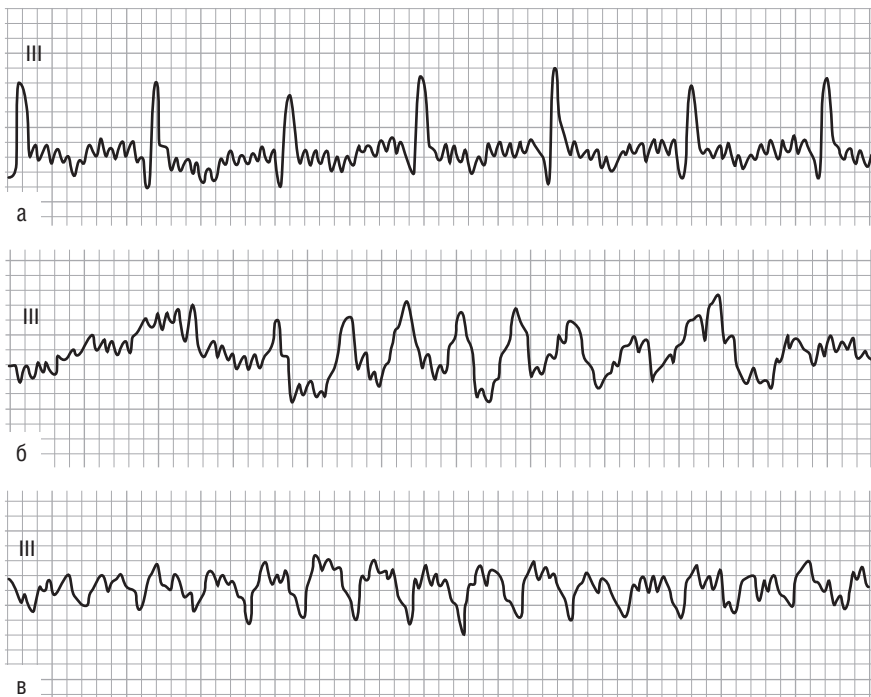


**Рис. 3.1.** Распределение исходов острой коронарной недостаточности по времени суток, в которое она была вызвана. Светлые столбики — фибрилляция желудочков сердца не возникла, животные выжили; темные столбики — возникла необратимая фибрилляция, заканчивающаяся асистолией и гибелью подопытных животных

фибрилляция желудочков: сначала в виде коротких фрагментов, чередующихся с синусовым ритмом (рис. 3.2 б), затем переходящая в постоянную необратимую форму (рис. 3.2 в), заканчивающуюся асистолией и гибелью животных.

Кролики, у которых перевязка коронарной артерии была выполнена с 11:00 до 15:00, в 89 % случаев (8 животных из 9) выжили после операции. При этом даже явлений обратимой кратковременной фибрилляции у них не наблюдалось. И лишь один кролик из 9, прооперированных в данный период, погиб от фибрилляции желудочков.

Обнаруженная закономерность позволяет сделать следующее предположение. Возможно, на границе 15 ч 30 мин происходит переход



**Рис. 3.2.** Фрагменты электрокардиограммы в III стандартном отведении: а — синусовый ритм интактного кролика; б — короткий фрагмент обратимой фибрилляции желудочков, возникший на 11-й минуте после перевязки коронарной артерии; в — постоянная необратимая фибрилляция желудочков, развившаяся на 15-й минуте после перевязки коронарной артерии и закончившаяся асистолией. На рисунке представлены фрагменты электрокардиограммы одного и того же кролика

электролитного баланса и метаболических свойств сердечной мышцы на вечерне-ночной режим функционирования. Возникновение в этот период ишемического очага в миокарде неизбежно ведет к стремительному формированию аритмогенной зоны и, как следствие, к развитию необратимой фибрилляции желудочков.

### 3.2.4. ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ КОРОНАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЖЕЛУДОЧКОВ СЕРДЦА

В предыдущих подразделах были описаны изменения сократительной активности и диастолической функции ЛЖ и ПЖ, развивающиеся в течение первых 5 суток от начала нарушения проходимости нисходящей ветви левой коронарной артерии. При этом минимальный срок, в который производилась оценка функционального состояния желудочков, составил 24 ч. Между тем, как было показано в п. 3.2.3, уже в первые минуты после возникновения ишемии могут произойти фатальные события в сердце. В этой связи мы сочли необходимым провести дополнительную серию экспериментов, в которой реальная и потенциальная работоспособность ЛЖ и ПЖ изучались на фоне острой коронарной недостаточности. Результаты исследования представлены в табл. 3.4.

Таблица 3.4

**Показатели функциональной активности левого и правого желудочков кроликов в контроле и при острой коронарной недостаточности ( $M \pm m$ )**

Показатель	Контроль	Острая коронарная недостаточность
Реальное ВД ЛЖ, мм рт.ст.	137,9 $\pm$ 5,95	147,5 $\pm$ 3,51
Максимальное ВД ЛЖ, мм рт.ст.	258,8 $\pm$ 3,63	248,3 $\pm$ 1,95*
ФР ЛЖ	1,88	1,65
Реальное ВД ПЖ, мм рт.ст.	36,5 $\pm$ 0,74	37,4 $\pm$ 0,32
Максимальное ВД ПЖ, мм рт.ст.	71,7 $\pm$ 1,37	60,5 $\pm$ 0,33*
ФР ПЖ	1,96	1,39

*Примечание:* для ФР не указаны погрешности, поскольку данный коэффициент рассчитывался по средним значениям реального и максимального ВД в соответствующих группах исследования; звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .

Согласно данным табл. 3.4, развитие острой коронарной недостаточности в эксперименте не сопровождается статистически значимым изменением реального ВД ЛЖ и ПЖ. Вместе с тем максимальные ВД ЛЖ и ПЖ достоверно снижаются. Также отмечается падение ФР в обоих желудочках сердца.

Таким образом, в самый ранний период ишемического повреждения ЛЖ (острая коронарная недостаточность) выраженного снижения реальной сократительной активности ЛЖ и ПЖ не происходит. Однако угнетается их потенциальная работоспособность. Следовательно, по крайней мере латентное нарушение функции обоих желудочков сердца развивается уже с первых минут формирования коронарной недостаточности.

### **3.3. ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МИОКАРДА ПРИ ОЧАГОВОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

#### **3.3.1. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

При световой микроскопии полутонких срезов миокарда ЛЖ наблюдается следующее. В контрольной группе (см. цветную вклейку, рис. 3.3) мышечные волокна четко идентифицируются во всех полях зрения. Поперечная исчерченность хорошо просматривается, видны отдельные вставочные диски. Явлений гомогенизации или пересокращения миофибрилл не наблюдается. Саркоlemma без особенностей. Внутриклеточный и внеклеточный отеки не характерны. Коллагена мало, в основном он располагается тонкими прослойками между миофибриллами, а также около кровеносных сосудов. Внеклеточные пространства прозрачны. Ядра КМЦ имеют нормальную структуру, находятся внутри клеток. Кариоlemma имеет четкие контуры. Ядра содержат по 1–2 ядрышка. Хроматин равномерно распределен по всему объему ядра. Явлений конденсации и маргинации хроматина не отмечается. Свободно лежащих ядер мало, они встречаются лишь в отдельных полях зрения.

На 1-е сутки от начала эксперимента миокард ЛЖ выглядит более рыхлым по сравнению с контрольной группой, однако, клеточные и внутриклеточные структуры по-прежнему четко идентифицируются. Выражены явления как внутриклеточного, так и внеклеточного отека. Саркоlemma без патологических изменений. Миофибриллы расположены параллельно друг другу. Явления пересокращения, гомогениза-



ции мышечных волокон не наблюдаются. Очаги деструкции встречаются редко и имеют небольшую площадь. Отмечается большое количество участков резкого разрежения цитоплазмы. Обращает на себя внимание увеличение относительно контрольной группы количества коллагена, который располагается широкими пластами между миофибриллами. В толще коллагеновых отложений находятся множественные фибробласты. Свободно лежащие ядра, как и в контрольной группе, встречаются редко.

По данным морфометрического анализа (табл. 3.5), на 1-е сутки очаговой ишемии в миокарде ЛЖ достоверно уменьшается площадь миофибрилл. При этом статистически значимо увеличивается количество коллагена. Суммарная площадь микрососудов достоверно снижается относительно контроля, что выглядит закономерно на фоне ишемии сердечной мышцы. Площадь участков деструкции не имеет статистически значимого отличия от контрольной группы. По-видимому, на данном сроке в пренекротической зоне ЛЖ нарушений структурной целостности КМЦ и их некротической гибели не происходит. Объемная доля внеклеточного пространства достоверно увеличивается, что свидетельствует о развитии интерстициального отека.

Таблица 3.5

**Сравнительные данные морфометрии полутонких срезов миокарда  
левого желудочка в контроле, через 1, 3 и 5 суток от начала очаговой  
ишемии ЛЖ (об.%,  $M \pm m$ )**

Срок исследования	Мышечные волокна	Коллаген	Сосуды	Участки деструкции	Внеклет. простр-ва
Контроль	63,5±2,05	4,8±1,68	7,07±1,33	1,6±0,73	21,9±1,44
1 сутки	52,13±1,5*	12,17±1,71*	3,97±0,57*	2,03±0,41	29,0±1,71*
3 суток	53,0±1,85*	18,97±1,34*	2,3±0,59*	3,23±0,52	21,5±1,22
5 суток	56,07±1,24*	12,07±1,12*	2,23±0,88*	2,9±0,36	26,2±1,07*

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

К 3-м суткам исследования клеточные и внутриклеточные структуры просматриваются менее четко. Многие миофибриллы теряют поперечную исчерченность. Вставочные диски идентифицируются плохо и лишь в отдельных полях зрения. Характерны явления гомогенизации мышечных волокон. Сохраняется прежняя выраженность внутриклеточного отека. В некоторых полях зрения обнаруживаются участки с нарушенной пространственной ориентацией миофибрилл.

Как и на 1-е сутки исследования, наблюдаются массивные отложения коллагена между мышечными волокнами (см. цветную вклейку, рис. 3.4). Увеличивается содержание в миокарде сосудов Вьессена–Тезеби. Участки повреждения миокарда встречаются редко и имеют небольшую площадь. Количество как внутриклеточных, так и свободно лежащих ядер не меняется, однако характерно появление делящихся ядер внутри клеток.

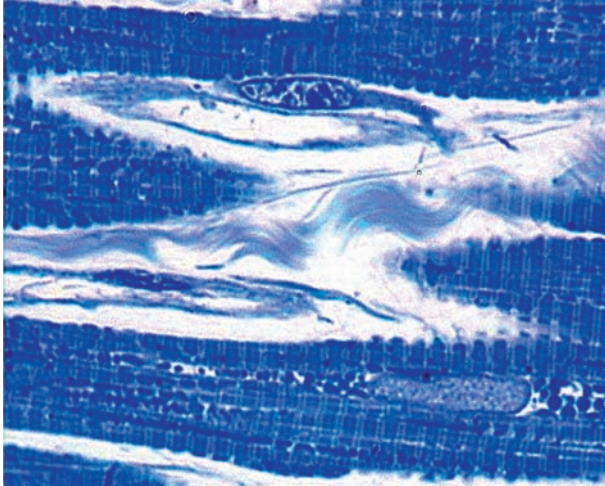
Результаты морфометрического исследования миокарда ЛЖ (см. табл. 3.5) на 3-и сутки его ишемического повреждения свидетельствуют о том, что площадь мышечных волокон не изменяется относительно предыдущего срока. Количество коллагена увеличивается. Сохраняется динамика снижения суммарной площади сосудов микроциркуляторного русла. Отмечается тенденция к увеличению площади участков повреждения миокарда. Объемная доля внеклеточного пространства возвращается на уровень контроля, что может быть обусловлено снижением явлений интерстициального отека.

На 5-е сутки эксперимента морфологическая картина миокарда ЛЖ в целом существенно не отличается от предыдущего срока. По-прежнему наблюдаются явления гомогенизации миофибрилл. Внутриклеточные структуры КМЦ четко не визуализируются. Поперечная исчерченность просматривается плохо. Многие мышечные волокна находятся в состоянии умеренного внутриклеточного отека. Сохраняются массивные отложения коллагена. Микрососудов мало. Внеклеточные пространства расширены, однако, экссудат в них прозрачный и не содержит клеточных элементов, а также продуктов деградации тканевых или клеточных структур, что указывает на отсутствие выраженного повреждения миокарда и признаков воспалительной реакции.

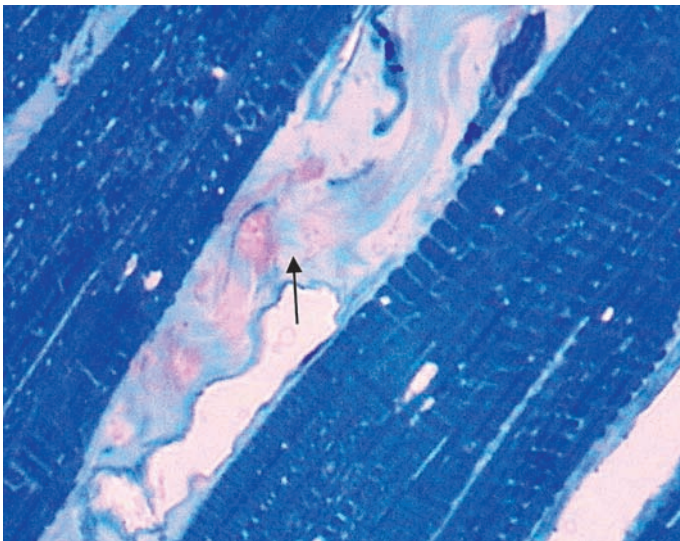
При анализе морфометрических данных по ЛЖ (см. табл. 3.5) на 5-е сутки его очаговой ишемии статистически значимого отличия в содержании миофибрилл по сравнению с предыдущим сроком исследования не обнаружено. Количество коллагена снижается по сравнению с 3-ими сутками, но, тем не менее, остается достоверно выше контрольного значения. Суммарная площадь микрососудов, а также площадь участков деструкции не имеют достоверного отличия от 3-х суток эксперимента. Однако объем внеклеточного пространства вновь достоверно повышается.

Результаты корреляционного анализа между морфометрическими показателями ЛЖ приведены в табл. 3.6.

Обращает на себя внимание отсутствие корреляционных связей в паре «мышечные волокна – участки деструкции» на всех сроках исследования. Учитывая, что площадь участков деструкции также не имела



**Рис. 3.3.** Полутонкий срез миокарда левого желудочка сердца. Контроль (интактный кролик). Окраска по P. Anthoni et al. Ув.  $\times 1000$



**Рис. 3.4.** Полутонкий срез миокарда левого желудочка сердца. 3 суток от начала очаговой ишемии ЛЖ. Явления гомогенизации миофибрилл. Массивное отложение коллагена между миофибриллами (указано стрелкой). Окраска по P. Anthoni et al. Ув.  $\times 1000$

Таблица 3.6

**Корреляционные связи между некоторыми морфометрическими показателями  
левого желудочка в норме и на различных сроках его очагового  
ишемического повреждения**

Пары показателей	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Мышечные волокна – коллаген	-0,56*	-0,52*	-0,73*	-0,5*
Мышечные волокна – сосуды	-0,5*	-0,1	-0,22	-0,54*
Мышечные волокна – участки деструкции	-0,03	+0,13	-0,35	-0,05
Мышечные волокна – внеклеточные пространства	-0,32	-0,32	-0,46	-0,19
Коллаген – сосуды	-0,14	+0,01	+0,1	+0,08

*Примечание:* звездочкой отмечены достоверные корреляционные связи.

достоверного отличия от контроля ни на одном сроке эксперимента (см. табл. 3.5), следует предположить, что снижение объемной доли мышечных волокон не связано с их повреждением. Кроме того, необходимо отметить наличие отрицательной достоверной корреляционной связи средней силы в паре «мышечные волокна – коллаген» во все сроки исследования, что, на наш взгляд, может свидетельствовать об усилении фибропластических процессов в миокарде в ответ на снижение доли мышечных волокон в перинфарктной зоне ЛЖ уже в самые ранние сроки после окклюзии одной из ветвей левой коронарной артерии.

Активизация фиброза также косвенно подтверждается увеличением количества фибробластов в миокарде ЛЖ при микроскопическом исследовании препаратов. Возможно, усиление коллагенообразования способствует укреплению сохраняющей жизнеспособность ткани, предотвращая разрыв миокарда или возникновение его аневризмы.

### 3.3.2. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА

При световой микроскопии полутонких срезов миокарда ПЖ обнаружено следующее. В контрольной группе мышечные волокна четко контурируются, лежат в основном параллельно друг другу. Тканевые, клеточные и внутриклеточные структуры просматриваются хорошо. Отчетливо визуализируется поперечная исчерченность. Явления внутри- и внеклеточного отека не характерны. Иногда встречаются участки незначительного разрежения цитоплазмы КМЦ.

Участки миокарда с нарушенной пространственной ориентацией миофибрилл не выявляются. Коллагена мало. Как и в миокарде ЛЖ, он

располагается между миофибриллами в виде тонких прослоек, а также вокруг микрососудов. Участки деструкции встречаются редко и имеют небольшую площадь. Ядра лежат внутри клеток, имеют по 1–2 ядрышка. Хроматин гомогенен и равномерно распределен по всему объему карิโอплазмы. Конденсации и маргинации хроматина не обнаружено. «Свободно лежащие ядра» встречаются редко.

На 1-е сутки от начала очаговой ишемии ЛЖ миокард ПЖ сохраняет прежнюю плотность. Явления внутри- и внеклеточного отека не наблюдаются. Миофибриллы по-прежнему имеют четкие контуры и расположены параллельно друг другу. Участков деструкции мало, имеется незначительное количество участков разрежения цитоплазмы в основном в области расположения клеточных ядер. Несколько увеличивается количество свободно лежащих ядер (см. цветную вклейку, рис. 3.5), которые имеют меньший по сравнению с нормой размер и содержат плотный, конденсированный хроматин, оттесненный к периферии. Коллагена мало. В целом можно отметить, что по сравнению с ЛЖ в тот же срок, в ПЖ наблюдаются менее выраженные изменения.

Согласно данным морфометрического анализа (табл. 3.7), на 1-е сутки достоверно снижается площадь миофибрилл. Количество коллагена остается на уровне контроля. Достоверно снижается суммарная площадь микрососудов, что свидетельствует о значительном нарушении кровоснабжения миокарда. Площадь участков деструкции и объемная доля внеклеточных пространств достоверно увеличиваются, что указывает на существенное повреждение миокарда ПЖ и развитие интерстициального отека.

Таблица 3.7

**Сравнительные данные морфометрии полутонких срезов миокарда  
правого желудочка в контроле, через 1, 3 и 5 суток от начала очаговой  
ишемии ЛЖ (об. %,  $M \pm m$ )**

Срок исследования	Мышечные волокна	Коллаген	Сосуды	Участки деструкции	Внеклет. простр-ва
Контроль	70,27±1,0	4,33±0,73	5,87±0,84	0,6±0,21	17,6±0,95
1 сутки	67,0±1,29*	4,83±0,58	1,9±0,45*	2,47±0,32*	22,53±1,14*
3 суток	72,67±1,17	3,6±0,52	2,07±0,54*	1,77±0,29*	19,13±1,02
5 суток	62,57±1,6*	6,5±0,76*	0,9±0,2*	4,13±0,58*	24,9±1,44*

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

К 3-м суткам исследования в миокарде ПЖ мышечные волокна четко идентифицируются. По сравнению с ЛЖ на том же сроке, внутриклеточные структуры просматриваются лучше. Явления гомогенизации практически отсутствуют. Однако в некоторых полях зрения встречаются участки пересокращения миофибрилл. В отдельных участках появляются поперечные разрывы мышечных волокон. Кроме того, как и на 1-е сутки эксперимента, значительно чаще по сравнению с контролем встречаются участки повреждения миокарда. Количество и характер распределения коллагена не отличаются ни от контроля, ни от 1-х суток. Становится меньше ядер КМЦ, причем, как внутриклеточных, так и свободно лежащих.

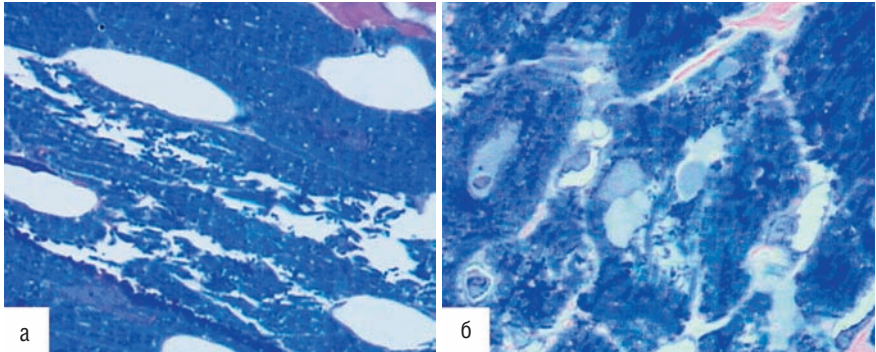
При морфометрическом исследовании (см. табл. 3.7) отмечается достоверное увеличение по сравнению с первыми сутками площади мышечных волокон. Данный показатель практически возвращается на уровень контрольной группы. Количество коллагена по-прежнему остается в пределах контрольного значения. Суммарная площадь микрососудов не имеет статистически значимого отличия от предыдущего срока и остается, таким образом, достоверно ниже нормы. Площадь участков деструкции находится на уровне 1-х суток исследования. Однако объем внеклеточного пространства возвращается к контрольному значению. Таким образом, на данном сроке эксперимента происходит снижение степени внеклеточного отека, что вероятнее всего и обуславливает увеличение относительного содержания мышечных волокон.

На 5-е сутки от начала моделирования очаговой ишемии ЛЖ миокард выглядит более рыхлым по сравнению со всеми предыдущими сроками. Имеется небольшое утолщение миофибрилл, вызванное внутриклеточным отеком. Также имеет место расширение внеклеточных пространств, но, как и в ЛЖ, они заполнены прозрачным экссудатом, не содержащим клеточных элементов или продуктов деградации клеточных и тканевых структур. Заметно возрастает содержание коллагена. Также существенно увеличивается количество участков деструкции, имеющих различную площадь (см. цветную вклейку, рис. 3.6 а, б).

Анализ морфометрических данных по ПЖ (см. табл. 3.7) на 5-е сутки эксперимента выявил следующие особенности. Происходит достоверное по сравнению с 3-ми сутками снижение площади миофибрилл. Параллельно с этим достоверно увеличивается объемная доля внеклеточных пространств, что указывает на повторное развитие интерстициального отека. Также значительно увеличивается площадь участков повреждения миокарда. Таким образом, уменьшение площади мышечных волокон может быть как абсолютным (связанным с гибелью КМЦ), так и относительным (обусловленным развитием



**Рис. 3.5.** Полутонкий срез миокарда правого желудочка сердца. 1 сутки от начала очаговой ишемии ЛЖ. Свободно лежащее ядро (указано стрелкой). Окраска по Р. Anthoni et al. Ув.  $\times 1000$



**Рис. 3.6.** Полутонкие срезы миокарда правого желудочка сердца. 5 суток от начала очаговой ишемии ЛЖ. Участки выраженной деструкции миокарда. Окраска по Р. Anthoni et al. Ув.  $\times 400$

внечелюстного отека). Отмечается достоверное и довольно резкое увеличение количества коллагена. Суммарная площадь сосудов микроциркуляторного русла продолжает снижаться.

Для выявления возможных связей между отдельными изменениями морфологических показателей ПЖ был проведен корреляционный анализ (табл. 3.8).

Таблица 3.8

**Корреляционные связи между некоторыми морфометрическими показателями правого желудочка в норме и на различных сроках очагового ишемического повреждения левого желудочка**

Пары показателей	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Мышечные волокна – коллаген	-0,57*	-0,42	-0,28	-0,5*
Мышечные волокна – сосуды	-0,25	-0,41	-0,36	+0,28
Мышечные волокна – участки деструкции	+0,36	+0,17	-0,58*	+0,02
Мышечные волокна – внечелюстные пространства	-0,43	-0,78*	-0,63*	-0,86*
Коллаген – сосуды	-0,09	+0,30	+0,41	+0,14

*Примечание:* звездочкой отмечены достоверные корреляционные связи.

В контрольной группе существует отрицательная корреляционная связь средней силы между площадью миофибрилл и количеством коллагена. На 1-е и 3-и сутки исследования она становится слабой, однако к 5-м суткам вновь приобретает среднюю силу. Учитывая, что на 5-е сутки достоверно увеличивается по сравнению с нормой содержание коллагена, следует предположить, что в миокарде ПЖ начинает развиваться фибропластический процесс в ответ на снижение относительной массы мышечных волокон.

Возвращаясь к интерпретации морфометрических данных по ПЖ, следует отметить, что динамика площади миофибрилл носит волнообразный характер: через 24 ч от начала эксперимента этот показатель достоверно уменьшается по сравнению с контролем, через 72 ч возвращается на исходный уровень, а через 120 ч вновь становится достоверно ниже нормы (см. табл. 3.7). Подобные изменения, скорее всего, объясняются развитием выраженного внечелюстного отека в 1-е и 5-е сутки исследования, что подтверждается наличием отрицательных достоверных корреляционных связей в паре «мышечные волокна – внечелюстные пространства» на всех сроках исследования ( $\rho = -0,78$  в 1-е сутки,  $\rho = -0,63$  на 3-и сутки,  $\rho = -0,86$  на 5-е сутки). Следует

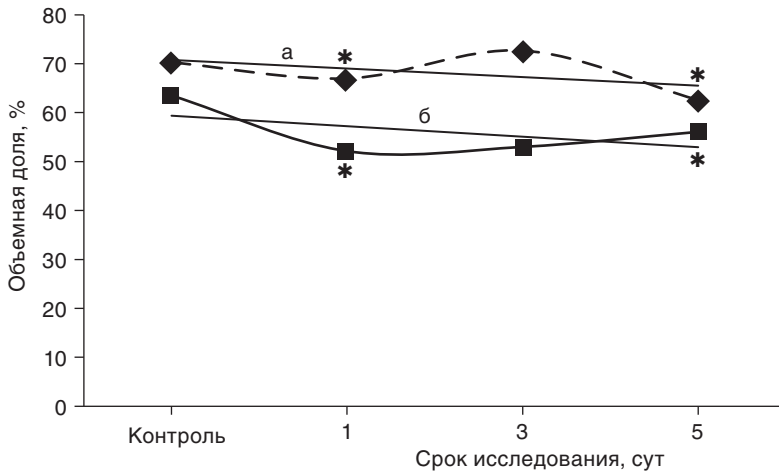


отметить, что по мере развития процесса происходит достоверное увеличение площади поврежденных и разрушенных мышечных элементов, что косвенно свидетельствует о возросшей некротической гибели КМЦ. Однако корреляционный анализ выявил отрицательную связь средней силы в паре «мышечные волокна — участки деструкции» лишь на 3-и сутки исследования. Таким образом, можно предположить, что степень деструкции миокарда ПЖ, хоть и увеличивается, не оказывает существенного влияния на общий объем его мышечной массы.

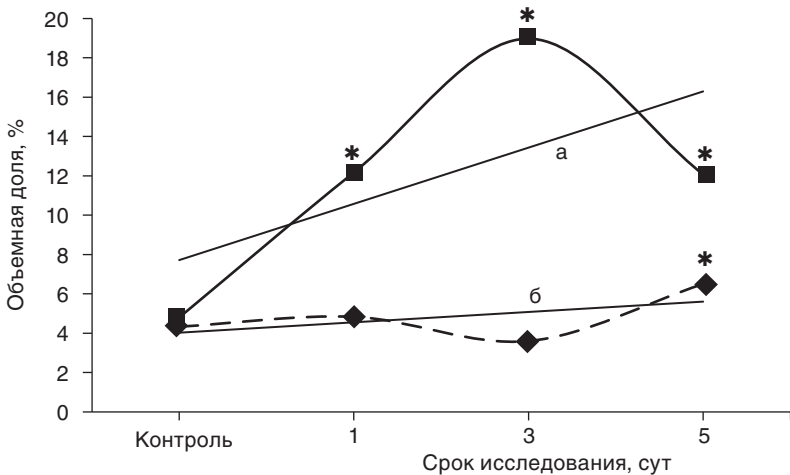
Обобщая данные морфологического исследования ЛЖ и ПЖ при очаговой ишемии ЛЖ, следует выделить несколько наиболее важных, с нашей точки зрения, закономерностей.

Для обоих желудочков характерна общая тенденция к снижению содержания мышечных волокон на единицу миокардиальной ткани (рис. 3.7). При этом, судя по результатам корреляционного анализа (см. табл. 4.2, 4.3), это обусловлено в основном развитием интерстициального отека, а не деструкцией миофибрилл.

В ЛЖ не наблюдается выраженного нарушения структурной целостности ткани. По-видимому, в макроскопически неповрежденных участках миокарда имеет место гибернация без явных некротических процессов в клетках. В ПЖ, который испытывает гемодинамическую перегрузку на фоне ослабления сократительной активности ЛЖ (см.



**Рис. 3.7.** Объемная доля мышечных волокон в ЛЖ и ПЖ при очаговой ишемии ЛЖ. Сплошная линия — ЛЖ, прерывистая линия — ПЖ; а, б — линии тренда для ЛЖ и ПЖ соответственно; \*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой



**Рис. 3.8.** Содержание коллагена в миокарде левого и правого желудочков при очаговой ишемии левого желудочка. Сплошная линия — ЛЖ, прерывистая линия — ПЖ; а, б — линии тренда для ЛЖ и ПЖ соответственно; \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

п. 3.2.2), уже с первых суток возникает деструкция ткани, которая в последующие сроки усугубляется. В этой связи можно предположить, что умеренная ишемия (гибернация) вызывает в миокарде менее глубокое повреждение, чем перегрузочное воздействие.

Содержание коллагена в миокарде ЛЖ повышается с 1-х суток от начала эксперимента, а в правом — с 5-х (рис. 3.8).

По-видимому, усиление синтеза коллагена представляет собой одну из ранних защитных реакций сердечной мышцы на повреждение, направленную на повышение прочности миокарда. Можно предположить, что гипоксия является более мощным стимулом для развития фиброза, нежели перегрузка, в связи с этим в ЛЖ усиление синтеза коллагена начинается раньше, чем в ПЖ. Также следует допустить, что развивающаяся в ЛЖ диастолическая дисфункция (см. п. 3.2.1) может быть обусловлена увеличением содержания коллагена в миокарде.

Признаки воспаления миокарда не характерны ни для ЛЖ, ни для ПЖ.

### 3.4. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИНТЕНСИВНОСТИ АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ОЧАГОВОЙ ИШЕМИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

Как следует из данных, представленных в табл. 3.9, в миокарде ЛЖ наблюдается достоверное снижение общего числа ядер КМЦ к 5-м суткам эксперимента. Количество «свободно лежащих ядер», а также индекс апоптоза не имеют статистически значимого отличия от контроля ни на одном сроке исследования. Таким образом, усиления экстрюзии ядер как механизма апоптоза КМЦ ЛЖ на начальных сроках очаговой ишемии ЛЖ не наблюдается. Однако окончательные выводы об активности апоптотических процессов в миокарде ЛЖ мы сможем сделать лишь на основе анализа результатов, полученных с помощью двух других методик — иммуногистохимической и биохимической.

Таблица 3.9

#### Морфологические показатели, характеризующие интенсивность апоптоза КМЦ ЛЖ при его очаговой ишемии ( $M \pm m$ )

Срок исследования	Ядра, об. %	Свободно лежащие ядра, об. %	Индекс апоптоза
Контроль	1,17±0,21	0,23±0,12	0,08±0,05
1 сутки	0,7±0,19	0,17±0,08	0,07±0,04
3 суток	1,0±0,19	0,07±0,05	0,03±0,02
5 суток	0,53±0,13	0,17±0,07	0,13±0,06

В табл. 3.10 приведены аналогичные данные по ПЖ. Общее количество ядер и число свободно лежащих ядер не имеет достоверного отличия от контрольной группы ни на одном сроке эксперимента. Однако индекс апоптоза в ПЖ достоверно увеличивается к концу первых суток процесса, а затем снижается практически до уровня контроля. По-видимому, немедленной реакцией ПЖ на перегрузку, вызванную ослаблением сократительной функции ЛЖ в результате его очаговой ишемии, является незначительное усиление апоптоза КМЦ, но несколько позже происходит включение определенных адаптационных механизмов, снижающих его интенсивность.

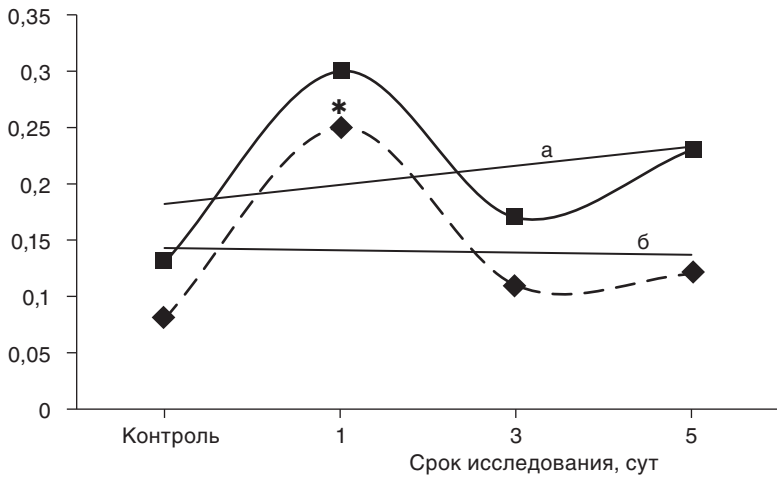
Если оценивать динамику изменения содержания свободно лежащих ядер и индекса апоптоза для процесса в целом (рис. 3.9), то можно сказать, что, как и в ЛЖ, механизм экстрюзии ядер КМЦ в миокарде ПЖ выражен незначительно.

Таблица 3.10

**Морфологические показатели, характеризующие интенсивность апоптоза КМЦ ПЖ при очаговой ишемии ЛЖ ( $M \pm m$ )**

Срок исследования	Ядра, об. %	Свободно лежащие ядра, об. %	Индекс апоптоза
Контроль	1,33±0,2	0,13±0,06	0,08±0,04
1 сутки	1,27±0,18	0,3±0,09	0,25±0,07*
3 суток	0,77±0,14	0,17±0,07	0,11±0,05
5 суток	1,0±0,17	0,23±0,11	0,12±0,05

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

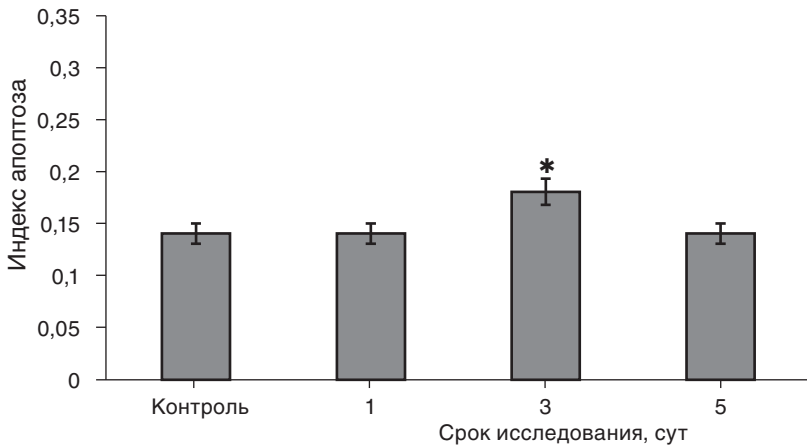


**Рис. 3.9.** Морфометрические показатели, характеризующие апоптоз КМЦ в миокарде ПЖ при очаговом ишемическом повреждении ЛЖ. Сплошная линия — содержание свободно лежащих ядер (об. %), прерывистая линия — индекс апоптоза; а, б — линии тренда для содержания свободно лежащих ядер и индекса апоптоза соответственно; \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

### 3.5. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ОЧАГОВОЙ ИШЕМИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

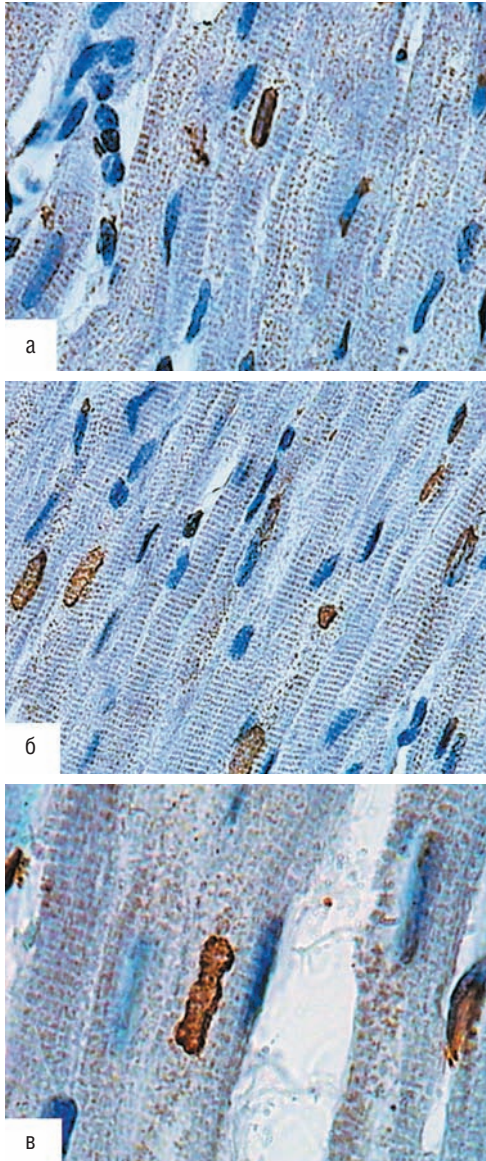
#### 3.5.1. РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ TUNEL В МИОКАРДЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

В контрольной группе в миокарде ЛЖ TUNEL-позитивные ядра КМЦ определяются в незначительном количестве (см. цветную вклейку, рис. 3.10 а). Индекс апоптоза составляет 0,14. На 1-е сутки от начала эксперимента данный показатель остается без изменений. Однако на 3-и сутки число положительно окрашенных ядер КМЦ существенно нарастает (см. цветную вклейку, рис. 3.10 б, в). При этом отмечается достоверное увеличение индекса апоптоза (рис. 3.11). К 5-м суткам исследования индекс апоптоза возвращается на уровень контроля.



**Рис. 3.11.** Индекс апоптоза в миокарде пренекротической зоны ЛЖ (отношение числа TUNEL-позитивных ядер к общему количеству ядер). Планки погрешностей — ошибки среднего (%), \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

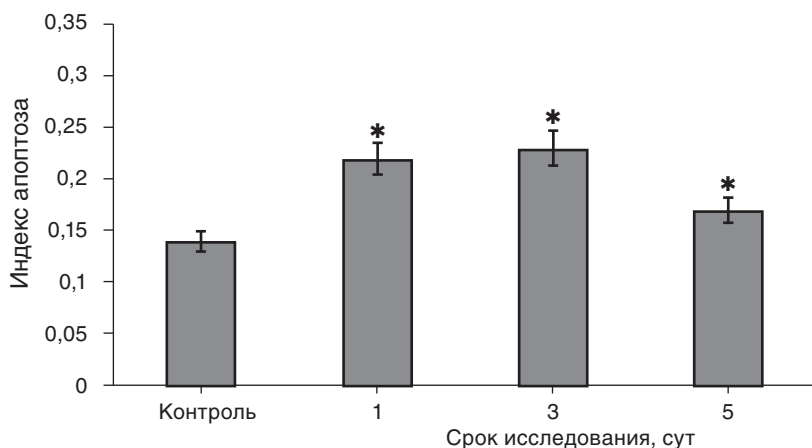
Таким образом, по данным иммуногистохимического исследования в пренекротической зоне ЛЖ увеличивается интенсивность апоптоза КМЦ лишь на 3-и сутки.



**Рис. 3.10.** Иммуногистохимическая реакция на фрагментированную ДНК в миокарде левого желудочка сердца: а — контроль; б, в — 3 суток от начала очаговой ишемии ЛЖ. Докрашивание гематоксилином. TUNEL-позитивные ядра кардиомиоцитов имеют коричневую окраску. Ув.  $\times 400$  (а, б),  $\times 1000$  (в)

### 3.5.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ TUNEL В МИОКАРДЕ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА

Как и в ЛЖ, в контрольной группе обнаруживается небольшое количество TUNEL-позитивных ядер КМЦ. Индекс апоптоза составляет также 0,14. Однако уже на 1-е сутки происходит увеличение количества положительно окрашенных ядер. Достоверно повышается индекс апоптоза (рис. 3.12). На 3-и сутки интенсивность апоптотических процессов практически не отличается от предыдущего срока. К 5-м суткам исследования отмечается снижение индекса апоптоза, но при этом он продолжает оставаться достоверно выше контрольного уровня.



**Рис. 3.12.** Индекс апоптоза в миокарде ПЖ при очаговой ишемии ЛЖ (отношение числа TUNEL-позитивных ядер к общему количеству ядер). Планки погрешностей — ошибки среднего (%), \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

Таким образом, при ишемическом повреждении ЛЖ апоптотические процессы в ПЖ начинают развиваться раньше и характеризуются более высокой интенсивностью.

## 3.6. БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ОЧАГОВОЙ ИШЕМИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

### 3.6.1. АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ КАСПАЗНОГО КАСКАДА В МИОКАРДЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

В табл. 3.11 приведены результаты определения активности каспазы-3 и каспазы-8 в миокарде ЛЖ.

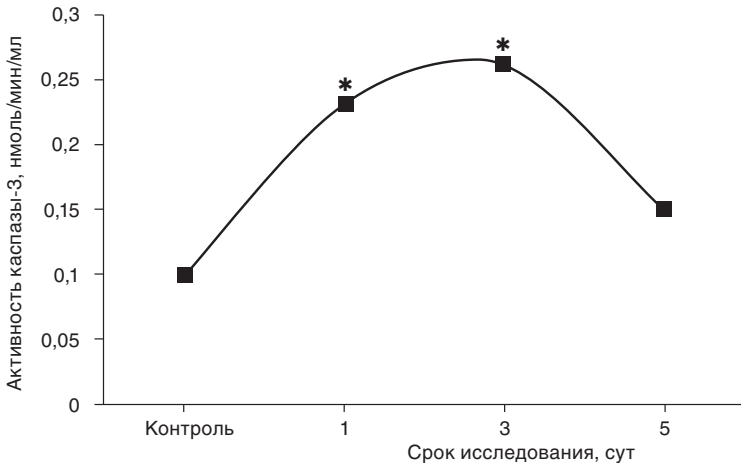
Таблица 3.11

**Активность каспаз в миокарде левого желудочка при его очаговом ишемическом повреждении ( $M \pm m$ )**

Показатель	Контроль	1 сутки	3 суток	5 суток
Каспаза-3, нмоль/мин/мл	0,1±0,01	0,23±0,03*	0,26±0,04*	0,15±0,04
Каспаза-8, нмоль/мин/мл	0,19±0,05	Не определяли	0,27±0,04	Не определяли

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

К концу 1-х суток эксперимента в миокарде ЛЖ достоверно увеличивается активность каспазы-3. На 3-и сутки данный показатель становится еще выше, достигая максимума, а на 5-е сутки практически возвращается к контрольному значению (рис. 3.13).

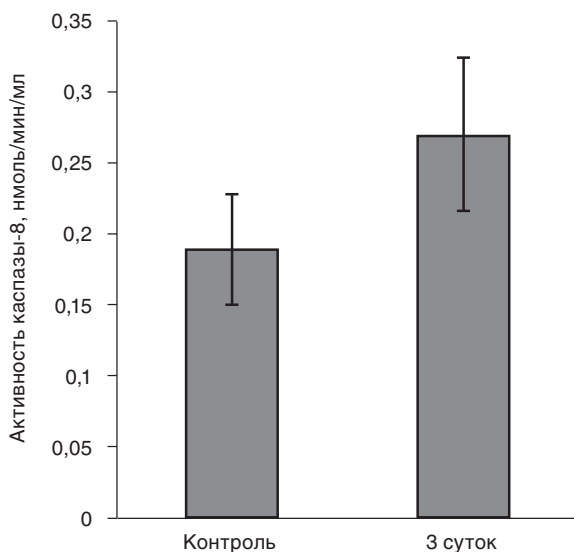


**Рис. 3.13.** Динамика активности каспазы-3 в миокарде левого желудочка при его острой очаговой ишемии, \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой



Полученные данные указывают на активизацию ферментных механизмов, ответственных за апоптоз, в миокарде ЛЖ в острый период его ишемического повреждения.

Активность каспазы-8, которая определялась на 3-и сутки исследования, имеет лишь тенденцию к увеличению, но достоверно от контроля не отличается (рис. 3.14).



**Рис. 3.14.** Активность каспазы-8 в миокарде левого желудочка в контроле и через 3 суток от начала его острого ишемического повреждения. Планки погрешностей — ошибки среднего (%)

Таким образом, индукция каспазного каскада при ишемии ЛЖ осуществляется, по-видимому, только по внутреннему (митохондриальному) пути и не зависит от внешних механизмов сигнальной трансдукции, опосредованных мембранными рецепторами смерти.

### **3.6.2. АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ КАСПАЗНОГО КАСКАДА В МИОКАРДЕ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

Результаты оценки активности каспазы-3 и каспазы-8 в миокарде ПЖ представлены в табл. 3.12.

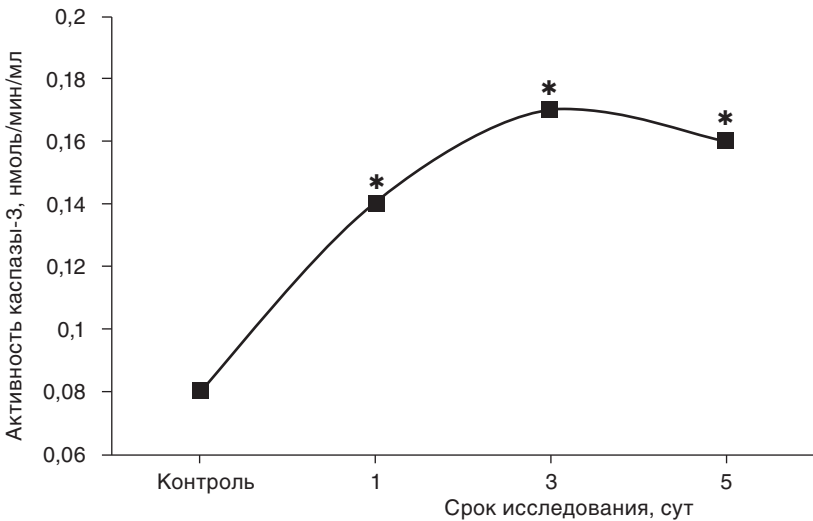
В миокарде ПЖ сердца при очаговой ишемии ЛЖ также отмечается достоверное повышение активности каспазы-3, причем на всех трех сроках эксперимента (рис. 3.15).

Таблица 3.12

**Активность каспаз в миокарде правого желудочка при его очаговом ишемическом повреждении ( $M \pm m$ )**

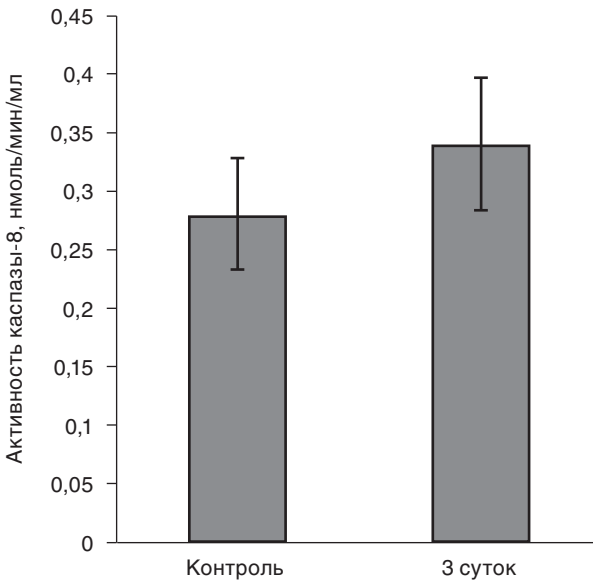
Показатель	Контроль	1 сутки	3 суток	5 суток
Каспаза-3, нмоль/мин/мл	0,08±0,01	0,14±0,02*	0,17±0,03*	0,16±0,02*
Каспаза-8, нмоль/мин/мл	0,28±0,06	Не определяли	0,34±0,04	Не определяли

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .



**Рис. 3.15.** Динамика активности каспазы-3 в миокарде правого желудочка при очаговой ишемии левого желудочка, \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

Как и в ЛЖ, активность каспазы-8 в миокарде ПЖ на 3-и сутки исследования не имеет статистически достоверного отличия от контрольного значения (рис. 3.16), что опять же свидетельствует о реализации механизмов апоптоза клеток миокарда лишь по внутреннему сигнальному пути.



**Рис. 3.16.** Активность каспазы-8 в миокарде правого желудочка в контроле и через 3 суток от начала ишемического повреждения левого желудочка. Планки погрешностей — ошибки среднего (%)

### **3.7. О ВОЗМОЖНЫХ МЕХАНИЗМАХ ИНДУКЦИИ АПОПТОЗА КМЦ ПРИ ОЧАГОВОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

При очаговой ишемии ЛЖ, как показали результаты настоящего исследования, в пренекротической зоне ЛЖ наблюдается повышение активности каспазы-3 в миокарде обоих желудочков сердца. Активность каспазы-8 не отличается достоверно от контроля ни в ЛЖ, ни в ПЖ, хотя в ЛЖ на 3-и сутки эксперимента незначительная тенденция к увеличению данного показателя все-таки существует. При этом в ЛЖ деструкции миофибрилл практически не наблюдается, а в миокарде ПЖ имеются признаки умеренного повреждения. Напомним также, что воспалительные явления не характерны ни для ЛЖ, ни для ПЖ. Можно допустить, что в исследованной нами макроскопически неизменной области миокарда ЛЖ происходит генерация некоторых цитокинов до субвоспалительного уровня, что сопровождается лишь очень незначительной активацией внешнего пути инициации апоптоза.

Согласно данным М. Вујак и соавт. (2008), в процессах постинфарктного ремоделирования участвует ИЛ-1, при дефиците которого снижается инфильтрация ткани нейтрофилами и макрофагами, подавляется продукция других цитокинов и хемокинов, а также уменьшается объем коллагена в миокарде. Кроме того, как уже упоминалось выше, ИЛ-1 обладает проапоптозным действием на КМЦ.

Таким образом, при очаговой ишемии индукция апоптоза КМЦ в большей степени связана с митохондриальным механизмом, но определенную роль рецепторно-опосредованного пути, по-видимому, также не стоит исключать.

Данные корреляционного анализа между функциональными показателями желудочков сердца и активностью каспазы-3 приведены в табл. 3.13.

Таблица 3.13

**Корреляционные связи между показателями сократительной способности и активностью каспазы-3 при очаговой ишемии левого желудочка**

Пары показателей	Козэффициент корреляции
Реальное ВД ЛЖ — активность каспазы-3 в ЛЖ	-0,86
Максимальное ВД ЛЖ — активность каспазы-3 в ЛЖ	-0,86
Реальное ВД ПЖ — активность каспазы-3 в ПЖ	+0,89
Максимальное ВД ПЖ — активность каспазы-3 в ПЖ	+0,65

Между реальным ВД ЛЖ и активностью каспазы-3, а также между максимальным ВД ЛЖ и активностью каспазы-3 в ЛЖ отмечается сильная отрицательная корреляционная связь. Между тем, как и при острой перегрузке ЛЖ, мы не склонны видеть в этих результатах прямую взаимозависимость. По-видимому, снижение сократительной функции ЛЖ и апоптоз КМЦ связаны общим механизмом, в роли которого весьма вероятно может выступать гипоксия ишемизированных КМЦ.

Известно, что выраженный и продолжительный дефицит кислорода в клетках стимулирует митохондриальные механизмы их апоптотической гибели [Greijer A.E. et al., 2004]. В частности, было установлено, что в условиях гипоксии в клетках активизируется фактор HIF-1-alpha (hypoxia inducible factor 1-alpha — фактор, индуцируемый при гипоксии 1-альфа), который стабилизирует проапоптозный белок p53 [Chen D. et al., 2003], а также увеличивает продукцию белков BNIP3 и NIX, связывающих и тем самым подавляющих активность антиапоптозного протеина Bcl-2 [Boyd J.M. et al., 1994; Bruick R.K., 2000; Sowter H.M.

et al., 2001]. Кроме того, гипоксия, нарушая транспорт электронов и протонов по дыхательной цепи, приводит к снижению мембранного потенциала и резкому увеличению проницаемости внутренней мембраны митохондрий. В результате в цитоплазму клетки из митохондрий начинает усиленно поступать цитохром С, который, как известно, является важнейшим внутриклеточным индуктором каспазного каскада [Greijer A.E. et al., 2004].

Также нельзя исключить, по нашему мнению, участие эндотелинового механизма в индукции апоптоза КМЦ при ишемическом повреждении сердечной мышцы. Как показали результаты экспериментального исследования Х.Т. Gan и соавт. (2003), в условиях гипоксии уровень ET-1 в миокарде, а также экспрессия рецепторов к ET [ET(A) и ET (B)] повышаются в 3 раза. При этом, согласно данным Н.П. Мельниковой и соавт. (2004), введение ET-1 новорожденным крысам приводит к достоверному увеличению количества TUNEL-позитивных КМЦ. Кроме того, нарастает транскрипционная активность в жизнеспособных клетках, размер которых значительно превышает норму, что рассматривается авторами в качестве адаптационного ответа на снижение клеточной массы.

Для ПЖ характерна сильная положительная корреляционная связь между реальным ВД ПЖ и активностью каспазы-3 и положительная связь средней силы между максимальным ВД ПЖ и активностью каспазы-3, что выглядит вполне закономерно и свидетельствует об индукции ферментативных механизмов апоптоза вследствие значительной гемодинамической перегрузки ПЖ. Это согласуется с данными ряда авторов, показавших, что апоптоз КМЦ усиливается при повышении нагрузки, падающей на миокард [Condorelli G. et al., 1999; Фролов В.А. и др., 2004; Hang T. et al., 2007]. Несмотря на увеличение интенсивности апоптоза КМЦ ПЖ, на что указывают результаты морфологического, иммуногистохимического и биохимического исследования, показатели реальной и потенциальной работоспособности ПЖ достоверно превышают контрольный уровень на всех сроках эксперимента. Таким образом, появляется дополнительное основание для сомнений относительно прямого влияния апоптоза КМЦ на нарушение сократительной функции сердечной мышцы. Также можно предположить, что при ишемическом повреждении ЛЖ происходит мобилизация резервных возможностей ПЖ, что, вероятно, имеет решающее значение для функционирования сердца в целом в экстремальных для него условиях. Полученные данные согласуются с концепцией Т.А. Казанской и В.А. Фролова (1995) о ведущей регуляторной роли ПЖ в работе сердца.

### 3.8. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя описанные в настоящей главе результаты, остановимся на некоторых явлениях, определяющих основную суть исследованных нами процессов.

Представляется вполне закономерным снижение реальной и максимальной развиваемой сократительной активности, а также нарушение биомеханических свойств ЛЖ на фоне окклюзии одной из ветвей левой коронарной артерии. При этом возникает перегрузка ПЖ, но, в отличие от модели со стенозированием восходящей аорты, снижения его сократительной активности и потенциальной работоспособности не происходит. Можно предположить, что при очаговой ишемии ЛЖ нагрузка на ПЖ менее выражена и не приводит к истощению его энергетических ресурсов.

Наблюдается развитие диастолической дисфункции ЛЖ, начиная уже с 1-х суток его ишемического повреждения, что согласуется с данными морфологического исследования, при котором так же с 1-х суток отмечаются признаки склерозирования миокарда.

Среди других морфологических изменений следует выделить отсутствие выраженной деструкции миокарда ЛЖ при умеренном повреждении ПЖ. С учетом данных по аналогичным показателям, описанным в предыдущей главе, можно сказать, что умеренная ишемия сердечной мышцы (гибернация) не вызывает столь значительной деструкции мышечных элементов, как перегрузочное воздействие. Также вполне ожидаемым выглядело снижение в ЛЖ суммарной площади микрососудов.

Активации механизма экстрюзии ядер КМЦ не наблюдалось в ЛЖ. В миокарде ПЖ он был выражен незначительно и только на 1-е сутки. С другой стороны, согласно данным иммуногистохимического исследования, на тех или иных сроках происходило увеличение количества TUNEL-позитивных ядер КМЦ как в ЛЖ, так и в ПЖ. Кроме того, в обоих желудочках сердца повышалась активность каспазы-3 и не наблюдалось изменение активности каспазы-8. Таким образом, интенсификация апоптотических процессов не вызывает сомнения. При этом следует отметить, что и в ЛЖ, и в ПЖ передача апоптогенного сигнала осуществляется по внутреннему (митохондриальному) пути. Отсутствие на этом фоне экстрюзии ядер свидетельствует о том, что данный механизм можно рассматривать как альтернативный способ апоптотической гибели КМЦ, не зависящий от каспазного каскада.

## **ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ, МОРФО- ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЦА И АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ДИФFUЗНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ МИОКАРДА**

---

---

Как показали результаты экспериментов, описанные в предыдущих главах, острая гемодинамическая перегрузка ЛЖ и очаговая ишемия миокарда приводят в первые несколько суток от начала соответствующего патологического процесса к индукции апоптоза КМЦ на фоне выраженных структурных и функциональных изменений в обоих желудочках.

Диффузная альтерация сердца, независимо от природы конкретного патологического фактора, ее вызывающего, сопровождается, как правило, потерей значительного количества клеток миокарда, что также неизбежно ведет к развитию глубоких нарушений внутрисердечной и системной гемодинамики. Вместе с тем о роли ПКГ КМЦ в патогенезе различных заболеваний, которые можно отнести к данной группе, в современной литературе содержится, пожалуй, наименьшее количество сведений.

Выбор универсальной модели для изучения любых явлений, возникающих в результате диффузных процессов в сердце, представляет собой определенную трудность, поскольку по сравнению с другими видами альтерации в данном случае механизмы нарушений тканевого и клеточного гомеостаза миокарда во многом определяются спецификой конкретного повреждающего агента.

Так, считается, что при ДКМП происходит деструкция КМЦ, во-первых, за счет прямого цитопатического эффекта кардиотропных энтеровирусов [Fujioka S. et al., 2001], а во-вторых, вследствие аутоиммунной агрессии, связанной с антикардиальными антителами [Saforio A.L. et al., 2001; Jahns R. et al., 2008] и сенсibilизированными Т-лимфоцитами [Schwimmbeck P.L. et al., 1996].

Для различных форм ДКМП (идиопатической, постмиокардитической и алкогольной) характерна также активация лизосомальных

и микросомальных ферментов и снижение активности большинства окислительно-восстановительных ферментов в миокарде [Черпаченко Н.М., 1993].

Кардиопатический эффект противоопухолевого препарата доксорубин (Dox) обусловлен в основном нарушением тканевого дыхания в результате повреждения митохондрий КМЦ и развитием оксидативного стресса [Ascensão A. et al., 2005].

Таким образом, для воспроизведения в эксперименте диффузного процесса в миокарде, отражающего в той или иной мере патогенез различных заболеваний, необходимо воздействие на сердце такого фактора, который сочетал бы в себе несколько механизмов. Учитывая, что дифтерийный гистотоксин обладает плеiotропным эффектом на КМЦ<sup>1</sup>, мы посчитали обоснованным его применение для моделирования исследуемого типа поражения сердечной мышцы.

Эксперименты проводились на 20 морских свинках и 68 самцах кроликов породы шиншилла массой тела 3–3,5 кг в четырех параллельных сериях.

На морских свинках проводилось титрование нативного дифтерийного токсина.

У кроликов во всех сериях экспериментов моделировали дифтерийную интоксикацию посредством однократного внутривенного введения нативного дифтерийного токсина в дозе 0,3 DLM/кг массы тела и далее проводили исследования в сроки 1, 3 и 5 суток. Контрольные группы были представлены интактными кроликами.

В первой серии экспериментов изучали функциональное состояние сердечно-сосудистой системы. Каждая группа включала в себя по 5 кроликов.

Во второй серии у двух кроликов из каждой группы исследовали структурные особенности миокарда ЛЖ и ПЖ, а также апоптоз КМЦ с использованием морфологической методики.

В третьей серии проводилось иммуногистохимическое и биохимическое исследование апоптоза КМЦ. Каждая группа была представлена пятью кроликами, однако для биохимического исследования материал брали у всех животных, а для иммуногистохимического — у трех из каждой группы.

В четвертой серии оценивалась интенсивность перекисного окисления липидов в миокарде ЛЖ при дифтерийной интоксикации. Каждая группа включала в себя по 5 животных.

---

<sup>1</sup> Более подробно механизмы действия дифтерийного токсина обсуждаются в главе 6.



## 4.1. ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ СИСТЕМНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПРИ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

### 4.1.1. АНАЛИЗ ЦЕНТРАЛЬНОГО АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ ПРИ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

В табл. 4.1 представлены значения показателей, отражающих уровень центрального АД и свойства пульсовой волны в контроле и на различных сроках дифтерийной интоксикации. К концу 1-х суток после введения дифтерийного токсина происходит достоверное снижение систолического и диастолического АД. На 3-и сутки процесса систолическое давление еще больше снижается, а диастолическое не меняется по сравнению с 1-ми сутками. Через 5 суток происходит незначительное увеличение обоих показателей, однако, они по-прежнему остаются достоверно ниже нормы. Таким образом, в целом для процесса характерно значительное и достоверное снижение как систолического, так и диастолического АД.

Таблица 4.1

**Показатели центрального артериального давления кроликов в контроле и при дифтерийной интоксикации ( $M \pm m$ )**

Показатель	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Систолическое АД, мм рт.ст.	142,8±1,8	124,4±3,7*	116,8±0,6*	131,8±3,3*
Диастолическое АД, мм рт.ст.	119,4±1,4	105,6±3,5*	105,2±0,5*	110,2±3,0*
ВО, мм рт.ст.	130,4±1,6	115,2±3,8*	111,2±0,4*	121,3±3,2*
ВПВО, мсек	40,2±1,3	36,4±1,6	39,2±1,1	39,7±2,8
ВРПВ, мсек	107,9±2,1	109,4±2,8	116,5±3,4*	117,6±3,8*

*Примечание:* ВО — амплитуда волны отражения, ВПВО — время появления пульсовой волны; звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

### 4.1.2. АНАЛИЗ ПУЛЬСОВОЙ ВОЛНЫ

Установлено, что амплитуда волны отражения меняется аналогично динамике систолического и диастолического давления и на всех сроках исследования остается ниже контрольного значения.

Время появления волны отражения не меняется ни в одном из исследованных сроков.

ВРПВ достоверно увеличивается к 3-м суткам процесса и остается на данном уровне вплоть до 5-х суток.

Таким образом, ВРПВ в динамике процесса увеличивается, что могло бы свидетельствовать о снижении жесткости артериальной стенки центральных сосудов. Однако при этом время прихода волны отражения не меняется, в связи с этим следует предположить, что замедление пульсовой волны не связано с изменением свойств сосудистой стенки и скорее обусловлено удлинением ударной волны вследствие значительного снижения сократительной силы ЛЖ.

Уменьшение амплитуды волны отражения также, вероятно, связано со снижением амплитуды ударной волны.

На основании проведенного анализа можно сделать следующий вывод. При дифтерийной интоксикации кроликов происходит снижение центрального АД в связи с нарушением биомеханических характеристик ЛЖ. Значительного изменения упруго-эластических свойств центральных артерий под действием дифтерийного токсина, по-видимому, не происходит.

## **4.2. ВЛИЯНИЕ ДИФУЗНОГО ПОРАЖЕНИЯ МИОКАРДА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЦА**

### **4.2.1. ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА ПРИ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**

В табл. 4.2 приведены значения показателей, характеризующих функциональную активность ЛЖ в контроле и на различных сроках дифтерийной интоксикации.

Полученные данные свидетельствуют о следующем. В процессе развития дифтерийной интоксикации, судя по величине давления, измерявшегося в полости ЛЖ в условиях реальной гемодинамики и при полной 5-секундной окклюзии восходящей аорты, происходило выраженное снижение сократительной силы ЛЖ. Так, в 1-е сутки наблюдения отмечалось достоверное снижение реального и максимального ВД ЛЖ соответственно на 20 и 23%. На 3-и сутки исследования реальное ВД ЛЖ оставалось на уровне предыдущего срока, а максимальное ВД ЛЖ продолжало снижаться, достигая максимально низкого значения (падение на 37% по сравнению с контролем). К 5-м суткам исследования реальное ВД ЛЖ увеличивалось по сравнению с двумя предыдущими сроками, но, тем не менее, оставалось достоверно ниже нормы.

Таблица 4.2

**Показатели функциональной активности левого желудочка сердца кроликов в контроле и при дифтерийной интоксикации ( $M \pm m$ )**

Показатель	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Реальное ВД ЛЖ, мм рт.ст.	139,6±1,3	113,7±1,5*	114,2±1,7*	123,4±2,1*
Максимальное ВД ЛЖ, мм рт.ст.	231,4±6,5	178,3±4,7*	146,3±3,2*	187,3±4,4*
ФР	1,66	0,98	0,66	1,09
$\eta$ , %	100	59	40	66
КДД ЛЖ, мм рт.ст.	5,6±0,4	4,9±0,5	6,2±0,9	5,9±0,4

*Примечание:* для ФР и  $\eta$  не указаны погрешности, поскольку данные коэффициенты рассчитывались по средним значениям реального и максимального ВД в соответствующих группах исследования; звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .

Максимальное ВД ЛЖ также увеличивалось относительно 3-х суток, но контрольного уровня не достигало.

Значения ФР и  $\eta$  были резко снижены по сравнению с контролем во все исследованные сроки, но минимального уровня достигали опять же на 3-и сутки эксперимента.

Таким образом, на 3-и сутки от начала дифтерийной интоксикации наблюдается наиболее глубокое угнетение, как реальной сократительной активности, так и потенциальной работоспособности ЛЖ.

КДД ЛЖ не имело статистически значимого отличия от контрольной группы ни на одном из сроков эксперимента, что указывает на отсутствие диастолической дисфункции ЛЖ на ранних сроках его дифтерийного поражения.

#### **4.2.2. ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА ПРИ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**

Результаты исследования функциональной активности ПЖ в контроле и при дифтерийной интоксикации приведены в табл. 4.3.

Согласно полученным данным, в 1-е сутки происходит достоверное уменьшение реального и максимального ВД ПЖ. Однако, в отличие от ЛЖ, дальнейшего снижения реального ВД не наблюдается. До 3-х суток данный показатель остается практически неизменным. Максимальное ВД ПЖ на 3-и сутки продолжает снижаться и достигает минимального

Таблица 4.3

**Показатели функциональной активности правого желудочка сердца кроликов в контроле и при дифтерийной интоксикации ( $M \pm m$ )**

Показатель	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Реальное ВД ПЖ, мм рт.ст.	36,4±1,2	28,7±0,7*	29,7±0,8*	33,9±1,0
Максимальное ВД ПЖ, мм рт.ст.	53,5±1,8	41,9±1,3*	35,4±1,0*	51,4±2,2
ФР	1,47	0,9	0,64	1,36
$\eta$ , %	100	61	44	92
КДД ЛЖ, мм рт.ст.	2,7±0,3	3,2±0,2	3,3±0,2	2,9±0,4

*Примечание:* для ФР и  $\eta$  не указаны погрешности, поскольку данные коэффициенты рассчитывались по средним значениям реального и максимального ВД в соответствующих группах исследования; звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .

за все время эксперимента уровня. К 5-м суткам как реальное, так и максимальное ВД ПЖ возвращаются практически к исходному значению и уже достоверно от контроля не отличаются.

Как и в ЛЖ, расчетные показатели, отражающие ФР и потенциальную работоспособность миокарда (ФР и  $\eta$ ), значительно снижаются в ПЖ и достигают минимального значения к 3-м суткам. Однако на 5-е сутки отмечается более полноценное их восстановление по сравнению с ЛЖ.

КДД ПЖ остается в пределах контрольного значения на всех сроках исследования.

### **4.3. ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МИОКАРДА ПРИ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**

#### **4.3.1. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

При световой микроскопии полутонких срезов миокарда ЛЖ в контрольной группе обнаружено следующее. Миофибриллы лежат параллельно друг другу, имеют четко просматриваемую поперечную исчерченность. Внеклеточный отек отмечается местами и выражен слабо. Внутриклеточного отека нет. Ядра находятся внутри клеток, границы их ровные, кариоплазма гомогенна. Уплотнений или сегрега-

ции хроматина не выявлено. Ядра имеют приблизительно одинаковую величину. Делящихся ядер мало. В центре каждого ядра находится по 1–2 ядрышка с плотной структурой и ровными краями. В очень небольшом количестве встречаются «свободно лежащие ядра», которые, как правило, находятся в межклеточном пространстве в местах резкого разрежения цитоплазмы. Коллаген в умеренном количестве, лежит в основном тонкими прослойками между мышечными волокнами, а также по периферии от кровеносных сосудов. Участков отложения большого количества коллагена не выявляется. Явлений клеточной инфильтрации миокарда не обнаружено. Участки деструкции миофибрилл встречаются крайне редко.

На 1-е сутки дифтерийной интоксикации по сравнению с контролем миокард ЛЖ выглядит более рыхлым, а многие миофибриллы имеют гомогенную структуру. Поперечная исчерченность выражена менее резко. Во некоторых полях зрения встречаются участки с нарушенной ориентировкой или даже хаотичным расположением мышечных волокон. Местами появляются участки деструкции миокарда. Ядра в основном сохраняют структурную целостность, однако границы просматриваются менее четко, что может свидетельствовать о повреждении их мембраны.

По данным морфометрического анализа (табл. 4.4), по сравнению с контрольной группой происходит достоверное уменьшение количества мышечных волокон. Достоверно возрастает площадь участков деструкции миокарда. Следует предположить, что снижение массы мышечных волокон происходит за счет некротической гибели КМЦ. Содержание коллагена достоверно снижается. Суммарная площадь просвета микрососудов достоверно увеличивается, что связано, по-видимому, с расширением артериол и капилляров вследствие воспалительной реакции. Отмечается тенденция к расширению объема внеклеточного пространства, что указывает на развитие внеклеточного отека. Экссудат во внеклеточных пространствах мутный и содержит небольшое количество лимфоцитов и макрофагов.

На 3-и сутки от начала дифтерийной интоксикации миокард ЛЖ гомогенен. Миофибриллы по-прежнему имеют четкие границы. Нарастает внутриклеточный отек, который преобладает над интерстициальным. В состоянии внутриклеточного отека в большей или меньшей степени находятся все мышечные волокна. Ядер немного, они довольно крупные и имеют хорошо просматриваемую мембрану и ядрышки. Хроматин равномерно распределен по всему объему ядер. В некоторых ядрах отмечается конденсация хроматина. «Свободно лежащие ядра» встречаются несколько чаще, чем в контрольной группе.

Таблица 4.4

**Сравнительные данные морфометрии полутонких срезов миокарда левого желудочка в контроле, через 1, 3 и 5 суток от начала дифтерийной интоксикации (об. %,  $M \pm m$ )**

Срок исследования	Мышечные волокна	Коллаген	Сосуды	Участки деструкции	Внеклеточные пространства
Контроль	69,0±2,0	7,67±1,29	1,83±0,63	1,7±0,36	18,27±2,57
1 сутки	61,6±2,4*	4,2±0,79*	5,6±1,05*	3,47±0,6*	23,83±1,82
3 суток	73,1±1,7	3,43±0,73*	1,5±0,46	4,27±0,5*	16,6±1,64
5 суток	69,9±2,9	2,57±0,56*	0,8±0,29	7,0±0,86*	18,67±2,41

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

Коллагена мало, он лежит тонкими прослойками между миофибриллами. Просвет многих сосудов резко уменьшен по причине их сдавления извне, что, по-видимому, является следствием внутриклеточного отека (см. цветную вклейку, рис. 4.1).

Согласно результатам морфометрического исследования миокарда ПЖ (табл. 4.5), на 3-и сутки дифтерийной интоксикации, достоверно увеличивается по сравнению с первыми сутками доля мышечных волокон, что можно связать с их значительным утолщением в результате резкого нарастания внутриклеточного отека. При этом, как было указано выше, многие сосуды сдавлены извне, за счет чего, по-видимому, их суммарный просвет достоверно уменьшается, возвращаясь практически к контрольному значению. Содержание коллагена продолжает снижаться, а степень деструкции миофибрилл, напротив, увеличивается.

На 5-е сутки дифтерийной интоксикации для миокарда ЛЖ характерно следующее. Выражено нарушение пространственной ориентации миофибрилл. По сравнению с предыдущими сроками исследования границы клеток определяются менее четко, контуры их неровные, что свидетельствует о повреждении плазмалеммы. Участки мышечных волокон с нормальной толщиной чередуются с местами, где отмечается крайняя степень их истощения. Во многих полях зрения границы КМЦ плохо визуализируются. На значительной площади миокард производит впечатление сплошного конгломерата с трудно различимой внутриклеточной структурой (см. цветную вклейку, рис. 4.2 а). Наблюдается значительное количество поперечных разрывов миофибрилл. Коллагена мало. Многие микрососуды по-прежнему находятся

в спавшемся состоянии. Увеличивается количество «свободно лежащих ядер» (см. цветную вклейку, рис. 4.2 б).

По данным морфометрии (см. табл. 4.5), по сравнению с предыдущим сроком происходит дальнейшее увеличение степени деструкции миофибрилл и продолжается снижение количества коллагена в миокарде. Также отмечается тенденция к снижению суммарной площади сосудов микроциркуляторного русла. Объем внеклеточного пространства остается на прежнем уровне.

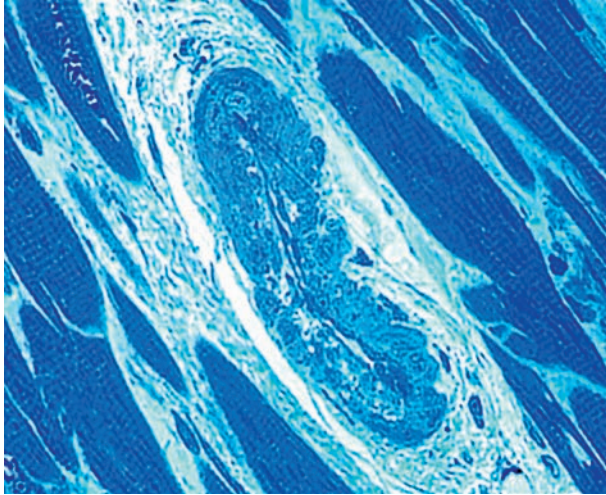
Для поиска возможных взаимосвязей между различными показателями, отражающими морфологическое состояние миокарда ЛЖ, был проведен корреляционный анализ (см. табл. 4.5).

Таблица 4.5

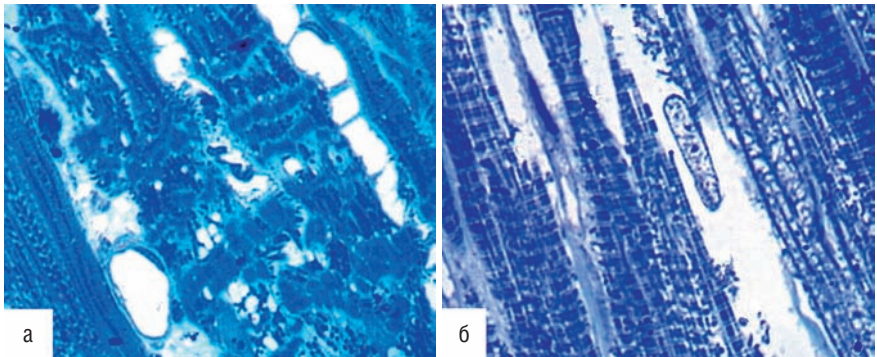
**Корреляционные связи между некоторыми морфометрическими показателями левого желудочка в норме и на различных сроках дифтерийной интоксикации**

Пары показателей	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Мышечные волокна – коллаген	+0,11	-0,54	-0,36	-0,48
Мышечные волокна – сосуды	-0,18	-0,38	-0,07	+0,06
Мышечные волокна – участки деструкции	+0,26	-0,41	-0,06	-0,50
Мышечные волокна – внеклеточные пространства	-0,83	-0,76	+0,12	-0,93
Коллаген – сосуды	-0,20	+0,27	-0,12	-0,38

В контрольной группе и на всех сроках, кроме 3-х суток, существует сильная отрицательная корреляционная связь между показателями площади мышечных волокон и объема внеклеточного пространства, что позволяет говорить о преимущественном влиянии интерстициального отека на относительное содержание миофибрилл в миокарде. Отсутствие связи в паре «мышечные волокна – внеклеточные пространства» на 3-и сутки, по-видимому, связано с тем, что на данном сроке внутриклеточный отек достигает максимальной степени, в результате чего отмечается даже тенденция к увеличению по сравнению с контролем площади миофибрилл. На 5-е сутки, когда внеклеточный отек начинает преобладать над внутриклеточным, отрицательная связь в данной паре приобретает максимальную силу ( $\rho = -0,93$ ). К 5-м суткам появляется отрицательная связь средней силы между показателями площади миофибрилл и площади участков деструкции. Однако, учитывая, что значение площади миофибрилл на этом сроке практически не



**Рис. 4.1.** Полутонкий срез миокарда левого желудочка сердца. 3 суток от начала дифтерийной интоксикации. Сдавление кровеносного сосуда отеком. Окраска по P. Anthoni et al. Ув.  $\times 400$



**Рис. 4.2.** Полутонкий срез миокарда левого желудочка сердца. 5 суток от начала дифтерийной интоксикации: а – участок массивной деструкции миокарда; б – свободно лежащее ядро. Окраска по P. Anthoni et al. Ув.  $\times 1000$



отличается от контроля, судить о том, насколько закономерно появление данной связи, довольно затруднительно.

### **4.3.2. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА МИОКАРДА ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

При световой микроскопии полутонких срезов миокарда ПЖ в контрольной группе обнаружено следующее. Миокард в целом имеет четкую структуру. Миофибриллы лежат параллельно друг другу. Внеклеточный отек встречается лишь в отдельных полях зрения. Внутриклеточного отека нет. Ядра имеют четкие границы. Хроматин в основном равномерно распределен по всему объему ядер, явления маргинации хроматина не выявлено. Ядрышки четкие, расположены по 1–2 в центре каждого ядра. Свободно лежащие ядра встречаются редко. Коллагена довольно много. Волокна коллагена упакованы в плотные волнообразные структуры, залегающие в виде широких пластов между миофибриллами. В участках скопления коллагена обнаруживаются фибробласты. В отдельных полях зрения встречаются единичные участки деструкции миофибрилл.

Через сутки от начала дифтерийной интоксикации цитоплазма выглядит более гомогенной по сравнению с контрольной группой. Поперечная исчерченность просматривается не очень четко. Ядер не много, границы их, как и в ЛЖ, несколько размыты. Интерстициальный отек не выражен. Внутриклеточный отек встречается в отдельных полях зрения. Иногда обнаруживаются участки с нарушенной пространственной ориентацией миофибрилл. Некоторые мышечные волокна имеют значительно меньшую толщину по сравнению с соседними.

По данным морфометрического анализа (табл. 4.6), площадь мышечных волокон практически не меняется. Наблюдается выраженная тенденция к снижению количества коллагена. Достоверно увеличивается площадь участков деструкции. Таким образом, можно сказать, что под действием дифтерийного токсина на 1-е сутки происходит повреждение миокарда ПЖ, но в целом архитектоника ткани меняется в меньшей степени, чем в ЛЖ в тот же срок.

На 3-и сутки от начала исследования миокард ПЖ плотный. Отмечается умеренная гомогенность мышечных волокон: местами внутриклеточные структуры размыты и плохо идентифицируются. Границы миофибрилл четкие. Многие мышечные волокна находятся в состоянии выраженного внутриклеточного отека. Нередко миофибриллы хаотически ориентированы в пространстве. Иногда встречаются участки пересокращения миофибрилл. Внеклеточный отек не выражен. В межклеточных пространствах обнаруживаются различные

Таблица 4.6

**Сравнительные данные морфометрии полутонких срезов миокарда  
правого желудочка в контроле, через 1, 3 и 5 суток от начала дифтерийной  
интоксикации (об. %,  $M \pm m$ )**

Срок исследования	Мышечные волокна	Коллаген	Сосуды	Участки деструкции	Внеклеточные пространства
Контроль	60,63±2,8	12,47±1,61	3,17±1,0	1,03±0,26	20,97±1,94
1 сутки	61,83±1,9	9,2±1,6	3,3±0,6	3,5±0,54*	21,53±1,97
3 суток	63,83±1,9	4,6±1,2*	4,5±0,65	4,87±0,8*	20,03±1,95
5 суток	54,67±2,2	3,97±0,74*	2,57±0,8	14,5±1,3*	22,77±2,33

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .

аморфные бесструктурные образования, что косвенно указывает на некротическую гибель клеток миокарда. Ядер много, некоторые из них лежат в местах значительного разрежения цитоплазмы.

Результаты морфометрического исследования (см. табл. 4.6) свидетельствуют о следующем. Площадь миофибрилл сохраняется на уровне предыдущего срока. Значительно увеличивается площадь участков повреждения миокарда. Содержание коллагена становится достоверно ниже по сравнению с контрольной группой. Объем внеклеточного пространства и суммарная площадь микрососудов практически не меняются.

На 5-е сутки эксперимента миокард ПЖ рыхлый. Миофибриллы теряют четкую пространственную ориентацию в большинстве полей зрения. Контур мышечных волокон нечеткие и неровные. Внутренняя структура клеток гомогенна, а поперечная исчерченность ясно визуализируется лишь в отдельных участках миокарда. Резко возрастает число участков пересокращения миофибрилл. Сохраняется внутриклеточный отек. Также увеличивается степень деструкции ткани. Внеклеточный отек не выражен. Коллагена и фибробластов мало, что свидетельствует о низкой активности реактивного склерозирования миокарда. В целом архитектоника миокарда ПЖ значительно нарушена. Значительно увеличивается по сравнению с контролем и с предыдущими сроками исследования число свободно лежащих ядер.

При оценке состояния миокарда ПЖ с помощью морфометрической методики (см. табл. 4.6) были обнаружены следующие особенности. По сравнению с 3-ми сутками отмечается достоверное снижение доли мышечных волокон (хотя относительно контрольной группы

это снижение носит характер выраженной тенденции). Резко увеличивается площадь деструкции миофибрилл. Количество коллагена не имеет статистически значимого отличия от предыдущего срока. Также практически не меняется суммарная площадь просвета микрососудов и объемная доля внеклеточных пространств.

При проведении корреляционного анализа между различными морфологическими показателями ПЖ были получены следующие результаты (табл. 4.7).

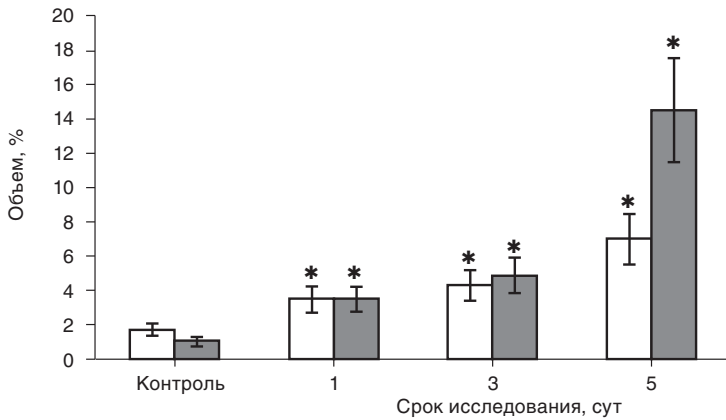
Таблица 4.7

**Корреляционные связи между некоторыми морфометрическими показателями правого желудочка в норме и на различных сроках дифтерийной интоксикации**

Пары показателей	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Мышечные волокна – коллаген	-0,78	-0,50	-0,16	-0,26
Мышечные волокна – сосуды	-0,22	-0,14	-0,29	+0,16
Мышечные волокна – участки деструкции	-0,10	-0,29	-0,22	-0,28
Мышечные волокна – внеклеточные пространства	-0,68	-0,46	-0,73	-0,78
Коллаген – сосуды	+0,08	+0,42	+0,16	-0,20

Между площадью мышечных волокон и объемной долей внеклеточного пространства отмечаются отрицательные корреляционные связи в контроле, а также на 3-и и 5-е сутки исследования. Однако достоверных изменений показателей, составляющих данную корреляционную пару, не наблюдается ни на одном сроке исследования (см. табл. 4.6). При этом, как было указано ранее, степень деструкции миокарда неуклонно нарастает на всем протяжении эксперимента. В этой связи следует предположить, что на фоне потери КМЦ в результате их разрушения происходит компенсация показателя площади миофибрилл за счет выраженного внутриклеточного отека, что и обуславливает видимость неизменного состояния массы миофибрилл ПЖ.

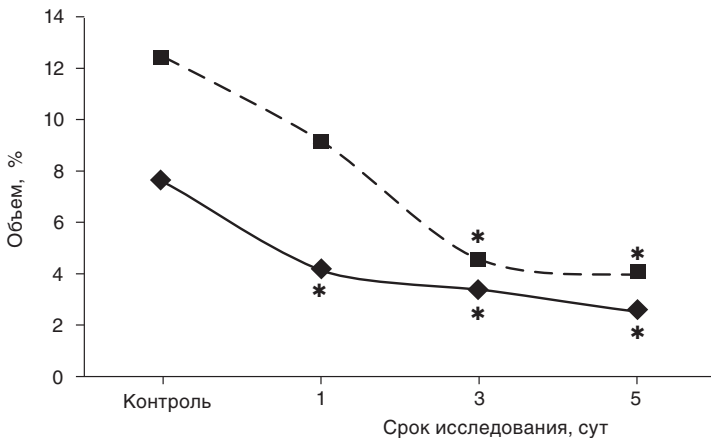
Анализируя изменения морфологического состояния миокарда в целом при дифтерийной интоксикации, следует обратить внимание на две основные особенности. Во-первых, отмечается нарастающее по мере развития патологического процесса увеличение площади деструкции миофибрилл, которое к 5-м суткам достигает более высокой степени в ПЖ (рис. 4.3). Очевидно, что при одной и той же концентрации дифтерийного токсина ПЖ, имеющий значительно меньшую мышеч-



**Рис. 4.3.** Площадь участков деструкции в миокарде левого и правого желудочков при дифтерийной интоксикации. Столбики — средние значения, планки погрешностей — ошибки среднего (в %). Бесцветные столбики — ЛЖ, серые столбики — ПЖ. \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

ную массу по сравнению с ЛЖ, подвергается в конечном итоге более интенсивному повреждающему воздействию.

Во-вторых, в миокарде обоих желудочков сердца снижается содержание коллагена (рис. 4.4), что можно связать с денатурирующим



**Рис. 4.4.** Содержание коллагена в миокарде левого и правого желудочков при дифтерийной интоксикации. Сплошная линия — ЛЖ, прерывистая линия — ПЖ; \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

эффектом дифтерийного токсина, хотя в литературе отсутствуют сведения, подтверждающие данную гипотезу.

#### 4.4. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИНТЕНСИВНОСТИ АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

В миокарде ЛЖ изменений общего количества ядер КМЦ на протяжении исследования практически не происходит (табл. 4.8). На 1-е сутки эксперимента отмечается незначительная тенденция к увеличению числа свободно лежащих ядер и индекса апоптоза. К 3-м суткам тенденция к повышению уровня данных показателей сохраняется, однако, отличие от контрольной группы по-прежнему остается статистически незначимым. К исходу 5-х суток количество свободно лежащих ядер и индекс апоптоза впервые становятся достоверно выше контрольного значения. Полученные данные позволяют говорить о том, что к 5-м суткам дифтерийной интоксикации в миокарде ЛЖ происходит активизация апоптотических процессов, реализуемых за счет механизма экструзии ядер КМЦ. При этом компенсаторной регенерации ядер не наблюдается.

Таблица 4.8

##### Морфологические показатели, характеризующие интенсивность апоптоза КМЦ ЛЖ при дифтерийной интоксикации ( $M \pm m$ )

Срок исследования	Ядра, об. %	Свободно лежащие ядра, об. %	Индекс апоптоза
Контроль	1,40±0,30	0,17±0,10	0,14±0,08
1 сутки	1,27±0,26	0,27±0,11	0,25±0,10
3 суток	1,10±0,27	0,47±0,19	0,41±0,13
5 суток	1,07±0,27	0,70±0,25*	0,50±0,14*

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

В табл. 4.9 представлены значения аналогичных показателей по ПЖ. Как и в ЛЖ, показатель общего числа ядер КМЦ не увеличивается во время дифтерийной интоксикации у кроликов ни на одном из сроков. На 1-е сутки эксперимента остаются практически в пределах контроля как количество свободно лежащих ядер, так и индекс апоптоза. На 3-и сутки наблюдается достоверное увеличение числа свободно лежащих ядер, а также появляется тенденция к повышению индекса апоптоза.

К 5-м суткам исследования количество свободно лежащих ядер еще больше возрастает, а также резко увеличивается и становится достоверно выше контрольного уровня индекс апоптоза. Таким образом, экстррузия ядер как проявление апоптотической активности КМЦ отчетливо выражена при дифтерийной интоксикации и в ПЖ.

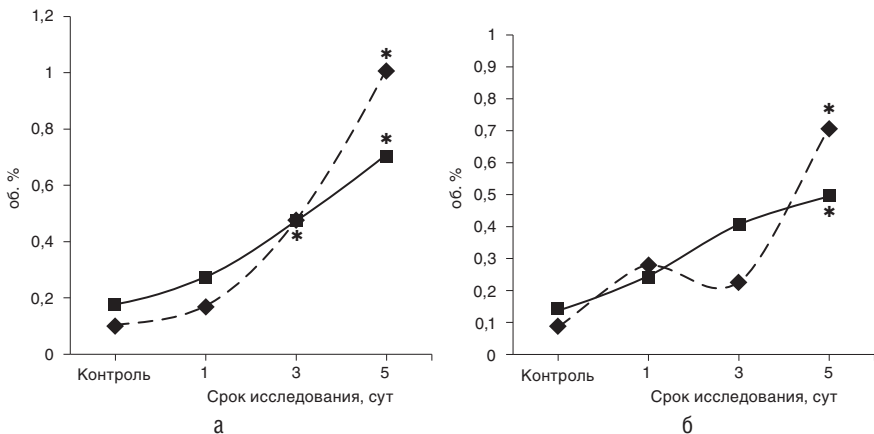
Таблица 4.9

**Морфологические показатели, характеризующие интенсивность апоптоза КМЦ ПЖ при дифтерийной интоксикации (M±m)**

Срок исследования	Ядра, об. %	Свободно лежащие ядра, об. %	Индекс апоптоза
Контроль	1,73±0,32	0,10±0,06	0,09±0,06
1 сутки	0,60±0,20*	0,17±0,11	0,28±0,14
3 суток	2,17±0,28	0,47±0,17*	0,23±0,08
5 суток	1,53±0,29	1,0±0,23*	0,71±0,10*

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

На рис. 4.5 для наглядности представлена динамика изменения морфологических показателей, отражающих апоптотические процессы в миокарде ЛЖ и ПЖ.



**Рис. 4.5.** Морфологические показатели апоптоза кардиомиоцитов миокарда ЛЖ и ПЖ при дифтерийной интоксикации: а — свободно лежащие ядра; б — индекс апоптоза. Сплошная линия — ЛЖ, прерывистая линия — ПЖ. \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

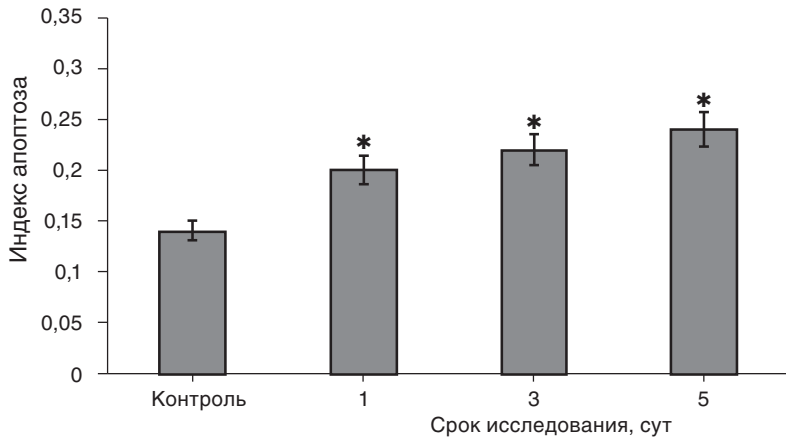
Очевидно, что общая тенденция, заключающаяся в интенсификации механизмов экстррузии ядер КМЦ, выглядит приблизительно одинаковой в обоих желудочках. При этом ни на одном сроке исследования отличия соответствующих показателей ЛЖ и ПЖ не являются достоверными. Указанные особенности позволяют говорить об определенном сходстве в развитии механизмов апоптоза в ЛЖ и ПЖ в ответ на диффузное поражение миокарда.

## 4.5. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

### 4.5.1. РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ TUNEL В МИОКАРДЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

В контрольной группе определяется небольшое количество ядер КМЦ, дающих положительную окраску при иммуногистохимическом исследовании. Индекс апоптоза, как и в предыдущих сериях, равен 0,14.

На 1-е сутки от начала дифтерийной интоксикации отмечается увеличение количества TUNEL-позитивных КМЦ. Индекс апоптоза достоверно повышается по сравнению с контрольной группой, достигая значения 0,2 (рис. 4.6).



**Рис. 4.6.** Индекс апоптоза кардиомиоцитов ЛЖ сердца при дифтерийной интоксикации (отношение числа TUNEL-позитивных ядер к общему количеству ядер). Планки погрешностей — ошибки среднего (%). \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

К 3-м суткам исследования количество положительно окрашенных ядер КМЦ увеличено по сравнению с контролем. Индекс апоптоза остается на уровне 1-х суток.

На 5-е сутки эксперимента количество ядер КМЦ с положительной реакцией на фрагментированную ДНК по-прежнему увеличено. При этом индекс апоптоза становится достоверно выше 1-х суток исследования.

#### 4.5.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ TUNEL В МИОКАРДЕ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА

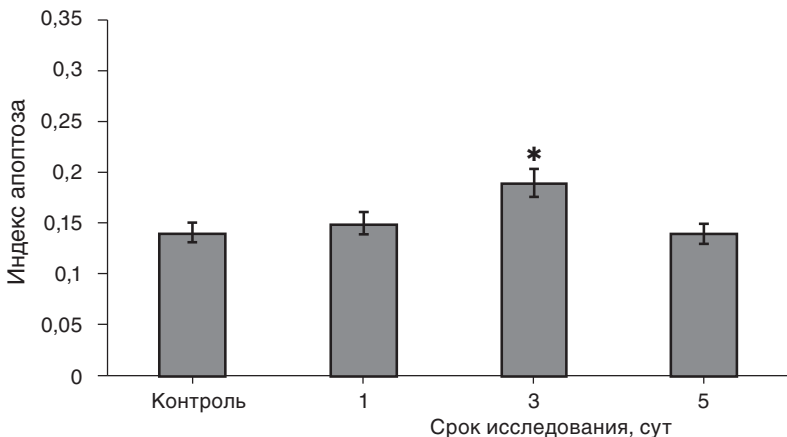
В контрольной группе в миокарде ПЖ количество TUNEL-позитивных ядер КМЦ незначительно. Индекс апоптоза составляет, как и в ЛЖ, 0,14.

На 1-е сутки эксперимента изменения числа TUNEL-позитивных ядер не наблюдается. Индекс апоптоза не имеет статистически значимого отличия от контроля.

На 3-и сутки количество положительно окрашенных ядер увеличивается, отмечается достоверное повышение индекса апоптоза.

К 5-м суткам число TUNEL-позитивных ядер КМЦ заметно уменьшается по сравнению с 3-и сутками дифтерийной интоксикации, а индекс апоптоза возвращается на контрольный уровень (рис. 4.7).

Таким образом, динамика активности апоптотических процессов при токсическом повреждении сердца отличается для ЛЖ и ПЖ.



**Рис. 4.7.** Индекс апоптоза кардиомиоцитов ПЖ сердца при дифтерийной интоксикации (отношение числа TUNEL-позитивных ядер к общему количеству ядер). Планки погрешностей — ошибки среднего (%). \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой



## 4.6. БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

### 4.6.1. АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ КАСПАЗНОГО КАСКАДА В МИОКАРДЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

В табл. 4.10 приведены значения активности каспазы-3 и каспазы-8. Активность каспазы-8 определяли только на том сроке, когда активность каспазы-3 достигала максимального значения.

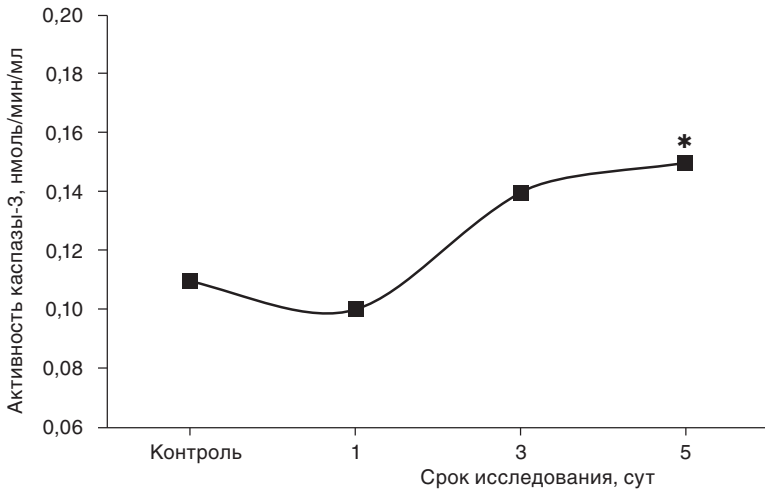
Таблица 4.10

#### Активность каспаз в миокарде левого желудочка при дифтерийной интоксикации ( $M \pm m$ )

Показатель	Контроль	1 сутки	3 суток	5 суток
Каспаза-3, нмоль/мин/мл	0,11±0,01	0,1±0,02	0,14±0,01	0,15±0,01*
Каспаза-8, нмоль/мин/мл	0,61±0,02	Не определяли	Не определяли	0,75±0,1

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

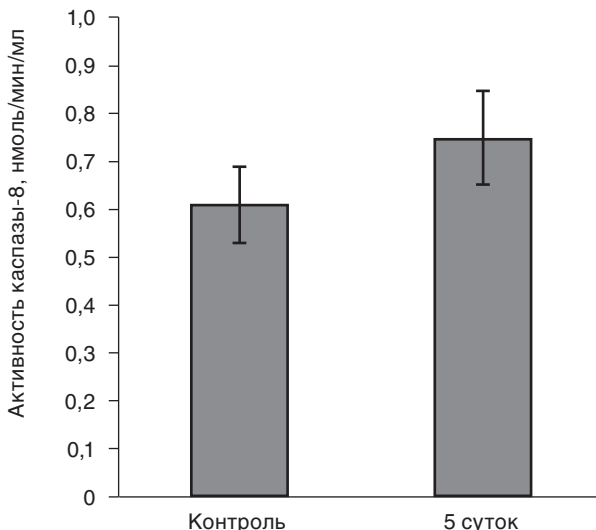
Специфическая активность каспазы-3 в миокарде ЛЖ на 1-е сутки дифтерийной интоксикации остается на уровне контроля (рис. 4.8). К 3-м суткам отмечается выраженная тенденция к увеличению данного



**Рис. 4.8.** Динамика активности каспазы-3 в миокарде левого желудочка при дифтерийной интоксикации. \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

показателя, а на 5-е сутки повышение продолжается и отличие уже становится достоверным.

Увеличение по сравнению с контролем активности каспазы-8 в миокарде ЛЖ на 5-е сутки исследования имеет лишь характер незначительной тенденции (рис. 4.9). В связи с этим следует полагать, что индукция апоптотических процессов в ЛЖ при дифтерийной интоксикации в основном обусловлена трансдукцией стимулирующего сигнала по внутреннему (митохондриальному) пути.



**Рис. 4.9.** Активность каспазы-8 в миокарде левого желудочка в контроле и через 5 суток от начала дифтерийной интоксикации. \* $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

#### 4.6.2. АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ КАСПАЗНОГО КАСКАДА В МИОКАРДЕ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА

Результаты исследования приведены в табл. 4.11.

В отличие от ЛЖ, в миокарде ПЖ достоверного изменения активности каспазы-3 не происходит ни на одном из сроков исследования. В этой связи определение активности каспазы-8 не проводилось. Полученные данные свидетельствуют о том, что молекулярные механизмы, ответственные за апоптотическую гибель клеток миокарда при его диффузном токсическом повреждении, также имеют некоторые особенности в ЛЖ и ПЖ.

Таблица 4.11

**Активность каспаз в миокарде левого желудочка при дифтерийной интоксикации ( $M \pm m$ )**

Показатель	Контроль	1 сутки	3 суток	5 суток
Каспаза-3, нмоль/ мин/мл	0,09±0,02	0,1±0,02	0,11±0,04	0,08±0,02
Каспаза-8, нмоль/ мин/мл	Не определяли	Не определяли	Не определяли	Не определяли

#### **4.7. ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МИОКАРДЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА ПРИ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**

Исходя из результатов, описанных в предыдущем подразделе настоящей главы (п. 4.6.2) можно предположить, что дифтерийный токсин вызывает индукцию апоптотических процессов в КМЦ не в результате прямой активации внутриклеточных медиаторов апоптоза, а опосредованно через нарушение метаболических механизмов. Известно, что токсин *Corynebacterium diphtheriae* представляет собой белковую часть цитохрома «b» дифтерийных бактерий и конкурентно подавляет в клетках пораженного организма биосинтез аналогичного фермента дыхательной цепи митохондрий [Kato M., 1972], что сопровождается ингибированием тканевого дыхания и подавлением синтеза белков [Фролов В.А., Далин М.В., 1996]. С другой стороны, показана роль индукторов свободнорадикального окисления в стимуляции апоптоза КМЦ [Sabri A. et al., 2003]. В связи с этим мы попытались выяснить, существует ли связь между нарушениями липидного обмена, вызванного дифтерийной интоксикацией и активацией механизмов апоптотической гибели в сердечной мышце. Для этого была изучена интенсивность перекисного окисления липидов методом определения содержания в миокарде ЛЖ продуктов свободнорадикального окисления, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Результаты исследования представлены в табл. 4.12.

Согласно приведенным данным, через сутки от начала дифтерийной интоксикации происходит достоверное снижение содержания продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, в супернатанте, которое между тем восстанавливается к 3-м суткам процесса. При этом в гомогенате определяется выраженная тенденция к снижению этого показателя также на 1-е сутки, но отличие не является статистически

Таблица 4.12

**Содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, в миокарде левого желудочка в динамике дифтерийной интоксикации (M±m)**

Показатель	Контроль	1 сутки	3 суток	5 суток
Гомогенат (OD/г ткани)	58,3±3,4	49,68±3,31	63,82±4,95	56,76±5,4
Супернатант (OD/мг белка)	2,44±0,11	1,8±0,2*	2,76±0,28	2,62±0,33

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

достоверным. В последующие сроки содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, возвращается к нормальному значению. Данные наблюдения позволяют предположить, что наиболее активно процессы перекисного окисления липидов при дифтерийной интоксикации развиваются на протяжении 1-х суток, что даже приводит, по-видимому, к резкому уменьшению содержания в ткани миокарда субстратов перекисного окисления липидов и, как следствие, снижению интенсивности свободнорадикального окисления к исходу 1-х суток. Однако в дальнейшем, несмотря на продолжающуюся интоксикацию, происходит восстановление нормальной интенсивности перекисного окисления. Таким образом, учитывая, что активность каспазы-3 достоверно повышается в ЛЖ лишь на 5-е сутки эксперимента, связь метаболитов, ответственных за свободнорадикальное окисление, с апоптотическими процессами в миокарде ЛЖ при дифтерийной интоксикации представляется сомнительной.

#### **4.8. ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ВЛИЯНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕРДЦА НА МЕХАНИЗМЫ АПОПТОТИЧЕСКОЙ ГИБЕЛИ КАРДИОМИОЦИТОВ**

При диффузном поражении миокарда, вызванном воздействием дифтерийного токсина, поиск взаимосвязи между функциональным состоянием сердца и каспазной активностью проводился лишь для ЛЖ, так как изменения активности каспазы-3 в ПЖ не наблюдалось. При этом достоверных корреляционных связей выявлено не было (табл. 4.13). По-видимому, имеется определенный асинхронизм в развитии сократительной дисфункции и индукции каспазных механизмов в ПЖ.

Таблица 4.13

**Корреляционные связи между показателями сократительной способности и активностью каспазы-3 при дифтерийной интоксикации**

Пары показателей	Кoeffициент корреляции
Реальное ВД ЛЖ — активность каспазы-3 в ЛЖ	-0,16
Максимальное ВД ЛЖ — активность каспазы-3 в ЛЖ	-0,42

Следует отметить, что при дифтерийной интоксикации в миокарде ЛЖ происходит стимуляция каспазного каскада по митохондриальному пути, о чем свидетельствует повышение активности каспазы-3 при отсутствии изменения активности каспазы-8. Известно, что фрагмент А дифтерийного гистотоксина, проникающий в клетки, инактивирует фермент трансферазу-II, необходимый для элонгации полипептидных цепей. В результате в клетках угнетается протеосинтез [Фролов В.А., Далин М.В., 1996]. Поскольку в КМЦ процесс обновления белкового состава происходит очень интенсивно, следует предположить, что при дифтерийной интоксикации многие клетки, начиная испытывать дефицит сократительных протеинов, теряют способность полноценно функционировать и встают на путь апоптоза. Однако трудно ответить на вопрос, какой конкретно механизм при данных условиях инициирует возникновение апоптогенного сигнала и его трансдукцию по митохондриальному пути.

Стимуляция каспаз также может быть связана с изменением активности лизосомных ферментов. Под действием дифтерийного токсина повышается доля свободной (неседиментируемой) активности N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозаминидазы, основного фермента лизосом КМЦ [Фролов В.А., Далин М.В., 1996], что свидетельствует о повышении проницаемости лизосомальных мембран. При этом имеются данные, согласно которым дестабилизация мембран лизосом с выходом их ферментов в цитоплазму сопровождается деградацией антиапоптозных протеинов семейства Bcl-2, а это в свою очередь приводит к высвобождению цитохрома C из митохондрий и активированию каспаз [Repnik U. et al., 2010].

Кроме того, дифтерийный токсин конкурентно ингибирует в клетках-мишенях цитохром В [Kato M., 1972]. В подобных условиях будет происходить нарушение процессов внутриклеточного дыхания и синтеза АТФ. При дефиците последнего, как было показано в некоторых работах, наблюдается повышение активности проапоптозных белков

Вах и Вак, вследствие чего из митохондрий в цитозоль опять же начинает поступать цитохром С, вызывающий индукцию каспазного каскада [Saikumar P. et al., 1998; Greijer A.E. et al., 2004].

С чем же связано расхождение данных по активности каспазы-3 в ЛЖ и ПЖ? Очевидно, что дифтерийный токсин оказывает одинаковое воздействие на КМЦ обоих желудочков сердца. Однако при одной и той же концентрации токсина в крови его содержание на единицу миокардиальной ткани будет выше в ПЖ, обладающем значительно меньшей массой, чем ЛЖ. При этом возможно, что при прямом воздействии на каспазу-3 дифтерийного токсина, накапливающегося в относительно большом количестве в ПЖ, происходит ингибирование этого фермента. В определенной степени подтверждением данной гипотезы служат результаты проведенных нами одиночных исследований, при которых дифтерийный токсин вводился животным в дозе, превышающей DLM. На этом фоне, как в ЛЖ, так и в ПЖ определялась активность каспазы-3 более низкая, чем у кроликов, подвергавшихся воздействию токсина в количестве, соответствующем DLM. Вместе с тем, вызывая определенные метаболические нарушения в КМЦ ПЖ, дифтерийный токсин может опосредованно стимулировать каспазный каскад, на что косвенно указывает достоверное повышение активности каспазы-3 в ЛЖ. Результирующий же эффект заключается в отсутствии изменений данного показателя в ПЖ при введении животным токсина в дозе 0,3 DLM/кг массы тела.

При сравнении данных биохимического и иммуногистохимического исследования обращает на себя внимание тот факт, что дифтерийная интоксикация является единственным из исследованных нами типов поражения сердца, при котором возможно повышение содержания TUNEL-позитивных КМЦ без увеличения активности каспазы-3. Так, в ЛЖ количество положительно окрашенных ядер КМЦ возрастает уже с 1-х суток эксперимента и в последующие сроки продолжает увеличиваться, а каспаза-3 становится достоверно выше нормы лишь на 5-е сутки. В ПЖ активность каспазы-3 практически не меняется ни на одном из сроков, хотя на 3-и сутки количество ядер КМЦ с положительной реакцией TUNEL повышается по сравнению с контрольной группой. В связи с этим возникают два предположения. Во-первых, интенсификация апоптотических процессов при повреждении миокарда дифтерийным токсином может происходить с участием других эффекторных каспаз, например, каспазы-7, активность которой нами не определялась. Во-вторых, известно, что существуют альтернативные пути индукции апоптоза клеток, так называемые некаспазные механизмы. В частности, при возникновении апоптогенного сигнала из мито-

хондрий в цитоплазму, а затем в ядро поступает митохондриальный флавопротеин AIF (apoptosis inducing factor, фактор индуцирующий апоптоз) [Daugas E. et al., 2000], который активирует эндонуклеазу, расщепляющую ДНК [Susin S.A. et al., 1999, 2000; Daugas E. et al., 2000], а также способен самостоятельно вызывать конденсацию хроматина и фрагментацию нуклеиновых кислот [Susin S.A. et al., 1999].

Напомним, что апоптоз КМЦ при дифтерийном поражении сердца оставался долгое время практически неизученным. Однако в современной литературе есть отдельные работы, в которых содержатся результаты исследования влияния других кардиотоксических веществ, в частности противоопухолевых препаратов, на механизмы гибели клеток миокарда. Так, отмечается, что на фоне длительной терапии доксорубицином развивается диффузное токсическое повреждение сердца (Дох-индуцируемая кардиотоксичность), сопровождающееся некрозом, апоптозом и аутофагией КМЦ [Zhang Y.W. et al., 2009]. При этом было показано, что индукция апоптотических процессов возникает в данном случае как по внутреннему, так и по внешнему сигнальным путям. Считается, что под действием доксорубицина усиливается продукция АФК, которые способствуют высвобождению ионов  $Ca^{2+}$  из саркоплазматического ретикулума в цитоплазму КМЦ [Kim S.Y. et al., 2006; Zima A.V. et al., 2006]. Кальциевая перегрузка, как известно, повышает проницаемость митохондриальной мембраны, что приводит к выходу из митохондрий проапоптотических медиаторов. Доказано также повышение экспрессии гена *p53* на фоне Дох-индуцируемой кардиомиопатии [Liu J. et al., 2008].

По данным других авторов, блокада FasL-рецепторов на фоне длительного введения доксорубицина значительно снижает кардиотоксический эффект последнего за счет подавления продукции АФК и ингибирования апоптоза КМЦ [Niu J. et al., 2009]. Это свидетельствует о вовлеченности рецепторно-опосредованного пути инициации апоптоза.

Очевидно, что проводить сопоставление результатов, полученных при моделировании диффузного поражения миокарда дифтерийным токсином и противоопухолевыми препаратами можно с известной долей условности, поскольку данные субстанции имеют разный механизм альтергирующего воздействия на клетки. Тем не менее в реагировании сердца на токсическое повреждение прослеживается, на наш взгляд, общая закономерность, которая заключается в индукции апоптоза КМЦ.

## 4.9. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ данных, отраженных в настоящей главе, позволяет определить ряд особенностей, отличающих изменения морфофункционального состояния миокарда и активности апоптотических процессов при диффузном токсическом поражении сердца.

В отличие от острой перегрузки и очаговой ишемии ЛЖ, при дифтерийной интоксикации наблюдается более глубокое нарушение потенциальной работоспособности ЛЖ.

Как и при острой гемодинамической перегрузке, в обоих желудочках достоверно наблюдается выраженное повреждение миофибрилл, однако площадь участков деструкции достигает максимума не на 1-е, а на 5-е сутки от начала дифтерийной интоксикации. По-видимому, в этой связи интенсивность воспалительного ответа на всех сроках исследования значительно ниже, чем при стенозировании восходящей аорты.

Апоптоз КМЦ протекает более интенсивно и активируется раньше в миокарде ЛЖ по сравнению с ПЖ, о чем свидетельствуют результаты морфологического и иммуногистохимического исследования. При этом в ЛЖ индекс апоптоза, рассчитанный по числу TUNEL-позитивных ядер, увеличивается уже на 1-е сутки, тогда как активность каспазы-3 достоверно повышается лишь к 5-м суткам эксперимента. В ПЖ активность каспазы-3 практически не меняется в динамике исследуемого процесса, несмотря на то, что на 3-и сутки наблюдается умеренное увеличение TUNEL-позитивных ядер.

Активность каспазы-8 в миокарде ЛЖ не имеет статистически значимого отличия от контроля на 5-е сутки, когда активность каспазы-3 достигает пикового уровня, однако небольшая тенденция к увеличению все-таки наблюдается. Это согласуется с данными морфологического анализа, показавшего наличие слабо выраженного воспалительного ответа на повреждающее воздействие дифтерийного токсина. Можно предположить, что для запуска программы клеточной гибели по внешнему пути инициации необходимо более высокое содержание проапоптотических медиаторов в миокарде.



## **ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ, МОРФО- ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЦА И АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ОСТРОЙ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОЙ ПЕРЕГРУЗКЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

---

Перегрузка сердца является весьма распространенным последствием различных по своей природе заболеваний и патологических состояний. Врожденные и приобретенные пороки сердца, АГ (включая гипертонические кризы), воспалительные заболевания миокарда, эндокарда и перикарда, кардиомиопатии, хронические обструктивные заболевания легких практически всегда становятся причиной гиперфункции соответствующего отдела сердца с развитием морфологических и функциональных изменений в сердечно-сосудистой системе, которые зачастую носят типовой характер.

Все возможные варианты перегрузки сердца могут быть сведены к двум основным типам: острому и хроническому. Различия между ними определяются главным образом особенностями патогенеза исходного патологического состояния. При острой перегрузке, в отличие от хронической, бóльшая часть энергии расходуется на совершение работы, а не на синтез белков саркомера, направленный на развитие компенсаторной гипертрофии.

Острая перегрузка ЛЖ возникает при определенных формах гипертонического криза, сопровождающихся значительным повышением сопротивления сердечному выбросу. Некоторые функциональные и структурные изменения миокарда, вызванные резким увеличением постнагрузки, также изучались в различных экспериментальных исследованиях [Рамдаван П., 1993; Nediani С. et al., 2000; Bregagnollo E.A. et al., 2007]. Однако на сегодняшний день в литературе практически отсутствуют данные о возможном участии ПКГ КМЦ в морфофункциональной перестройке сердца при адаптации к внезапному повышению систолического сопротивления.

Исследование проводилось на кроликах-самцах породы шиншилла с массой тела 3,0–3,5 кг в трех параллельных сериях. У животных моделировали острую перегрузку ЛЖ путем создания

искусственного стеноза восходящей аорты и далее проводили исследования в сроки 1, 3 и 5 сут. Контрольные группы были представлены интактными кроликами.

В первой серии изучали функциональное состояние сердечно-сосудистой системы. Каждая группа включала в себя по 5 кроликов.

Во второй серии у двух кроликов из каждой группы исследовали структурные особенности миокарда ЛЖ и ПЖ, а также апоптоз КМЦ с использованием морфологической методики.

В третьей серии проводилось иммуногистохимическое и биохимическое исследование апоптоза КМЦ. Каждая группа была представлена пятью кроликами, для биохимического исследования материал брали у всех животных, а для иммуногистохимического — у трех из каждой группы.

## 5.1. ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ СИСТЕМНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ ПРИ ОСТРОЙ ПЕРЕГРУЗКЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

### 5.1.1. АНАЛИЗ ЦЕНТРАЛЬНОГО АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ ПРИ ОСТРОЙ ПЕРЕГРУЗКЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

В табл. 5.1 представлены значения показателей, характеризующих центральное АД кроликов при острой гемодинамической перегрузке ЛЖ, вызванной стенозом восходящей аорты.

Таблица 5.1

#### Показатели центрального артериального давления у кроликов в контроле и при стенозировании восходящей аорты ( $M \pm m$ )

Показатель	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Систолическое АД, мм рт.ст.	135±2,6	85±1,3*	105±3,2*	110±4,1*
Диастолическое АД, мм рт.ст.	98±1,6	57±1,0*	60±2,2*	65±3,9*
ВО, мм рт.ст.	114,7±2,2	66,7±1,2*	77,8±2,1*	75,7±4,0*
ВПВО, мс	31,5±1,6	34,8±2,0	44,0±1,1*	48,1±1,7*
ВРПВ, мс	96,9±1,7	101,9±0,7*	103,2±1,7*	106,0±1,9*

*Примечание:* ВО — амплитуда волны отражения, ВПВО — время появления пульсовой волны; звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

Полученные результаты свидетельствуют о следующем. Систолическое АД к исходу 1-х суток исследования значительно и достоверно снижается (на 36,8%), что может быть связано как с возникновением выраженного стеноза аорты, так и с ослаблением сократительной активности ЛЖ. В последующем происходит частичное восстановление уровня систолического АД, однако, вплоть до 5-х суток эксперимента данный показатель остается достоверно ниже контрольного значения.

Для диастолического АД характерно достоверное, но более глубокое по сравнению с систолическим АД снижение на 1-е сутки (на 41,6%). До 3-х суток эксперимента диастолическое АД практически не меняется и лишь на 5-е сутки появляется тенденция к его повышению.

Изменения амплитуды волны отражения в целом согласуются с динамикой систолического и диастолического АД.

Время появления пульсовой волны отражения в первые сутки исследования практически не отличается от контрольного уровня, но начиная с 3-х суток наблюдается его достоверное увеличение. ВРПВ неуклонно нарастает в динамике процесса, причем отличие от контроля становится достоверным уже с первых суток.

Показатели пульсовой волны (амплитуда волны отражения, время появления пульсовой волны и ВРПВ) косвенно характеризуют упруго-эластические свойства центральных артерий, степень констрикции артерий и артериол, а также сократительную активность ЛЖ. Напомним, что пульсовая волна представляет собой сумму ударной и отраженной волн. Ударная волна генерируется ЛЖ. Отраженная волна в большей мере определяется упругостью и жесткостью артерий: чем меньше упругость артерий, тем медленнее распространяется отраженная волна и тем дольше время ее появления. В 1-е сутки время появления пульсовой волны не меняется, что свидетельствует об отсутствии изменения жесткости центральных артерий. Вместе с тем наблюдается увеличение ВРПВ, которое, по-видимому, связано с удлинением ударной волны вследствие нарушения биомеханических характеристик ЛЖ. В последующие сроки наряду с увеличением ВРПВ наблюдается также и удлинение времени появления пульсовой волны. Данное изменение может быть вызвано снижением степени констрикции артерий и артериол, а также упругости стенки центральных сосудов на фоне гипотонии, обусловленной стенозом аорты.

## 5.2. ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОЙ ПЕРЕГРУЗКИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЦА

### 5.2.1. ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА ПРИ СТЕНОЗИРОВАНИИ ВОСХОДЯЩЕЙ АОРТЫ

Как следует из данных табл. 5.2, к концу 1-х суток исследования наблюдается выраженное снижение реального ВД ЛЖ. Следует предположить, что это происходит за счет уменьшения сократительной силы ЛЖ по причине нарушения энергообразования в КМЦ, а также за счет повреждения структурных элементов миокарда в результате чрезмерной нагрузки на него. На 3-и сутки эксперимента реальное ВД ЛЖ достоверно повышается относительно 1-х суток, но контрольного уровня не достигает. Далее, до 5-х суток, значение данного показателя практически не меняется.

Таблица 5.2

**Показатели функциональной активности левого желудочка сердца кроликов в контроле и при стенозировании восходящей аорты ( $M \pm m$ )**

Показатель	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Реальное ВД ЛЖ, мм рт.ст.	146,3±7,4	114,2±3,7*	127,4±3,3*	128,4±2,5*
Максимальное ВД ЛЖ, мм рт.ст.	247,9±6,5	167,7±4,3*	189,0±6,3*	195,0±6,0*
ФР	1,70	0,78	0,99	1,05
η, %	100	45,8	58,1	61,9
КДД ЛЖ, мм рт.ст.	6,5±0,5	8,6±0,3*	7,9±0,3*	8,0±0,4*

*Примечание:* для ФР и η не указаны погрешности, поскольку данные коэффициенты рассчитывались по средним значениям реального и максимального ВД в соответствующих группах исследования; звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

Динамика максимального ВД ЛЖ выглядит аналогично: резкое снижение на 1-е сутки эксперимента, частичное восстановление на 3-и сутки и дальнейшая стабилизация к 5-м суткам. Вместе с тем анализ расчетных показателей (ФР и η) указывает на значительный дефицит резервных возможностей ЛЖ на всех сроках исследования.

Таким образом, в первые 5 суток от начала стенозирования восходящей аорты для ЛЖ характерно выраженное снижение сократительной активности, а также глубокое угнетение его потенциальной работоспо-

способности, что косвенно свидетельствует о наличии энергодифицита в миокарде. Судить о возможном участии структурных изменений в нарушении функции ЛЖ мы сможем после анализа его морфологического состояния (см. п. 5.3.1).

КДД ЛЖ достоверно повышается на 1-е сутки исследования и остается на данном уровне вплоть до 5-х суток. Следовательно, острая гемодинамическая перегрузка ЛЖ становится также причиной нарушения его диастолической функции.

### 5.2.2. ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА ПРИ СТЕНОЗИРОВАНИИ ВОСХОДЯЩЕЙ АОРТЫ

Результаты исследования функции ПЖ на фоне острой перегрузки ЛЖ представлены в табл. 5.3.

Таблица 5.3

**Показатели функциональной активности правого желудочка сердца кроликов в контроле и при стенозировании восходящей аорты ( $M \pm m$ )**

Показатель	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Реальное ВД ПЖ, мм рт.ст.	37,5±1,5	28,0±1,5*	29,8±2,1*	30,2±1,2*
Максимальное ВД ПЖ, мм рт.ст.	54,7±2,3	40,7±2,3*	43,0±3,6*	44,2±1,8*
ФР	1,46	0,81	0,90	0,95
$\eta$ , %	100	55,4	61,8	65
КДД ПЖ, мм рт.ст.	3,2±0,3	2,6±0,2	2,5±0,2	3,1±0,2

*Примечание:* для ФР и  $\eta$  не указаны погрешности, поскольку данные коэффициенты рассчитывались по средним значениям реального и максимального ВД в соответствующих группах исследования; звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

Полученные данные свидетельствуют о следующем. Реальное и максимальное ВД ПЖ достоверно снижаются на 1-е сутки эксперимента и далее вплоть до 5-х суток практически не меняются. Как и в ЛЖ, расчетные показатели, характеризующие ФР и потенциальную работоспособность ПЖ (ФР и  $\eta$ ) значительно снижены по сравнению с контрольной группой на всех сроках исследования.

По-видимому, в первые часы от начала стенозирования аорты довольно быстро развивается застой крови в малом круге кровообращения, что резко увеличивает нагрузку на ПЖ. Уже к концу 1-х суток экс-

перимента это может привести к истощению энергетического ресурса КМЦ, проявляющемуся в виде снижения сократительной активности и потенциальной работоспособности ПЖ. Как и в случае с ЛЖ, оценку роли структурных изменений в нарушении функции ПЖ мы попытаемся дать после анализа его морфологического состояния (п. 5.3.2).

Необходимо подчеркнуть, что в отличие от ЛЖ, в ПЖ практически отсутствует тенденция к восстановлению сократительной способности миокарда как в условиях реальной гемодинамики, так и при изометрическом сокращении.

Для КДД ПЖ статистически значимых отличий от контрольного уровня не наблюдалось ни на одном из сроков эксперимента.

### **5.3. ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МИОКАРДА ПРИ ОСТРОЙ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОЙ ПЕРЕГРУЗКЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

#### **5.3.1. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

При световой микроскопии полутонких срезов ЛЖ обнаружено следующее. В контрольной группе в миокарде тканевые, клеточные и внутриклеточные структуры хорошо идентифицируются во всех полях зрения. Миофибриллы имеют четкие контуры, лежат в основном параллельно друг другу, отчетливо просматриваются миофиламенты и отдельные вставочные диски. Явлений интерстициального и внутриклеточного отека практически нет. Ядра расположены внутри клеток, четко очерчены, кариоплазма гомогенна, конденсации хроматина не наблюдается. Свободно лежащие ядра встречаются крайне редко. Коллаген в основном располагается вокруг кровеносных сосудов и в незначительном количестве — тонкими прослойками между миофибрилл. Массивных отложений коллагена не обнаруживается. Сосуды — в умеренном количестве, их стенки имеют нормальную толщину. Явления лейкоцитарной инфильтрации не характерны. Участки деструкции миофибрилл встречаются лишь в единичных полях зрения.

К концу 1-х суток исследования в миокарде ЛЖ отмечаются следующие особенности. Ткань становится довольно рыхлой, местами гомогенной. Резко выражен внутри- и внеклеточный отек. В межклеточных пространствах встречаются в умеренном количестве лимфоциты и макрофаги. Миофибриллы по сравнению с контрольной группой имеют менее четкие, иногда размытые контуры. Миофиламенты и

диски выражены слабо. Во многих полях зрения наблюдаются поперечные разрывы миофибрилл и участки нарушения их пространственной ориентации. Значительно увеличивается количество участков деструкции, имеющих различный размер, что свидетельствует о травматизации миофибрилл. Свободно лежащие ядра встречаются в значительном количестве.

По данным морфометрии, по сравнению с контролем на 1-е сутки достоверно уменьшается площадь миофибрилл (табл. 5.4). При этом также наблюдается достоверное увеличение размеров участков деструкции и объема внеклеточного пространства. Отмечается снижение показателя объемной доли коллагена.

Таблица 5.4

**Сравнительные данные морфометрии полутонких срезов миокарда левого желудочка в контроле, через 1, 3 и 5 сут от начала острой перегрузки левого желудочка (об. %,  $M \pm m$ )**

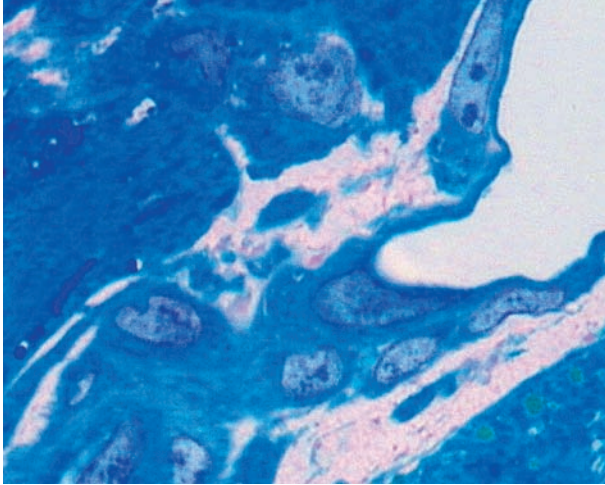
Срок исследования	Мышечные волокна	Коллаген	Сосуды	Участки деструкции	Внеклеточные пространства
Контроль	66,70±2,06	5,23±1,00	0,80±0,35	0,9±0,1	25,17±1,79
1 сутки	46,80±3,11*	1,97±0,34*	2,40±0,69*	12,07±2,28*	35,73±2,35*
3 суток	42,92±3,44*	1,73±0,28*	1,57±0,63	9,21±1,16*	41,40±2,72*
5 суток	44,17±3,93*	5,83±0,89	0,57±0,32	8,63±1,52*	37,63±3,22*

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .

Суммарная площадь микрососудов достоверно увеличивается. Вероятнее всего, это обусловлено их значительным расширением, вызванным развитием воспалительной реакции, возникающей в ответ на травматическое повреждение миофибрилл.

Через 3 суток от начала стенозирования аорты миокард становится неоднороден: патологически измененные участки чередуются с нормальными, однако первые преобладают. Очаги патологических изменений характеризуются деструкцией миофибрилл, нарушением их архитектоники, внутри- и внеклеточным отеком, гомогенизацией цитоплазмы КМЦ. По сравнению с предыдущим сроком увеличивается количество лейкоцитов и гистиоцитов в участках повреждения миокарда и межклеточного отека (см. цветную вклейку, рис. 5.1), что позволяет говорить о развитии воспалительной инфильтрации миокарда.

Массивных отложений коллагена не обнаружено: в незначительном количестве он располагается вокруг сосудов, а также вблизи участков



**Рис. 5.1.** Полутонкий срез миокарда левого желудочка сердца. 3 сутки от начала стенозирования восходящей аорты. Участок повреждения и внеклеточного отека миокарда с инфильтрацией гистиоцитами. Окраска по P. Anthoni et al. Ув.  $\times 1000$



деструкции. Как и через 1-е сутки после возникновения стеноза аорты, обнаруживается большое количество свободно лежащих ядер.

По данным морфометрического исследования миокарда, на 3-и сутки эксперимента количество миофибрилл по сравнению с 1-ми сутками достоверно не меняется (см. табл. 5.4). Отмечается тенденция к увеличению объема внеклеточных пространств, что свидетельствует о нарастании интерстициального отека.

Незначительно уменьшается количество участков деструкции. Показатель содержания коллагена достоверно не меняется. Наблюдается тенденция к снижению суммарной площади сосудов микроциркуляторного русла, причем статистически значимого отличия от контрольной группы уже нет, что косвенно указывает на уменьшение интенсивности воспалительного ответа.

На 5-е сутки эксперимента миокард, как и на предыдущем сроке, характеризуется отчетливой гетерогенностью: неизменные зоны сочетаются с зонами повреждения. В зонах повреждения — миофибриллы в состоянии выраженного отека. Сохраняется прежняя выраженность внеклеточного отека, однако интенсивность лейкоцитарной инфильтрации снижается. В очагах деструкции появляются отложения коллагена. Свободно лежащих ядер много, располагаются они преимущественно в местах деструкции и около сосудов.

Морфометрическая оценка состояния миокарда (см. табл. 5.4) указывает на отсутствие выраженных изменений в содержании мышечных волокон по сравнению с предыдущим сроком. Степень внеклеточного отека, площадь участков деструкции и суммарная площадь микрососудов не имеют статистически значимых отличий относительно 3-х суток исследования.

Данные корреляционного анализа между отдельными морфометрическими показателями ЛЖ представлены в табл. 5.5.

Обращают на себя внимание следующие особенности. На 1-е сутки эксперимента между объемной долей мышечных волокон и площадью участков деструкции устанавливается сильная отрицательная корреляционная связь, которая затем переходит в отрицательную связь средней силы. При этом отмечается также отрицательная корреляционная связь в паре «мышечные волокна — внеклеточные пространства» (средней силы на 1-е и 5-е сутки и сильная на 3-е сутки). Следовательно, уменьшение объемной доли миофибрилл в ЛЖ (см. табл. 5.4) можно объяснить, с одной стороны, их разрушением, а с другой стороны — развитием выраженного экстрацеллюлярного отека.

В целом же подтверждается предположение, высказанное в п. 5.2.1 о том, что значительное снижение сократительной способности ЛЖ

Таблица 5.5

**Корреляционные связи между некоторыми морфометрическими показателями левого желудочка в норме и на различных сроках его острой гемодинамической перегрузки**

Пары показателей	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Мышечные волокна – коллаген	-0,43	-0,31	-0,18	-0,58
Мышечные волокна – сосуды	-0,12	+0,15	+0,07	+0,18
Мышечные волокна – участки деструкции	-0,18	-0,78	-0,72	-0,58
Мышечные волокна – внеклеточные пространства	-0,86	-0,59	-0,93	-0,54
Коллаген – сосуды	-0,14	+0,09	+0,02	+0,25

может быть обусловлено не только развитием энергодифицита в КМЦ, но также перегрузочным повреждением миокарда.

### 5.3.2. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА МИОКАРДА ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА

При световой микроскопии миокарда ПЖ отмечается следующее. В контрольной группе миофибриллы имеют ровные контуры, лежат параллельно друг другу, четко просматриваются миофиламенты. Внутриклеточный отек встречается крайне редко и выражен слабо. Внеклеточного отека нет. Имеются небольшие участки деструкции. Изредка встречаются свободно лежащие ядра. В основном же ядра расположены внутри клеток, четко очерчены и имеют гомогенную кариоплазму. Обнаруживаются значительные отложения коллагена между миофибриллами и вокруг сосудов.

На 1-е сутки эксперимента миокард более рыхлый по сравнению с контролем. Почти во всех полях зрения выявляется выраженный внутриклеточный отек. Внеклеточного отека нет. Очагов деструкции мало, они имеют небольшую площадь. В целом, за исключением внутриклеточного отека, серьезных патологических изменений не отмечается.

При анализе морфометрических данных по ПЖ на 1-е сутки острой перегрузки ЛЖ отмечается достоверное увеличение площади мышечных волокон (табл. 5.6). Вероятнее всего, это связано с их утолщением в результате внутриклеточного отека, поскольку гипертрофия на столь раннем сроке развиться не может. Отмечается тенденция к снижению количества коллагена, площади микрососудов и внеклеточного пространства, однако отличия по всем указанным показателям недо-

стоверны. Степень деструкции миокарда не меняется по сравнению с контролем.

Таблица 5.6

**Сравнительные данные морфометрии полутонких срезов миокарда правого желудочка в контроле, через 1, 3 и 5 суток от начала острой перегрузки левого желудочка (об. %,  $M \pm m$ )**

Срок исследования	Мышечные волокна	Коллаген	Сосуды	Участки деструкции	Внеклеточные пространства
Контроль	57,58±3,03	9,34±2,1	2,49±0,16	0,97±0,19	28,87±1,96
1 сутки	66,29±1,65*	5,49±0,59	1,33±0,73	0,97±0,34	24,75±1,47
3 суток	63,34±2,48	6,72±0,46	0,94±0,18*	1,87±0,59	25,76±2,57
5 суток	63,00±1,58	7,5±1,28	1,29±0,18*	1,40±0,1*	25,58±1,48

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

На 3-и сутки исследования миокард ПЖ становится более рыхлым по сравнению с предыдущим сроком. Ткань отличается выраженной гетерогенностью: в некоторых полях зрения определяются патологические изменения, однако местами миокард выглядит практически интактным. В патологически измененных участках многие миофибриллы деформированы, имеют неодинаковую толщину на их протяжении. Нередко трудно идентифицируются миофиламенты и вставочные диски. Довольно часто встречаются участки резкого разрежения цитоплазмы КМЦ. Внутриклеточный отек сохраняется, но становится менее выраженным. Участки деструкции встречаются редко и имеют незначительный размер. Иногда встречаются явления пересокращения миофибрилл, что свидетельствует о гиперфункции миокарда на данном сроке исследования. Сосуды в умеренном количестве, не расширены, стенка их не изменена. Массивных отложений коллагена нет.

Согласно результатам морфометрического исследования (см. табл. 5.6), отмечается тенденция к уменьшению площади мышечных волокон по сравнению с предыдущим сроком. Данный показатель уже не отличается достоверно от контрольной группы, что может свидетельствовать о снижении выраженности внутриклеточного отека. Количество коллагена практически остается прежним. Показатель суммарной площади микрососудов становится достоверно ниже контрольного значения. Также наблюдается тенденция к увеличению степени деструкции ткани миокарда. Объем внеклеточного пространства остается на прежнем уровне.

К 5-м суткам острой перегрузки ЛЖ миокард ПЖ выглядит менее рыхлым по сравнению с 3-ми сутками. Снижается степень выраженности внутриклеточного отека. Участков деструкции немного. Резко возрастает количество свободно лежащих ядер.

Коллагеновые волокна расположены вокруг сосудов и тонкими прослойками между миофибриллами. В целом, по сравнению с предыдущими сроками исследования, миокард имеет меньше патологических изменений, что может свидетельствовать о восстановлении его структурной целостности в процессе адаптации к новым условиям функционирования.

Результаты морфометрического исследования ПЖ на данном сроке указывают на стабилизацию морфологического состояния миокарда. Так, остаются практически без изменений по сравнению с предыдущим сроком все исследованные показатели (см. табл. 5.6).

Следует также отметить, что в ПЖ признаков лейкоцитарной инфильтрации миокарда не наблюдается ни в один из сроков эксперимента.

Результаты корреляционного анализа между различными морфометрическими показателями ПЖ (табл. 5.7) свидетельствуют о наличии отрицательной связи в паре «мышечные волокна – внеклеточные пространства» на всех сроках эксперимента. Однако, учитывая отсутствие в ходе исследования достоверного изменения объема внеклеточного пространства (см. табл. 5.6), можно предположить, что данная связь устанавливается лишь за счет небольшого утолщения миофибрилл по сравнению с контролем по причине внутриклеточного отека.

Таблица 5.7

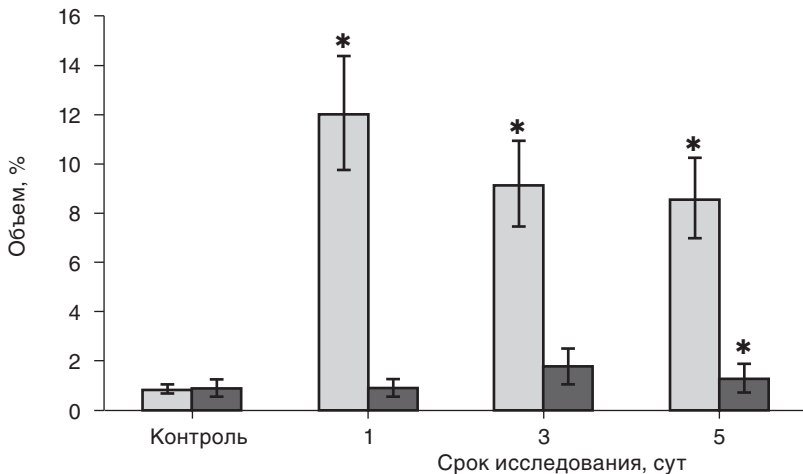
**Корреляционные связи между некоторыми морфометрическими показателями левого желудочка в норме и на различных сроках его острой перегрузки**

Пары показателей	Контроль	Сроки эксперимента		
		1 сут	3 сут	5 сут
Мышечные волокна – коллаген	-0,89	-0,26	-0,39	-0,68
Мышечные волокна – сосуды	+0,03	-0,35	-0,01	+0,25
Мышечные волокна – участки деструкции	-0,26	-0,29	-0,12	-0,26
Мышечные волокна – внеклеточные пространства	-0,02	-0,73	-0,93	-0,64
Коллаген – сосуды	-0,04	+0,09	+0,4	-0,25

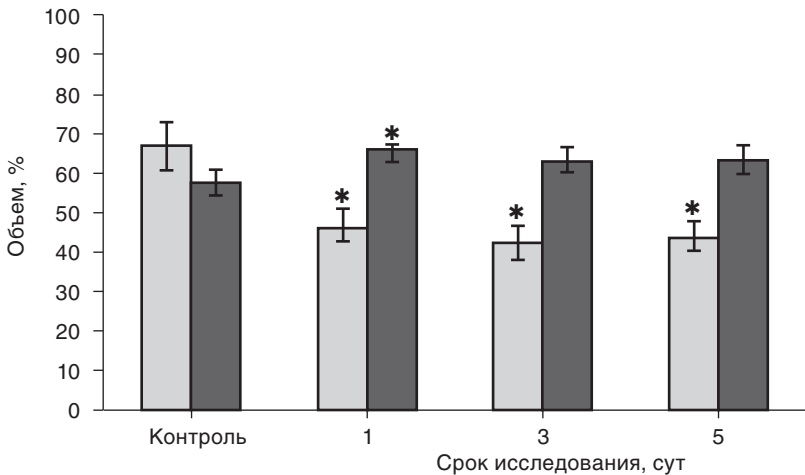
Связь в паре «мышечные волокна – участки деструкции», в отличие от ЛЖ, не обнаруживается ни на одном сроке эксперимента. Таким образом, можно сказать, что незначительное увеличение площади участков деструкции на 5-е сутки не оказывает существенного влияния на общее количество жизнеспособных миофибрилл. Следовательно, уменьшение сократительной активности и потенциальной работоспособности ПЖ (п. 5.2.2) возникает лишь в результате истощения энергетических ресурсов КМЦ по причине гемодинамической перегрузки.

В целом, сравнивая морфологию миокарда ЛЖ и ПЖ, следует обратить внимание на следующие особенности. Для ЛЖ, в отличие от правого, характерен выраженный внеклеточный отек. В ЛЖ уже с 1-х суток стенозирования аорты наблюдается значительное повреждение ткани: площадь участков деструкции возрастает по сравнению с контролем в 13,4 раза, а в последующие сроки этот показатель, хоть и немного снижается, но, тем не менее, остается в несколько раз выше контрольного значения. В ПЖ доля поврежденных участков миокарда достоверно увеличивается только на 5-е сутки, отличаясь от нормы лишь в 1,44 раза. При этом на всех сроках исследования объемная доля участков деструкции в ЛЖ достоверно выше, чем в ПЖ (рис. 5.2).

В ЛЖ уже на 1-е сутки происходит достоверное снижение площади жизнеспособных миофибрилл (на 29,8%), а затем данный показатель



**Рис. 5.2.** Площадь участков деструкции в миокарде левого и правого желудочков при острой перегрузке ЛЖ. Столбики — средние значения, планки погрешностей — ошибки среднего (%). Серые столбики — ЛЖ, черные столбики — ПЖ. \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой



**Рис. 5.3.** Объемная доля мышечных волокон в миокарде левого и правого желудочков при острой перегрузке ЛЖ. Столбики — средние значения, планки погрешностей — ошибки среднего (%). Серые столбики — ЛЖ, черные столбики — ПЖ. \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

вплоть до 5-х суток практически не изменяется. Для ПЖ уменьшение доли мышечных волокон не характерно (рис. 5.3).

Кроме того, в 1-е сутки эксперимента в миокарде ЛЖ наблюдается увеличение площади микрососудов. В ПЖ объемная доля сосудов уменьшается к 3-м суткам исследования.

Наконец, в ЛЖ появляется лейкоцитарная инфильтрация, которая вкпе с экстрацеллюлярным отеком и гиперемией свидетельствует о развитии воспалительного ответа. В ПЖ подобные явления отсутствуют.

Таким образом, оба желудочка сердца претерпевают ряд структурных изменений при внезапно возникающем стенозе восходящей аорты, однако в ЛЖ признаки нарушения нормальной структуры ткани выражены глубже и появляются раньше, чем в ПЖ. Отличия морфологической картины ЛЖ и ПЖ выглядят вполне закономерно, поскольку ЛЖ в данном эксперименте сразу после возникновения стеноза восходящей аорты начинает испытывать выраженную гемодинамическую перегрузку. По прошествии определенного времени, когда снижаются резервные возможности ЛЖ, возникает застой крови в малом круге кровообращения. В этом случае возрастает нагрузка и на ПЖ.

#### 5.4. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИНТЕНСИВНОСТИ АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ОСТРОЙ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОЙ ПЕРЕГРУЗКЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

Согласно данным морфометрического анализа, на 1-е сутки исследования в миокарде ЛЖ достоверно увеличивается абсолютное количество свободно лежащих ядер (табл. 5.8). В последующие сроки данный показатель неуклонно возрастает и к 5-м суткам становится в 2,5 раза выше контрольного уровня. Аналогичная динамика наблюдается и в отношении индекса апоптоза, для которого характерен даже более стремительный рост.

Таблица 5.8

##### Морфологические показатели, характеризующие интенсивность апоптоза кардиомиоцитов левого желудочка ( $M \pm m$ )

Срок исследования	Ядра, об. %	Свободно лежащие ядра, об. %	Индекс апоптоза
Контроль	1,20±0,13	0,19±0,03	0,1±0,01
1 сутки	1,03±0,24	0,47±0,12*	0,54±0,11*
3 суток	3,17±0,53*	1,60±0,29*	0,62±0,08*
5 суток	3,17±0,35*	2,50±0,36*	0,8±0,06*

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .

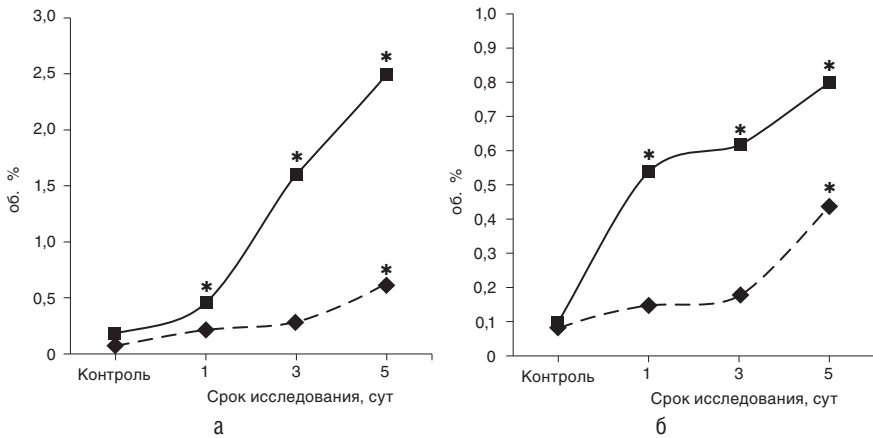
В ПЖ в первые трое суток исследования количество свободно лежащих ядер и индекс апоптоза практически не отличаются от контроля, но на 5-е сутки оба показателя достоверно увеличиваются (табл. 5.9).

Таблица 5.9

##### Морфологические показатели, характеризующие интенсивность апоптоза кардиомиоцитов правого желудочка ( $M \pm m$ )

Срок исследования	Ядра, об. %	Свободно лежащие ядра, об. %	Индекс апоптоза
Контроль	0,75±0,12	0,08±0,02	0,09±0,02
1 сутки	1,17±0,27	0,22±0,12	0,15±0,06
3 суток	1,37±0,19*	0,29±0,11	0,18±0,07
5 суток	1,23±0,14*	0,62±0,09*	0,44±0,08*

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .



**Рис. 5.4.** Морфологические показатели апоптоза кардиомиоцитов миокарда левого и правого желудочка: а — свободно лежащие ядра; б — индекс апоптоза. Сплошная линия — ЛЖ, прерывистая линия — ПЖ. \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

На рис. 5.4 для сравнения в графическом виде представлена динамика морфологических показателей, отражающих интенсивность апоптоза в ЛЖ и ПЖ.

Доля свободно лежащих ядер и индекс апоптоза в миокарде ЛЖ становятся достоверно выше нормы уже в 1-е сутки эксперимента, а в ПЖ это происходит лишь к 5-м суткам.

## 5.5. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ОСТРОЙ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОЙ ПЕРЕГРУЗКЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

### 5.5.1. РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ TUNEL В МИОКАРДЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

В контрольной группе иммуногистохимическая реакция на олигонуклеотиды — продукты фрагментации ДНК отрицательна в большей части ядер КМЦ. TUNEL-позитивные КМЦ встречаются в незначительном количестве.

На 1-е сутки исследования в миокарде ЛЖ существенно увеличивается количество TUNEL-позитивных КМЦ. В большинстве участков с положительной иммуногистохимической реакцией находятся оди-

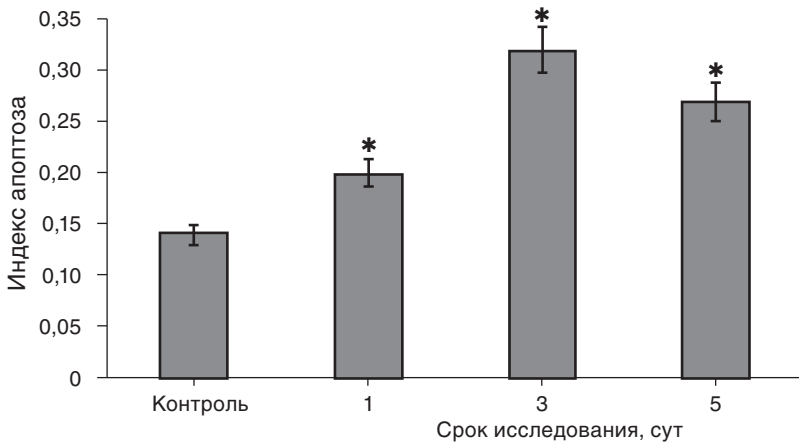


ночные окрашенные ядра. По данным морфометрического анализа, наблюдается достоверное повышение по сравнению с контрольной группой индекса апоптоза (рис. 5.5).

К 3-м суткам эксперимента количество TUNEL-позитивных КМЦ продолжает увеличиваться. По сравнению с предыдущим сроком гораздо чаще встречаются участки, представляющие собой группы клеток с положительной иммуногистохимической реакцией. Необходимо отметить, что для TUNEL-позитивных КМЦ не характерны признаки нарушения их структурной целостности. Также отмечается выраженное повышение индекса апоптоза относительно предыдущего срока исследования (см. рис. 5.5).

На 5-е сутки наблюдается уменьшение количества TUNEL-позитивных ядер КМЦ. При этом интенсивность иммуногистохимической окраски несколько ниже, чем в предыдущие сроки. Индекс апоптоза начинает снижаться, однако он по-прежнему остается на уровне, достоверно более высоком по сравнению с контрольной группой (см. рис. 5.5).

На основании морфологического (п. 5.4) и иммуногистохимического исследования можно сделать вывод о том, что при острой перегрузке ЛЖ, вызванной стенозом восходящей аорты, возрастает уровень апоптоза КМЦ в миокарде ЛЖ. Некоторое расхождение результатов,

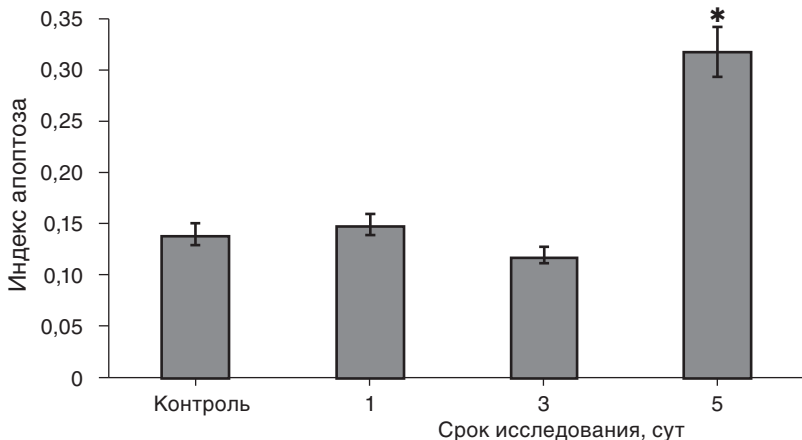


**Рис. 5.5.** Индекс апоптоза кардиомиоцитов левого желудочка сердца при стенозировании восходящей аорты (отношение числа TUNEL-позитивных ядер к общему количеству ядер). Планки погрешностей — ошибки среднего (%). \*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой

полученных с использованием двух методик на 5-х сутках эксперимента, можно объяснить временным интервалом, отделяющим начальный механизм морфологических изменений — фрагментацию ДНК от более позднего этапа, заключающегося в экструзии ядра. Интенсивность фрагментации ДНК к 5-м суткам начинает уменьшаться, что указывает на снижение активности апоптотических процессов. Наличие большого количества свободно лежащих ядер на этом же сроке, по-видимому, не стоит рассматривать как проявление продолжающегося апоптоза. Вероятнее всего, многие ядра не успевают на этом сроке элиминироваться путем фагоцитоза.

### 5.5.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ TUNEL В МИОКАРДЕ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА

В контрольной группе наблюдается небольшое количество TUNEL-позитивных ядер КМЦ. Аналогичная картина характерна для миокарда ПЖ вплоть до 3-х суток от начала стенозирования аорты. При этом индекс апоптоза на 1-е и 3-и сутки эксперимента практически не меняется (рис. 5.6). Однако на 5-е сутки отмечается резкое увеличение числа положительно окрашенных ядер КМЦ, а индекс апоптоза повышается в 2,3 раза по сравнению с контролем. Таким образом, результаты мор-



**Рис. 5.6.** Индекс апоптоза кардиомиоцитов правого желудочка сердца при стенозировании восходящей аорты (отношение числа TUNEL-позитивных ядер к общему количеству ядер). Планки погрешностей — ошибки среднего (%). \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

фологического и иммуногистохимического исследования апоптоза КМЦ в миокарде ПЖ согласуются друг с другом.

## **5.6. БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ОСТРОЙ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОЙ ПЕРЕГРУЗКЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

### **5.6.1. АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ КАСПАЗНОГО КАСКАДА В МИОКАРДЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

В табл. 5.10 представлены данные по активности каспазы-3 и каспазы-8 в миокарде ЛЖ сердца кроликов в контроле и на различных сроках от возникновения стеноза восходящей аорты. Напомним, что активность каспазы-8, которая позволяет судить об участии внешних сигнальных механизмов в индукции апоптоза клеток, определялась нами лишь в контроле и на одном из тех сроков исследования, когда активность каспазы-3 достигала максимального значения. На остальных сроках мы ограничились измерением активности каспазы-3 как основного маркера апоптотических процессов.

*Таблица 5.10*

#### **Активность каспаз в миокарде левого желудочка при его острой гемодинамической перегрузке ( $M \pm m$ )**

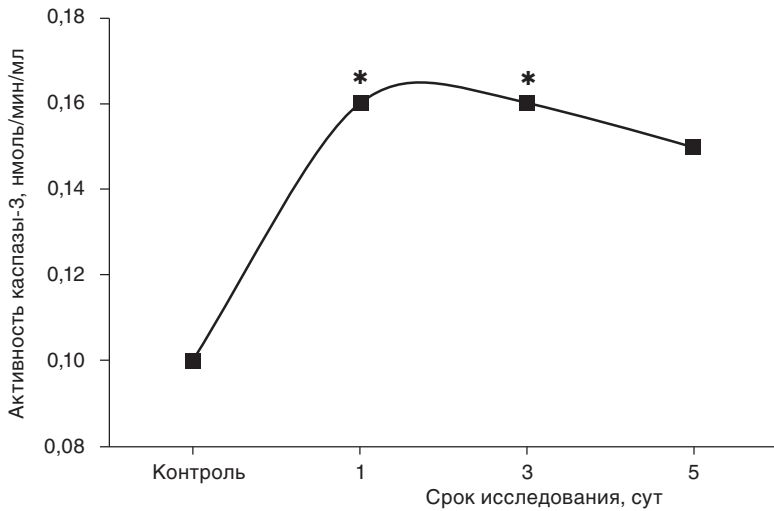
Показатель	Контроль	1 сутки	3 суток	5 суток
Каспаза-3, нмоль/мин/мл	0,1±0,01	0,16±0,02*	0,16±0,02*	0,15±0,04
Каспаза-8, нмоль/мин/мл	0,19±0,05	0,39±0,05*	Не определяли	Не определяли

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .

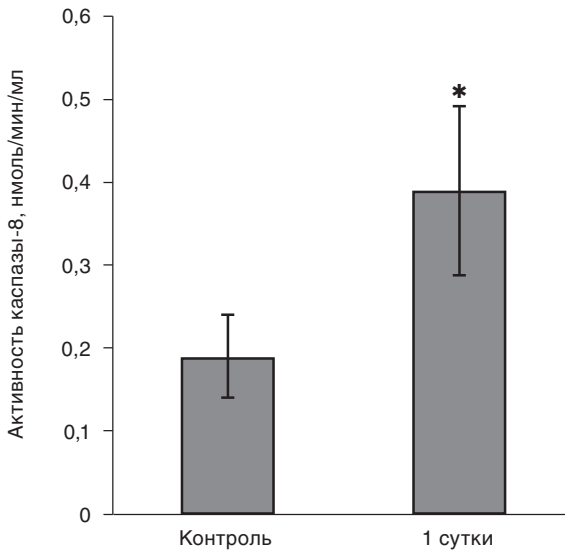
Через сутки после возникновения стеноза наблюдается достоверное увеличение активности каспазы-3 по сравнению с контрольной группой. К концу 3-х суток эксперимента данный показатель остается на уровне предыдущего срока исследования, а к 5-м суткам начинает снижаться и уже не отличается достоверно от контроля (рис. 5.7).

Активность каспазы-8 в миокарде ЛЖ на 1-е сутки от начала стенозирования восходящей аорты значительно и достоверно повышается по сравнению с контрольной группой (рис. 5.8).

Приведенные результаты позволяют дать следующую характеристику апоптотической активности в ЛЖ. Во-первых, происходит увеличение интенсивности ПКГ, о чем свидетельствует нарастание активности



**Рис. 5.7.** Динамика активности каспазы-3 в миокарде левого желудочка при его острой гемодинамической перегрузке. \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой



**Рис. 5.8.** Активность каспазы-8 в миокарде левого желудочка в контроле и через сутки от начала его острой гемодинамической перегрузки. Планки погрешностей — ошибки среднего (%). \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой

каспазы-3. Во-вторых, по-видимому, индукция апоптотической гибели клеток миокарда ЛЖ осуществляется, в том числе, по внешнему пути, для которого ключевым механизмом является взаимодействие специфических рецепторов с внеклеточными лигандами-триггерами апоптоза.

### 5.6.2. АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ КАСПАЗНОГО КАСКАДА В МИОКАРДЕ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА

При исследовании активности каспаз в миокарде ПЖ сердца были получены следующие результаты (табл. 5.11).

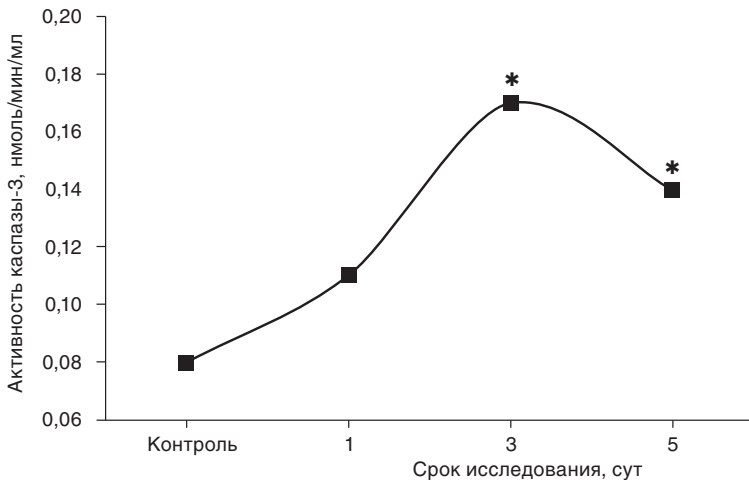
Таблица 5.11

#### Активность каспаз в миокарде правого желудочка сердца при острой гемодинамической перегрузке левого желудочка ( $M \pm m$ )

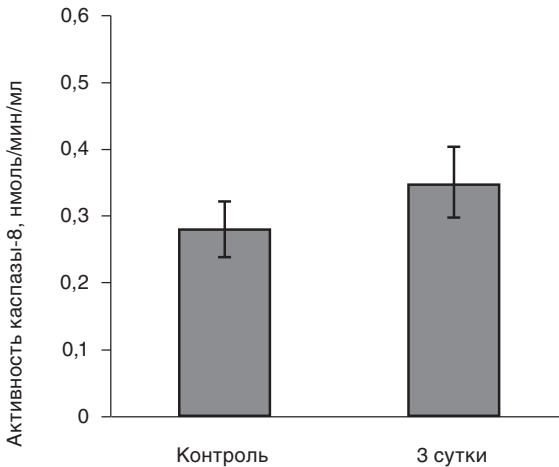
Показатель	Контроль	1 сутки	3 суток	5 суток
Каспаза-3, нмоль/мин/мл	0,08±0,01	0,11±0,03	0,17±0,01*	0,14±0,01*
Каспаза-8, нмоль/мин/мл	0,28±0,06	Не определяли	0,35±0,03	Не определяли

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

На 1-е сутки эксперимента наблюдается лишь тенденция к увеличению активности каспазы-3 (рис. 5.9). Однако через 3 сут данный пока-



**Рис. 5.9.** Динамика активности каспазы-3 в миокарде ПЖ при острой гемодинамической перегрузки ЛЖ. \*  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольной группой



**Рис. 5.10.** Активность каспазы-8 в миокарде правого желудочка в контроле и через 3 суток от начала острой гемодинамической перегрузки левого желудочка. Планки погрешностей — ошибки среднего (%)

затель резко возрастает и становится достоверно выше по сравнению с контролем. К 5-м суткам наблюдается некоторое снижение активности каспазы-3 относительно предыдущего срока, но отличие от контрольного значения продолжает оставаться достоверным.

На 3-и сутки эксперимента, когда, согласно нашим данным, активность каспазы-3 достигает своего пикового уровня, активность каспазы-8 в миокарде ПЖ не имеет достоверного отличия от контрольной группы (рис. 5.10).

Таким образом, согласно данным биохимического исследования, при острой гемодинамической перегрузке ЛЖ сердца в миокарде ПЖ также усиливается интенсивность апоптотической гибели его клеток, на что указывает повышение активности каспазы-3. При этом, учитывая отсутствие достоверного изменения активности каспазы-8, можно предположить, что процесс происходит без участия внешних стимулов, опосредующих свое влияние через рецепторный аппарат клеток.

## **5.7. ПУТИ РЕАЛИЗАЦИИ АПОПТОТИЧЕСКОЙ ПРОГРАММЫ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ОСТРОЙ ПЕРЕГРУЗКЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА. РОЛЬ НАРУШЕНИЙ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЦА**

Как уже упоминалось ранее, многие авторы разделяют точку зрения, согласно которой хроническая перегрузка ЛЖ сопровождается усилением апоптоза КМЦ ЛЖ. Нами было показано, что активность эффекторной каспазы-3, напрямую связанной с запуском апоптотической гибели клеток, повышается также и при острой перегрузке ЛЖ. Таким образом, можно утверждать, что на фоне острого стеноза восходящей аорты усиление апоптоза КМЦ опосредовано каспазными механизмами.

Одновременное увеличение активности инициаторной каспазы-8 в миокарде ЛЖ указывает на то обстоятельство, что индукция каспазного каскада осуществляется, в том числе, по внешнему пути, связанному с передачей апоптогенного сигнала через мембранные рецепторы смерти. Возможной причиной включения данного механизма мы считаем выраженное нарушение структурной целостности миокардиальных элементов, вызванное чрезмерной нагрузкой, падающей на ЛЖ при внезапно возникающем стенозе аорты. Данное повреждение, вызывая воспалительный ответ (отчетливые признаки воспаления были обнаружены нами при морфологическом исследовании), может привести к накоплению в миокарде активных молекул цитокинового семейства, включая те из них, которые являются триггерами апоптоза (ФНО- $\alpha$  и др.), в том числе для КМЦ [Haudek S.V. et al., 2007]. Недавно было установлено, что одним из медиаторов, играющих важную роль в развитии сердечной недостаточности, является ИЛ-1, который способствует снижению сократительной способности миокарда, потенцирует развитие гипертрофии миофибрилл и апоптоз КМЦ [Vujak M. et al., 2009].

Следует отметить, что при гемодинамической перегрузке ЛЖ, согласно данным S. Hnsho и соавт. (2009), происходит также увеличение продукции ИЛ-1 $\beta$ , обладающего антиапоптотным эффектом в отношении КМЦ и приводящего к развитию их гипертрофии. Результаты экспериментальных исследований тех же авторов свидетельствуют о том, что активация каспазы-3 в миокарде и, как следствие, усиление апоптоза КМЦ происходит при повышении постнагрузки ЛЖ лишь у мышей с наследственным дефицитом ИЛ-1 $\beta$ .

Следовательно, можно предположить, что вероятность интенсификации апоптотических процессов при нагрузочном повреждении

сердечной мышцы зависит, в том числе, от баланса проапоптозных и цитопротекторных медиаторов воспалительного ответа.

Вместе с тем, трудно с уверенностью сказать, является ли воспалительный механизм индукции каспазного каскада при острой перегрузке ЛЖ единственным, или он сочетается с активацией цистеиновых протеаз по внутреннему (митохондриальному) сигнальному пути. В некоторых исследованиях было показано, что при экспериментальной хронической перегрузке сердца различного генеза в КМЦ повышается активность как каспазы-8, так и каспазы-9 (опосредующей митохондриальный путь апоптоза) [Lee S.D. et al., 2006; Moorjani N. et al., 2006]. Однако на сегодняшний день в литературе нет данных относительно того, меняется ли активность указанных каспаз при острой перегрузке сердца. В качестве возможной причины активации митохондриального механизма можно рассматривать компенсаторное и при этом избыточное поступление в КМЦ ионов кальция, что, по утверждению X. Chen и соавт. (2005), с одной стороны ведет к повышению сократительной способности КМЦ, а с другой — вызывает индукцию апоптоза по внутреннему сигнальному пути.

Индукция апоптоза КМЦ при стенозировании восходящей аорты также может быть связана с высвобождением цитохрома С из митохондрий под влиянием протеина Nix/Bnip3L, активность которого, как показали исследования M.G. Yussman и соавт. (2002), повышается при гемодинамической перегрузке миокарда.

С целью выяснения возможных вариантов взаимосвязи между индукцией каспазного каскада и изменениями внутрисердечной гемодинамики при острой перегрузке ЛЖ мы провели корреляционный анализ по средним значениям между соответствующими показателями ЛЖ и ПЖ (табл. 5.12).

Таблица 5.12

**Корреляционные связи между показателями сократительной способности и активностью каспазы-3 при острой перегрузке левого желудочка**

Пары показателей	Коэффициент корреляции
Реальное ВД ЛЖ – активность каспазы-3 в ЛЖ	-0,9
Максимальное ВД ЛЖ – активность каспазы-3 в ЛЖ	-0,96
Реальное ВД ПЖ – активность каспазы-3 в ПЖ	-0,64
Максимальное ВД ПЖ – активность каспазы-3 в ПЖ	-0,66

Результаты корреляционного анализа свидетельствуют о том, что для процесса в целом существует сильная отрицательная связь между



реальным и максимально развиваемым ВД ЛЖ и активностью каспазы-3 в ЛЖ. На первый взгляд, имеются основания рассматривать два механизма, которыми можно объяснить данную связь: либо сократительная способность ЛЖ падает в результате апоптотической гибели КМЦ, обеспечиваемой каспазой-3, либо снижение сократительной активности миокарда ЛЖ становится причиной индукции каспазного каскада. Однако есть соображения, которые заставляют усомниться в существовании прямой взаимозависимости между установленными в ходе настоящего исследования явлениями. С одной стороны, судя по степени повышения активности каспазы-3 в ЛЖ, усиление апоптоза клеток миокарда происходит не настолько резко, чтобы за короткий срок привести к значительной потере числа КМЦ и, как следствие, вызвать выраженное снижение сократительной функции миокарда. С другой стороны, на сегодняшний день отсутствуют доказательства возможности индукции апоптоза КМЦ в результате снижения контрактильной активности сердечной мышцы. В этой связи представляется более убедительным следующее объяснение результатов корреляционного анализа по ЛЖ. Рассматриваемые нами явления могут быть связаны общим причинным фактором, в качестве которого следует в первую очередь рассматривать выраженную деструкцию миофибрилл.

Повышение активности каспазы-3 в ПЖ сердца представляется также вполне закономерным, поскольку при значительной перегрузке ЛЖ развивается застой крови в малом круге кровообращения, что приводит к увеличению нагрузки на миокард ПЖ. Однако в данном случае не происходит выраженного повреждения структурных элементов сердечной мышцы, в связи с чем при отсутствии воспалительной реакции апоптогенная сигнальная трансдукция реализуется лишь по внутреннему (митохондриальному) пути, о чем убедительно свидетельствует статистически незначимое отличие активности каспазы-8 в контроле и на 3-и сутки исследования. Возможно, именно это и обуславливает существование отрицательной корреляционной связи лишь средней силы между показателями сократительной способности ПЖ и активностью каспазы-3.

## **5.8. ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Подводя итоги изложенному в настоящей главе материалу, следует выделить некоторые результаты, имеющие, на наш взгляд, наиболее важное значение в свете изучаемой проблемы.

При острой перегрузке ЛЖ наблюдается увеличение длительности пульсовой волны, что можно объяснить нарушением биомеханических характеристик ЛЖ. Однако при АГ, в отличие от стенозирования восходящей аорты, уменьшается время появления волны отражения, что указывает на повышение жесткости стенки центральных артерий при хронической перегрузке ЛЖ и отсутствии подобных изменений при острой перегрузке.

Острая перегрузка ЛЖ приводит к значительному снижению сократительной активности и потенциальной работоспособности ЛЖ и ПЖ. При этом в ЛЖ на 3-и сутки происходит частичное восстановление уровня соответствующих показателей, а в ПЖ это характерно лишь для расчетных показателей, характеризующих его потенциальную работоспособность и ФР.

При стенозировании восходящей аорты происходит выраженное повреждение миокарда ЛЖ, сочетающееся с уменьшением объемной доли жизнеспособных миофибрилл и признаками воспалительного ответа (внеклеточный отек, увеличение суммарного просвета микрососудов и инфильтрация ткани лимфоцитами и гистиоцитами). Для ПЖ характерен лишь небольшой внутриклеточный отек в 1-е сутки исследования, а также умеренная деструкция миокарда, появляющаяся к 5-м суткам при отсутствии других значимых изменений.

По данным морфологического и иммуногистохимического исследования, в миокарде обоих желудочков сердца наблюдается достоверное увеличение интенсивности апоптоза КМЦ. Отличие заключается лишь в сроках: в ЛЖ апоптоз активизируется с 1-х суток эксперимента, а в ПЖ признаки усиления апоптоза появляются на 5-е сутки.

Полученные результаты подтверждаются и при биохимическом анализе: в миокарде обоих желудочков сердца определяется статистически значимое повышение активности каспазы-3, что свидетельствует об индукции апоптоза клеток миокарда. Данные биохимического исследования позволяют также проследить динамику активности ферментативных механизмов, ответственных за апоптоз. Так, в ЛЖ активность каспазы-3 повышается уже на 1-е сутки, сохраняется на данном уровне до 3-х суток и далее начинает снижаться. В ПЖ активация каспазы-3 происходит позже, начиная с 3-х суток, и остается достоверно выше контрольного уровня вплоть до 5-х суток эксперимента.

Активность каспазы-8 достоверно повышается в ЛЖ и не меняется в ПЖ, указывая на участие внешних сигнальных механизмов в реализации апоптотической гибели клеток в ЛЖ и на передачу апоптогенного сигнала лишь по внутреннему (митохондриальному) пути в ПЖ.

## **АПОПТОЗ И ГИПЕРТРОФИЯ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГЕМОДИНАМИЧЕСКОЙ ПЕРЕГРУЗКЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА**

---

### **6.1. АПОПТОТИЧЕСКИЕ И ГИПЕРТРОФИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В МИОКАРДЕ В ДИНАМИКЕ ВАЗОРЕНАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

Для верификации гипертонии у экспериментальных животных в остром эксперименте измерялось систолическое и диастолическое давление в сонной артерии. Полученные данные представлены в табл. 6.1.

*Таблица 6.1*

#### **Величина систолического и диастолического давления кроликов ( $M \pm m$ )**

<b>Показатель</b>	<b>Контроль</b>	<b>АГ 1 неделя</b>	<b>АГ 2 недели</b>	<b>АГ 4 недели</b>
АД сист., мм рт.ст.	126,8±1,9	160,0±4,9*	176,5±8,4*	177,3±7,7*
АД диаст., мм рт.ст.	111,4±2,4	131,5±2,2*	142,7±7,0*	154,4±7,6*

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

Анализ результатов показал, что уже через 1 нед после моделирования вазоренальной АГ систолическое и диастолическое АД у кроликов статистически значимо повышается и продолжает увеличиваться до конца 2-й нед. На этом сроке систолическое давление стабилизируется, в то время как диастолическое нарастает вплоть до 4 нед, когда отличие данного показателя от такового на 1-недельном сроке становится достоверным.

Таким образом, последующие исследования проводились на животных, имеющих достоверно более высокое АД, чем в контрольной группе.

### 6.1.1. АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ ВАЗОРЕНАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Активность апоптотических процессов в миокарде определялась двумя независимыми методиками: методом TUNEL, служащим для выявления сопровождающей апоптоз фрагментации ДНК, и биохимическим исследованием активности каспаз.

TUNEL представляет собой иммуногистохимический метод, при постановке которого ядра с фрагментированной ДНК окрашиваются в коричневый цвет. Для количественной оценки интенсивности ПКГ КМЦ определялся индекс апоптоза, представляющий собой отношение числа TUNEL-позитивных ядер к общему количеству ядер сердечных миоцитов в поле зрения.

В табл. 6.2 представлены результаты оценки фрагментации ДНК в КМЦ интактных кроликов и животных с 1, 2 и 4-недельной АГ.

Таблица 6.2

#### Индекс апоптоза кардиомиоцитов в желудочках сердца кроликов, % ( $M \pm m$ )

Желудочек	Контроль	1 неделя	2 недели	4 недели
Левый	4,74±0,46	7,84±0,76*	14,36±1,27*	31,97±1,04*
Правый	2,17±0,53	8,33±0,85*	7,31±0,60*	11,15±1,08*

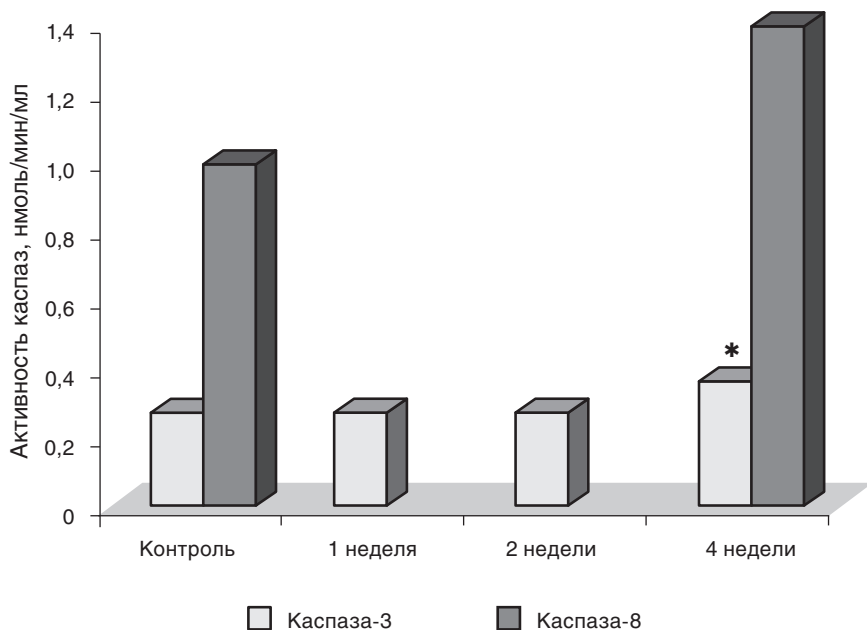
*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

Полученные данные демонстрируют статистически значимое повышение интенсивности апоптотической гибели клеток миокарда ЛЖ уже через неделю после моделирования АГ. Более того, индекс апоптоза продолжает увеличиваться вплоть до 4 нед, причем показатель достоверно отличается на всех сроках исследования.

В ПЖ индекс апоптоза у кроликов с однедельной АГ возрастает еще более существенно, нежели в ЛЖ, но остается на том же уровне на остальных сроках исследования с выраженной тенденцией к увеличению через 4 недели после моделирования патологического процесса.

Другой использованный метод, а именно оценка активности каспаз, обладает определенным преимуществом перед TUNEL, так как измерение активности каспазы-3 позволяет установить сам факт апоптоза и его интенсивность, а уровень активности инициаторной каспазы-8 — выявить путь апоптогенной сигнальной трансдукции.

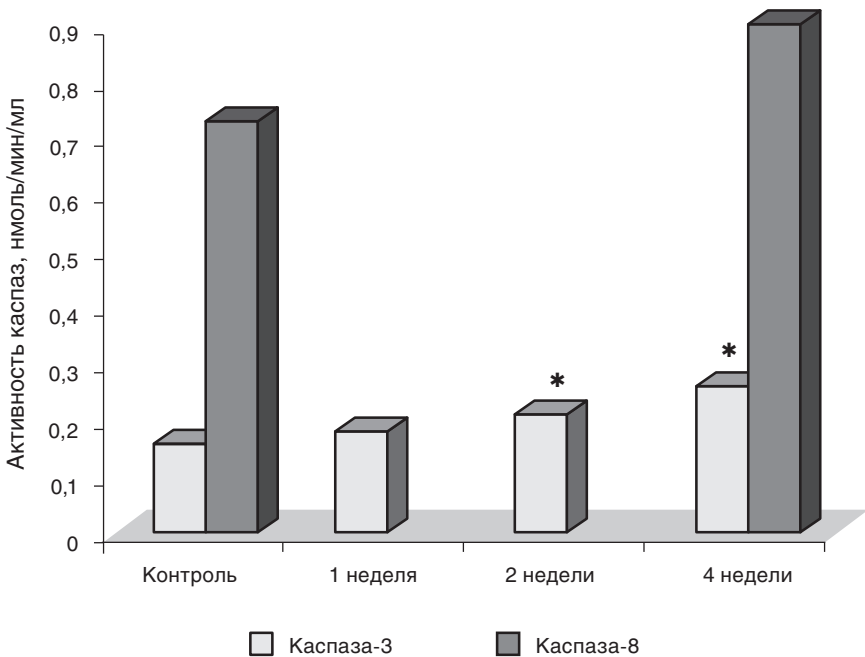
Результаты биохимического исследования активности каспазы-3 и каспазы-8 в ЛЖ сердец кроликов представлены на рис. 6.1. В тече-



**Рис. 6.1.** Активность каспаз в миокарде левого желудочка в динамике вазоренальной АГ. \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p \leq 0,05$

ние 2 нед после моделирования АГ отличий в активности каспазы-3 у контрольных и опытных животных обнаружено не было. Достоверное увеличение активности данного фермента в миокарде ЛЖ наблюдалось лишь у животных с 4-недельной АГ. Именно на этом сроке впоследствии определялась активность каспазы-8, и была выявлена выраженная тенденция к ее росту, однако отличие от контроля оказалось недостоверным.

При исследовании миокарда ПЖ (рис. 6.2) было обнаружено, что активность каспазы-3 достоверно увеличивается через 2 нед после моделирования АГ и сохраняется на том же уровне с некоторой тенденцией к повышению относительно предыдущего срока вплоть до 4 нед. Активность каспазы-8 определялась в миокарде кроликов с 4-недельной АГ, так как на этом сроке достигала максимальных значений активность каспазы-3. Как видно из представленной на рис. 6.2 диаграммы, результаты были аналогичны полученным в ЛЖ, т.е., несмотря на некоторое увеличение активности каспазы-8, статистически значимых отличий от контрольного уровня выявлено не было.



**Рис. 6.2.** Активность каспаз в миокарде правого желудочка в динамике вазоренальной АГ. \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p \leq 0,05$

Таким образом, результаты проведенных исследований дают основания утверждать, что вазоренальная АГ сопровождается повышением интенсивности апоптотических процессов в клетках миокарда обоих желудочков сердца. Обращает на себя внимание участие в реализации апоптоза КМЦ некаспазных механизмов, на что указывает повышение индекса апоптоза, предшествующее активации эффекторной каспазы-3. Отсутствие достоверного увеличения активности каспазы-8 позволяет предполагать преобладание внутреннего (митохондриального) пути апоптогенной сигнальной трансдукции.

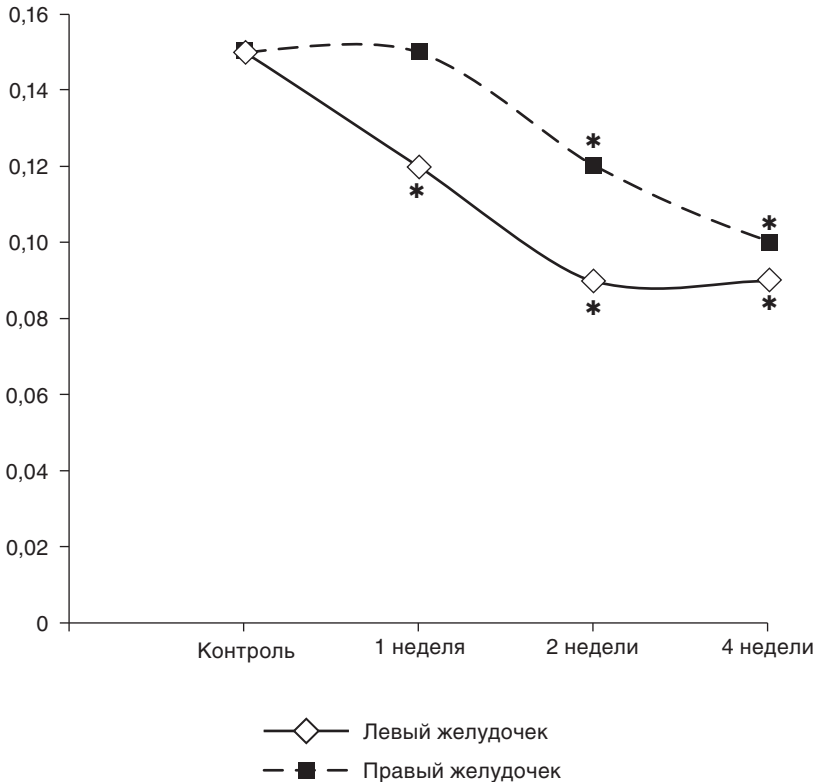
### 6.1.2. ГИПЕРТРОФИЯ МИОКАРДА В ДИНАМИКЕ ВАЗОРЕНАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Для оценки гипертрофических процессов в миокарде кроликов контрольной и опытных групп проводили исследование окрашенных

гематоксилином и эозином гистологических срезов миокарда желудочков сердца и вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) в КМЦ. Данный показатель обратно пропорционален степени гипертрофии миокарда, т.е. чем более выражена гипертрофия КМЦ, тем ниже значение ЯЦО.

Результаты оценки ЯЦО в желудочках сердца кроликов в динамике вазоренальной АГ и у интактных животных контрольной группы приведены на рис. 6.3.

При анализе полученных данных обращает на себя внимание несинхронность гипертрофических процессов в ЛЖ и ПЖ. У кроликов с вазоренальной АГ в ЛЖ уже через 1 нед после моделирования патологического процесса ЯЦО статистически значимо по сравнению с контролем снижается, что указывает на развивающуюся гипертрофию.



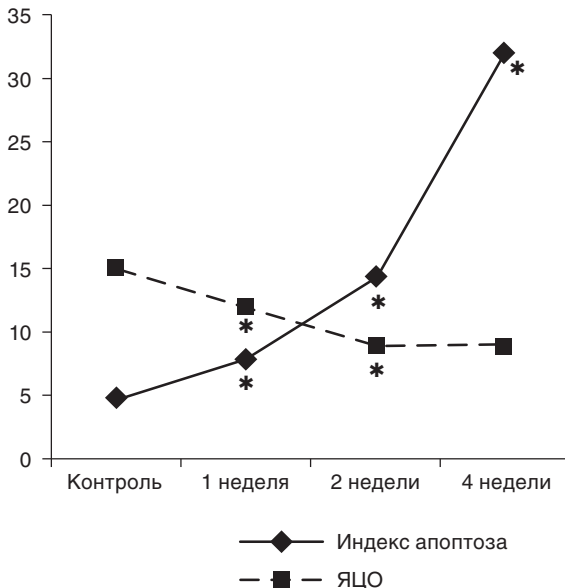
**Рис. 6.3.** Ядерно-цитоплазматическое отношение в кардиомиоцитах желудочков сердца кроликов. \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p \leq 0,05$

К 2-недельному сроку данный показатель достигает минимума и выходит на плато. В ПЖ гипертрофические процессы инициируются позже, и ЯЦО достоверно снижается у кроликов с 2-недельной АГ. У животных с 4-недельной АГ в ПЖ ЯЦО статистически значимо не отличается от соответствующего показателя на предыдущем сроке исследования, хотя и наблюдается тенденция к его снижению (рис. 6.3).

Следует отметить, что на последнем сроке исследования значения ЯЦО в ЛЖ и ПЖ выходят на одинаковый уровень, что также характерно и для контрольной группы.

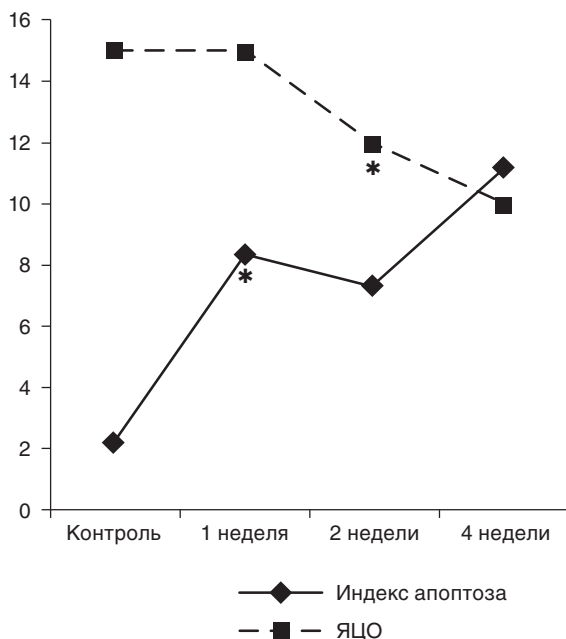
Для сравнения динамики апоптотических и гипертрофических процессов в миокарде желудочков при вазоренальной АГ, более удобно данные отображать в графическом виде (рис. 6.4). Для унификации единиц измерения значения ЯЦО были представлены в процентах, а не в долях единицы.

В течение первых 2 нед после моделирования АГ нарастание гипертрофии в ЛЖ сопровождалось усилением апоптотической гибели КМЦ, а к 4-недельному сроку, несмотря на стабилизацию ЯЦО, наблюдалось значительное возрастание индекса апоптоза.



**Рис. 6.4.** Динамика ядерно-цитоплазматического отношения (%) и индекса апоптоза (%) в левом желудочке при вазоренальной артериальной гипертензии. \* — показатель достоверно отличается от такового на предыдущем сроке исследования при  $p \leq 0,05$





**Рис. 6.5.** Динамика ядерно-цитоплазматического отношения (%) и индекса апоптоза (%) в правом желудочке при вазоренальной артериальной гипертензии. \* — показатель достоверно отличается от такового на предыдущем сроке исследования при  $p \leq 0,05$

В ПЖ (рис. 6.5) апоптотические процессы инициировались раньше гипертрофических, и индекс апоптоза резко возростал у кроликов с однедельной АГ, после чего показатель достоверно не изменялся. При этом ЯЦО значимо уменьшалось только через 2 нед после моделирования АГ, после чего также достоверно не изменялось.

Таким образом, несмотря на усиление апоптоза и увеличение степени гипертрофии миокарда при вазоренальной АГ, динамика процессов в ЛЖ и ПЖ существенно отличается.

## 6.2. АПОПТОТИЧЕСКИЕ И ГИПЕРТРОФИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В МИОКАРДЕ В ДИНАМИКЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

В связи с тем что более 90% случаев АГ представлены эссенциальной АГ, в чье формирование приблизительно равный вклад вносят генетические и средовые факторы, значительный интерес представляет исследование влияния генетически обусловленной гипертонии на апоптотическую гибель клеток миокарда. При изучении апоптоза КМЦ у пациентов с системной АГ исследователи сталкиваются с рядом ограничений, главным из которых является отсутствие возможности получения данных в группах сравнения. Таким образом, возникает необходимость планирования биологического эксперимента с использованием животных. Наиболее близким к первичной АГ человека и удобным для содержания и изучения объектом выступают спонтанно гипертензивные крысы линии SHR, полученные путем инбридинга с последующей селекцией по уровню АД.

Оценка апоптоза и гипертрофии сердечных миоцитов в динамике генетически обусловленной АГ проводилась в трех группах самцов крыс линии SHR разного возраста: 8 нед ( $n=11$ ), 15 нед ( $n=8$ ), 52 нед ( $n=8$ ). На первом сроке происходит становление гипертонии, на втором — стабилизация повышенного АД на постоянном уровне, третий характеризуется длительно существующей АГ. Контрольные группы численностью по 8 животных были представлены нормотензивными самцами крыс линии Wistar-Kyoto соответствующего возраста.

Систолическое и диастолическое АД крыс линий SHR и Wistar-Kyoto регистрировалось непрерывно методом телеметрического мониторинга в течение нескольких месяцев начиная с 15-недельного возраста. Но в связи с тем, что остальные исследования проводились только на 3-х сроках (8, 15 и 52 нед), в табл. 6.3 приведены данные, полученные для 15-недельных и годовалых животных. У крыс в возрасте 8 нед АД в представленной работе не измерялось, но согласно литературным данным кровяное давление у спонтанно гипертензивных крыс начинает увеличиваться с 4-недельного возраста, а к 15 нед выходит на плато [Dickhout J.G., Lee R.M., 1998; Цыпленкова В.Г. и др. 2006; Постнов Ю.В. и др., 2000]. Полученные в ходе эксперимента результаты подтверждают эти сведения, так как у годовалых крыс линии SHR, хотя и наблюдается некоторая тенденция к повышению АД, показатель достоверно от такового у 15-недельных животных не отличается (см. табл. 6.3).

Таблица 6.3

**Величина систолического и диастолического давления крыс ( $M \pm m$ )**

Показатель	15 нед		52 нед	
	контроль	SHR	контроль	SHR
АД сист., мм рт.ст.	117,7 $\pm$ 4,1	189,9 $\pm$ 4,1*	106,1 $\pm$ 2,0	201,0 $\pm$ 4,5*
АД диаст., мм рт.ст.	88,1 $\pm$ 3,8	136,2 $\pm$ 6,2*	75,9 $\pm$ 3,3	144,9 $\pm$ 4,4*

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .

**6.2.1. АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

Так же, как и в экспериментах с кроликами, интенсивность апоптотической гибели клеток миокарда нормотензивных и спонтанно гипертензивных крыс оценивалась методом TUNEL и биохимическим исследованием активности каспазы-3 и каспазы-8.

В табл. 6.4. представлены результаты оценки фрагментации ДНК в КМЦ крыс контрольных и опытных групп. Согласно этим данным, у спонтанно гипертензивных крыс в первые недели жизни интенсивность апоптоза КМЦ ЛЖ и ПЖ сердца значимо ниже, чем у нормотензивных животных, затем по мере развития АГ, индекс апоптоза возрастает и у 15-недельных животных становится достоверно выше контроля (см. табл. 6.4). Однако далее динамика процесса в ЛЖ и ПЖ отличается. В ЛЖ у годовалых крыс линии SHR индекс апоптоза снижается до контрольных значений, в то время как в ПЖ продолжает статистически значимо увеличиваться.

Таблица 6.4

**Индекс апоптоза кардиомиоцитов в желудочках сердца крыс, % ( $M \pm m$ )**

Возраст крыс, нед	Группа	ЛЖ	ПЖ
8	контроль	7,50 $\pm$ 0,73	3,81 $\pm$ 0,55
	SHR	4,95 $\pm$ 0,41*	2,05 $\pm$ 0,36*
15	контроль	10,12 $\pm$ 0,86	4,49 $\pm$ 0,85
	SHR	25,98 $\pm$ 0,94*	11,37 $\pm$ 0,85*
52	контроль	11,53 $\pm$ 0,90	7,44 $\pm$ 0,77
	SHR	10,23 $\pm$ 0,73	18,96 $\pm$ 1,14*

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p < 0,05$ .

Для исследования механизмов инициации и реализации ПКГ сердечных миоцитов в лизатах клеток миокарда обоих желудочков сердца определялась активность каспазы-3 и каспазы-8. Полученные для ЛЖ данные приведены в табл. 6.5.

Таблица 6.5

**Активность каспаз в миокарде левого желудочка крыс ( $M \pm m$ )**

Возраст крыс, нед	Группа	Каспаза-3, нмоль/мин/мл	Каспаза-8, нмоль/мин/мл
8	Контроль	0,22±0,03	Не определяли
	SHR	0,19±0,02	Не определяли
15	Контроль	0,18±0,02	1,06±0,13
	SHR	0,27±0,03*	1,61±0,06*
52	Контроль	0,13±0,02	Не определяли
	SHR	0,13±0,03	Не определяли

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

У 15-недельных спонтанно гипертензивных крыс наблюдалось достоверное повышение активности каспазы-3 по сравнению с контрольной группой животных соответствующего возраста. У 8-недельных и годовалых животных линии SHR отличий от контроля обнаружено не было. Определение активности каспазы-3, относящейся к казнящим каспазам, позволяет установить интенсивность апоптоза в изучаемой ткани. Однако для выявления механизма передачи апоптогенного сигнала необходимы дополнительные исследования. С этой целью в срок, когда активность каспазы-3 максимальна, т.е. 15 нед, была изучена активность каспазы-8, которая повышается в ответ на индукцию рецепторного пути запуска каспазного каскада. Как видно из табл. 6.6, у 15-недельных самцов SHR активность каспазы-8 в миокарде ЛЖ достоверно выше, чем у животных контрольной группы. Полученные результаты свидетельствуют об участии в инициации апоптоза КМЦ внешнего сигнального пути.

В рамках настоящего исследования также оценивалась активность каспазы-3 в миокарде ПЖ спонтанно гипертензивных крыс (табл. 6.6), но показатель ни на одном из сроков от контрольных значений не отличался, в связи с чем активность инициаторной каспазы-8 в ПЖ не исследовалась.

Таблица 6.6

**Активность каспазы-3 в миокарде правого желудочка крыс ( $M \pm m$ )**

Возраст крыс, нед	Группа	Каспаза-3, нмоль/мин/мл
8	Контроль	0,07±0,01
	SHR	0,09±0,01
15	Контроль	0,11±0,01
	SHR	0,10±0,01
52	Контроль	0,09±0,02
	SHR	0,07±0,01

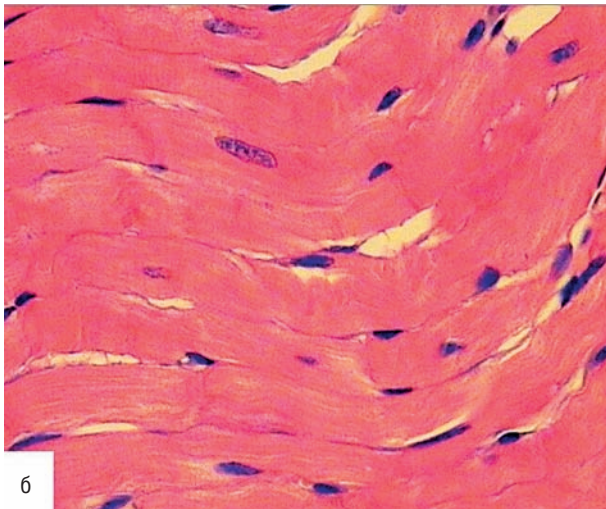
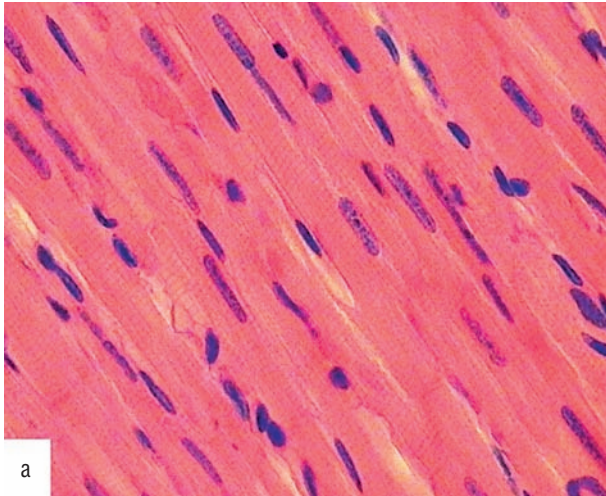
Сравнение результатов иммуногистохимической и биохимической оценки интенсивности апоптоза КМЦ желудочков сердца позволяет полагать, что в реализации гибели сердечных миоцитов, пик активности которой приходится на 15-недельный возраст, преобладают некаспазные эффекторы.

Таким образом, результаты гистохимического и биохимического исследования апоптоза КМЦ у спонтанно гипертензивных крыс показали достоверное повышение интенсивности ПКГ клеток миокарда в условиях генетически обусловленной АГ, причем в этом процессе задействованы как рецепторно-опосредованный, так и митохондриальный сигнальные пути. Вероятно, митохондриальный путь является основным, на что указывает отсутствие активации каспазы-8 в ПЖ.

### **6.2.2. ГИПЕРТРОФИЯ МИОКАРДА В ДИНАМИКЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

При гистологической оценке степени гипертрофии миокарда крыс было обнаружено, что в ЛЖ спонтанно гипертензивных крыс ЯЦО на всех сроках исследования было достоверно ниже контрольных значений, что подтверждает наличие гипертрофии миокарда, причем у 15-недельных животных с АГ данный показатель достигал минимума и выходил на плато (см. цветную вклейку рис. 6.6, табл. 6.7). В ПЖ 8- и 15-недельных крыс линии SHR ЯЦО также было статистически значимо ниже контроля, однако у годовалых гипертензивных и нормотензивных животных отличия не выявлены (см. табл. 6.7).

Экспериментальные данные указывают на усиление гипертрофических процессов в миокарде обоих желудочков сердца при генетически обусловленной АГ.



**Рис. 6.6.** Срезы миокарда левого желудочка сердца крыс, окрашенные эозином и гематоксилином (а — контроль 1 нед, б — SHR 15 нед)

Таблица 6.7

**Ядерно-цитоплазматическое отношение в кардиомиоцитах желудочков сердца крыс ( $M \pm m$ )**

Возраст крыс, нед	Группа	ЛЖ	ПЖ
8	Контроль	0,28±0,01	0,23±0,01
	SHR	0,17±0,01*	0,16±0,01*
15	Контроль	0,27±0,01	0,26±0,01
	SHR	0,11±0,01*	0,21±0,01*
52	Контроль	0,15±0,01	0,12±0,01
	SHR	0,11±0,01*	0,14±0,01

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

Обобщая результаты исследования миокарда животных с генетически обусловленной АГ, следует отметить, что максимальная активизация апоптотических и гипертрофических процессов наблюдается у гипертензивных крыс в возрасте 15 нед, причем они наиболее выражены в миокарде ЛЖ.

### **6.3. ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ФОСФОКРЕАТИНА НА АПОПТОЗ И ГИПЕРТРОФИЮ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА**

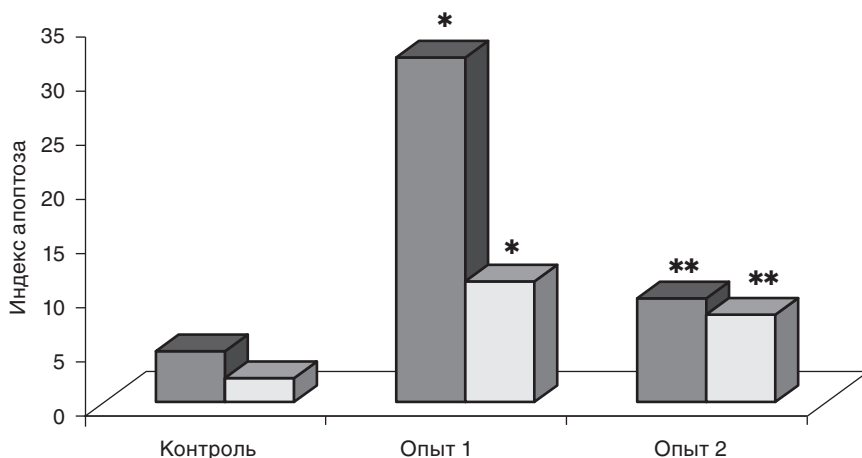
Результаты I серии эксперимента показали, что в условиях АГ различного генеза значительно усиливаются апоптотические и гипертрофические процессы в миокарде. II серия эксперимента была посвящена изучению факторов, ответственных за инициацию этих процессов в сердце.

Логично предположить, что факторами, индуцирующими апоптоз, должны быть нарушения неких ключевых процессов, ответственных за нормальное функционирование клетки, к числу которых можно отнести дефицит энергии. Для проверки этой гипотезы было проведено исследование апоптотической гибели КМЦ и гипертрофии миокарда после компенсации предполагаемого энергетического дефицита, вызванного перегрузкой миокарда, применением макроэргических соединений, к числу которых относится фосфокреатин.

### 6.3.1. ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ФОСФОКРЕАТИНА НА АПОПТОЗ И ГИПЕРТРОФИЮ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ВАЗОРЕНАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Для изучения влияния экзогенного фосфокреатина на миокард при вазоренальной АГ кроликам опытной группы начиная с 18 суток после моделирования патологического процесса в течение 10 дней 1 раз в сутки вводился внутримышечно фосфокреатин (неотон<sup>\*</sup>) в дозе 30 мг/кг массы тела животного. Выбор срока введения препарата обусловлен тем, что апоптотические и гипертрофические процессы достигают максимума у кроликов с 4-недельной АГ.

На рис. 6.7 приведены результаты исследования методом TUNEL интенсивности апоптоза КМЦ кроликов контрольной и опытных групп.



**Рис. 6.7.** Индекс апоптоза кардиомиоцитов в желудочках сердца кроликов, %. \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p \leq 0,05$ ; \*\* — показатель достоверно отличается от контроля и опыта 1 при  $p \leq 0,05$ . Опыт 1 — животные с 4-недельной АГ, не получавшие лечения (данные I серии эксперимента), опыт 2 — кролики с вазоренальной АГ, леченые фосфокреатином (неотон<sup>\*</sup>)

Применение фосфокреатина (неотона<sup>\*</sup>) приводит к достоверному снижению индекса апоптоза КМЦ ЛЖ, однако данный показатель остается значимо выше, чем в контрольной группе. В ПЖ фосфокреатин (неотон<sup>\*</sup>) оказывает такое же действие на интенсивность апоптотических процессов, как и в ЛЖ, хотя его эффект не столь резко выражен.



Для изучения механизмов реализации ПКГ сердечных миоцитов, на которые влияет фосфокреатин, у животных, получавших лечение, также была измерена активность каспазы-3. Активность каспазы-8 не оценивалась, так как у кроликов с 4-недельной АГ данный показатель не отличался от контроля. Результаты исследования представлены в табл. 6.8.

Таблица 6.8

**Активность каспазы-3 в миокарде желудочков сердца кроликов ( $M \pm m$ )**

Показатель	ЛЖ		ПЖ	
	контроль	АГ 4 нед + фосфокреатин (неотон*)	контроль	АГ 4 нед + фосфокреатин (неотон*)
Каспаза-3, нмоль/мин/мл	0,23±0,02	0,23±0,02	0,2±0,02	0,21±0,02

Полученные данные свидетельствуют о том, что введение фосфокреатина гипертензивным животным снижает до контрольных значений интенсивность каспазозависимых апоптотических процессов в миокарде обоих желудочков сердца.

В настоящей работе было также исследовано действие фосфокреатина (неотона\*) на формирование гипертрофии миокарда. Как видно из табл. 6.9, ЯЦО в КМЦ обоих желудочков сердца при введении препарата не меняется и остается достоверно ниже контрольных значений, указывая на наличие гипертрофии.

Таблица 6.9

**Ядерно-цитоплазматическое отношение в кардиомиоцитах желудочков сердца кроликов ( $M \pm m$ )**

Желудочек	Контроль	Опыт 1: АГ 4 нед	Опыт 2: АГ 4 нед + фосфокреатин (неотон*)
Левый	0,15±0,01	0,09±0,01 *	0,09±0,01 *
Правый	0,15±0,01	0,10±0,01 *	0,09±0,01 *

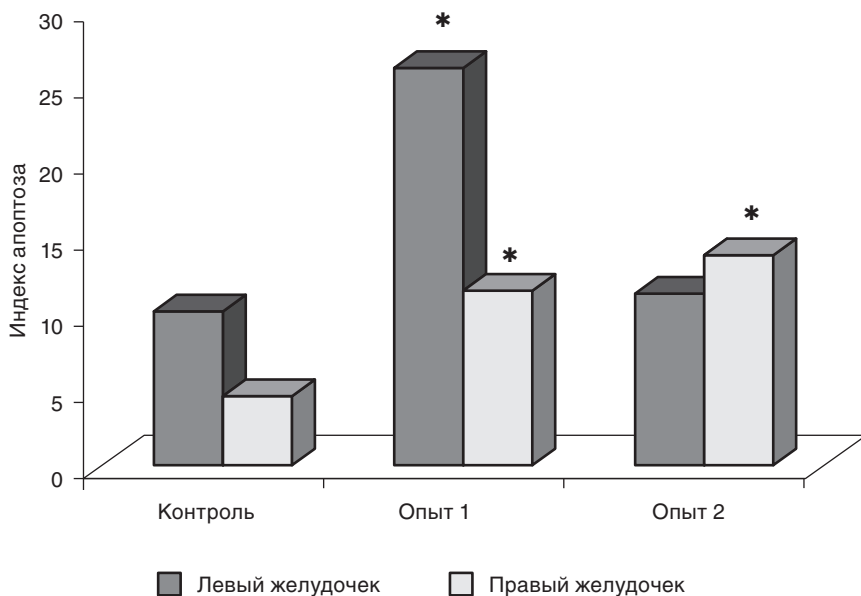
*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

### 6.3.2. ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ФОСФОКРЕАТИНА НА АПОПТОЗ И ГИПЕРТРОФИЮ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Для определения влияния фосфокреатина на апоптоз и гипертрофию КМЦ при генетически обусловленной АГ во II серии эксперимента крысам опытной группы за 10 дней до достижения ими 15-недельного возраста начинали ежедневное внутривнутреннее введение фосфокреатина (неотона\*) в дозе 30 мг/кг массы тела животного. Выбор срока введения препарата был обусловлен тем, что апоптотические и гипертрофические процессы достигают максимума у 15-недельных спонтанно гипертензивных животных.

Численность контрольной группы составляла 6, а опытной — 9 животных.

На рис. 6.8 представлены значения индекса апоптоза в исследованных группах крыс.



**Рис. 6.8.** Индекс апоптоза кардиомиоцитов в желудочках сердца крыс, %. \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p \leq 0,05$ . Опыт 1 — 15-недельные крысы линии SHR, не получавшие лечения (данные I серии эксперимента), опыт 2 — 15-недельные крысы линии SHR, леченные фосфокреатином (неотоном\*)

Результаты II серии эксперимента показали, что фосфокреатин (неотон<sup>®</sup>) препятствует повышению индекса апоптоза КМЦ ЛЖ у спонтанно гипертензивных крыс и поддерживает данный показатель на уровне контроля. В ПЖ препарат не оказал влияния на интенсивность апоптотических процессов, о чем свидетельствует отсутствие достоверного изменения индекса апоптоза у спонтанно гипертензивных крыс, которым вводили фосфокреатин (неотон<sup>®</sup>), по сравнению с животными той же линии, не получавшими лечения.

При исследовании влияния фосфокреатина на звенья каспазного каскада было обнаружено, что у спонтанно гипертензивных крыс после введения фосфокреатина (неотона<sup>®</sup>) сохраняется значимо повышенной активностью рецептор-зависимой инициаторной каспазы-8, в то время как активность эффекторной каспазы-3 не отличается от контроля (табл. 6.10).

Таблица 6.10

**Активность каспазы-3 и каспазы-8 в миокарде желудочков сердца крыс (M±m)**

Показатель	ЛЖ		ПЖ	
	контроль	SHR 15 нед + фосфокреатин (неотон <sup>®</sup> )	контроль	SHR 15 нед + фосфокреатин (неотон <sup>®</sup> )
Каспаза-3, нмоль/мин/мл	0,20±0,03	0,23±0,03	0,16±0,02	0,17±0,02
Каспаза-8, нмоль/мин/мл	0,51±0,10	0,95±0,10*	Не определяли	Не определяли

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ .

Исходя из полученных результатов можно говорить о подавлении эффекторных звеньев апоптотической программы у крыс линии SHR при введении животным макроэргических соединений.

В связи с возможной ролью апоптоза как фактора, лимитирующего развитие гипертрофии миокарда, было также изучено влияние фосфокреатина (неотона<sup>®</sup>) на степень гипертрофии КМЦ желудочков сердца спонтанно гипертензивных крыс. В табл. 6.11 приведены данные, полученные при исследовании ЯЦО в КМЦ крыс контрольной и опытных групп.

Согласно полученным результатам, ЯЦО в КМЦ ЛЖ при введении фосфокреатина (неотона<sup>®</sup>) не меняется и остается достоверно ниже

Таблица 6.11

**Ядерно-цитоплазматическое отношение в кардиомиоцитах желудочков сердца крыс ( $M \pm m$ )**

Желудочек	Контроль	Опыт 1	Опыт 2
Левый	0,27±0,01	0,11±0,01*	0,12±0,01*
Правый	0,26±0,01	0,21±0,01*	0,17±0,01**

*Примечание:* \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p < 0,05$ , \*\* — показатель достоверно отличается от контроля и опыта 1 при  $p < 0,05$ . Опыт 1 — 15-недельные крысы линии SHR, не получавшие лечения (данные I серии эксперимента), опыт 2 — 15-недельные крысы линии SHR, леченые фосфокреатином (неотом®).

контрольных значений, указывая на развивающуюся гипертрофию. В ПЖ препарат также не предупреждает развитие гипертрофии, более того ЯЦО даже значимо ниже, чем у гипертензивных животных, не получавших лечения. Данный показатель соответствует характерному для 8-недельных спонтанно гипертензивных крыс (см. табл. 6.7).

Обобщая результаты исследования влияния экзогенного фосфокреатина на КМЦ при АГ различного генеза, можно говорить о выраженной супрессии апоптотических процессов, реализующихся с участием митохондриального пути сигнальной трансдукции. Препарат не оказывает влияния как на внешний сигнальный путь инициации ПКГ, о чем свидетельствует сохранение повышенной активности каспазы-8 в ЛЖ спонтанно гипертензивных крыс, так и на гипертрофию миокарда.

#### **6.4. ВЛИЯНИЕ ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА (МЕКСИДОЛА®) НА АПОПТОЗ И ГИПЕРТРОФИЮ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА**

Известно, что одним из факторов, способствующих индукции апоптоза в различных клетках, является окислительный стресс. В КМЦ при АГ он может быть вызван как нарушением работы дыхательной цепи митохондрий, так и действием гуморальных факторов, в том числе АТ II, в связи с чем эффективным способом медикаментозной регуляции апоптотической гибели клеток миокарда может быть применение антиоксидантов. В настоящей работе выбор был остановлен на препарате отечественного производства — мексидоле®, представляющем комплекс сукцината с этилметилгидроксипиридином. Данный пре-

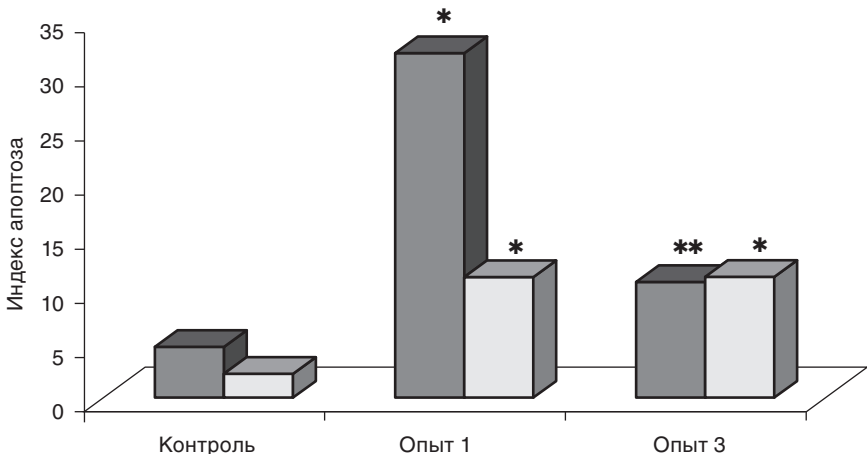
парат обладает двойным действием: сукцинат, входящий в его состав, способствует повышению синтеза АТФ, а этилметилгидроксипиридин придает ему антиоксидантные свойства. Таким образом, мексидол\* должен быть эффективен как в условиях энергетического дефицита, так и окислительного стресса.

#### 6.4.1. ВЛИЯНИЕ ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА (МЕКСИДОЛА\*) НА АПОПТОЗ И ГИПЕРТРОФИЮ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ВАЗОРЕНАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Для изучения влияния этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола\*) на миокард при вазоренальной АГ кроликам опытной группы начиная с 18-х суток после моделирования патологического процесса, в течение 10 дней 1 раз в сутки данный препарат вводился внутримышечно, в дозе 5 мг/кг массы тела животного.

На рис. 6.9 приведены результаты исследования методом TUNEL интенсивности апоптоза КМЦ кроликов контрольной и опытных групп.

Анализ полученных данных показал, что мексидол\* подобно фосфокреатину (неотону\*) достоверно снижает индекс апоптоза КМЦ ЛЖ,



**Рис. 6.9.** Индекс апоптоза кардиомиоцитов в желудочках сердца кроликов, %. \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p \leq 0,05$ ; \*\* — показатель достоверно отличается от контроля и опыта 1 при  $p \leq 0,05$ . Опыт 1 — животные с 4-недельной АГ, не получавшие лечения (данные I серии эксперимента), опыт 3 — кролики с вазоренальной АГ, леченые этилметилгидроксипиридина сукцинатом (мексидолом\*)

но при этом показатель остается значимо выше контрольного уровня. Однако в ПЖ этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол<sup>®</sup>) в отличие от фосфокреатина (неотона<sup>®</sup>) на интенсивность апоптотической гибели не влияет, и она сохраняется на уровне, характерном для гипертензивных животных, не получавших лечения.

Исследование влияния этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола<sup>®</sup>) на активность эффекторной каспазы-3 показало, что препарат препятствует активации каспазы-3 в ЛЖ и снижает активность данного фермента в миокарде ПЖ, что подтверждается отсутствием достоверных отличий между значениями данного показателя в контроле и у животных, получавших лечение (табл. 6.12).

Таблица 6.12

#### Активность каспазы-3 в миокарде желудочков сердца кроликов (M±m)

Показатель	ЛЖ		ПЖ	
	контроль	АГ 4 нед + этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол <sup>®</sup> )	контроль	АГ 4 нед + этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол <sup>®</sup> )
Каспаза-3, нмоль/мин/мл	0,23±0,02	0,23±0,02	0,20±0,02	0,16±0,03

Определение ЯЦО у кроликов с вазоренальной АГ после применения этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола<sup>®</sup>) показало, что препарат не влияет на гипертрофические процессы в миокарде обоих желудочков, так как значение показателя сохраняется на уровне, характерном для животных с 4-недельной АГ, не получавших лечения (табл. 6.13).

Таблица 6.13

#### Ядерно-цитоплазматическое отношение в кардиомиоцитах желудочков сердца кроликов (M±m)

Желудочек	Контроль	Опыт 1	Опыт 3
Левый	0,15±0,01	0,09±0,01*	0,09±0,01*
Правый	0,15±0,01	0,10±0,01*	0,10±0,01*

*Примечание:* звездочкой отмечены показатели, достоверно отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ . Опыт 1 — животные с 4-недельной АГ, не получавшие лечения (данные I серии эксперимента), опыт 3 — кролики с вазоренальной АГ, леченные этилметилгидроксипиридина сукцинатом (мексидолом<sup>®</sup>).

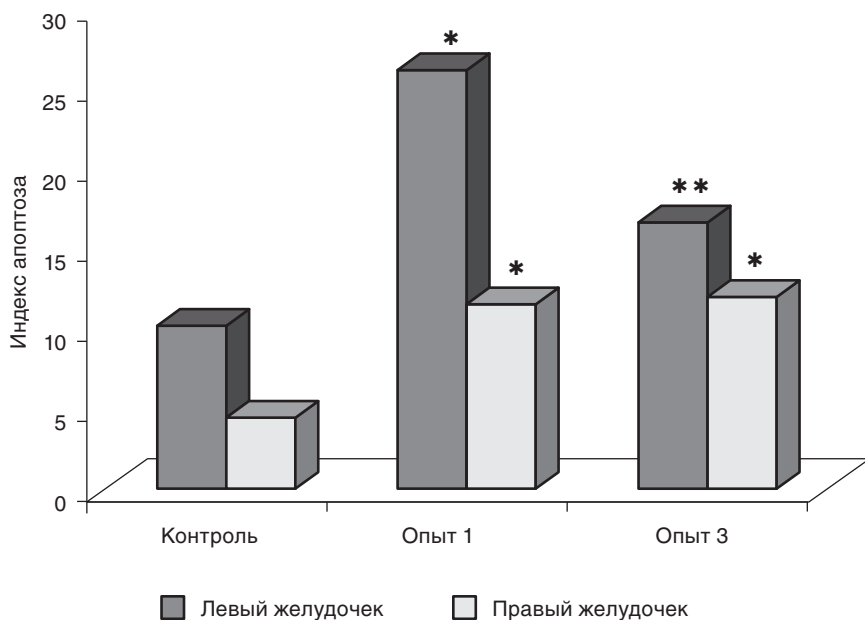
Таким образом, при вазоренальной АГ этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол<sup>▲</sup>) значительно снижает интенсивность апоптоза в ЛЖ и подавляет активацию каспазного каскада в обоих желудочках сердца, но в то же время не оказывает никакого эффекта на развивающуюся гипертрофию миокарда.

#### **6.4.2. ВЛИЯНИЕ ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА (МЕКСИДОЛА<sup>▲</sup>) НА АПОПТОЗ И ГИПЕРТРОФИЮ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

Для определения влияния этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола<sup>▲</sup>) на апоптоз и гипертрофию КМЦ при генетически обусловленной АГ во II серии эксперимента крысам опытной группы за 10 дней до достижения ими 15-недельного возраста начинали ежедневное внутривнутрибрюшинное введение препарата в дозе 5 мг/кг массы тела животного.

Результаты оценки фрагментации ДНК в КМЦ показали, что при применении этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола<sup>▲</sup>) индекс апоптоза клеток миокарда ЛЖ статистически значимо ниже, чем у опытных животных, не получавших лечения, но достоверно выше контрольного уровня. В ПЖ препарат не оказывает влияния на индекс апоптоза, значение которого остается на уровне, свойственном спонтанно гипертензивным крысам в отсутствие лечения (рис. 6.10).

Результаты биохимического исследования активности каспаз-3 и -8 в миокарде спонтанно гипертензивных крыс после лечения этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола<sup>▲</sup>) и контрольных животных приведены в табл. 6.14. Отсутствие во II серии эксперимента достоверных отличий в активности каспазы-3 в миокарде ЛЖ у животных контрольной и опытной групп указывает на способность этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола<sup>▲</sup>) предупреждать повышение интенсивности каспазозависимой апоптотической гибели клеток миокарда при генетически обусловленной АГ. Более того, у крыс линии SHR этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол<sup>▲</sup>) в ЛЖ препятствует активации рецепторного сигнального пути индукции ПКГ, что подтверждается отсутствием статистически значимого увеличения активности каспазы-8 в миокарде ЛЖ. Активность каспазы-3 в ПЖ, как и в отсутствие лечения, находится на контрольном уровне, в связи с этим измерения активности каспазы-8 не производились.



**Рис. 6.10.** Индекс апоптоза кардиомиоцитов в желудочках сердца крыс, %. \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p \leq 0,05$ ; \*\* — показатель достоверно отличается от контроля и опыта 1 при  $p \leq 0,05$ . Опыт 1 — 15-недельные крысы линии SHR, не получавшие лечения (данные I серии эксперимента), опыт 3 — 15-недельные крысы линии SHR, леченые этилметилгидроксипиридина сукцинатом (мексидолом<sup>®</sup>)

Таблица 6.14

**Активность каспазы-3 и каспазы-8 в миокарде желудочков сердца крыс ( $M \pm m$ )**

Показатель	ЛЖ		ПЖ	
	контроль	SHR 15 нед + этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол <sup>®</sup> )	контроль	SHR 15 нед + этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол <sup>®</sup> )
Каспаза-3, нмоль/мин/мл	0,20±0,03	0,23±0,03	0,16±0,02	0,15±0,02
Каспаза-8, нмоль/мин/мл	0,51±0,10	0,76±0,09	Не определяли	Не определяли



Исследование ЯЦО, отражающего степень гипертрофии, в КМЦ крыс контрольной и опытных групп выявило, что лечение этилметилгидроксипиридина сукцинатом (мексидолом<sup>\*</sup>) спонтанно гипертензивных крыс сопровождается достоверным повышением ЯЦО в ЛЖ, однако показатель остается значимо ниже, чем в контроле и соответствует таковому у 8-недельных крыс SHR (табл. 6.15, см. табл. 6.7). Полученные данные указывают на способность препарата вызывать частичную супрессию гипертрофических процессов в миокарде ЛЖ. В ПЖ, напротив, значение ЯЦО при введении этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола<sup>\*</sup>) становится еще ниже, чем в отсутствие лечения и также соответствует характерному для 8-недельных спонтанно гипертензивных крыс (см. табл. 6.15).

Таблица 6.15

**Ядерно-цитоплазматическое отношение в кардиомиоцитах  
желудочков сердца крыс (M±m)**

Желудочек	Контроль	Опыт 1	Опыт 3
Левый	0,27±0,01	0,11±0,01*	0,15±0,01**
Правый	0,26±0,01	0,21±0,01*	0,18±0,01**

*Примечание:* \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p \leq 0,05$ , \*\* — показатель достоверно отличается от контроля и опыта 1 при  $p \leq 0,05$ .

Опыт 1 — 15-недельные крысы линии SHR, не получавшие лечения (данные I серии эксперимента), опыт 3 — 15-недельные крысы линии SHR, леченые этилметилгидроксипиридина сукцинатом (мексидолом<sup>\*</sup>).

Таким образом, при АГ различного генеза применение этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола<sup>\*</sup>) достоверно снижает в ЛЖ интенсивность апоптоза КМЦ. В отличие от фосфокреатина данный препарат подавляет не только митохондриальный, но и рецепторно-опосредованный сигнальный путь, на что указывает снижение активности инициаторной каспазы-8 в миокарде ЛЖ спонтанно гипертензивных крыс. Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола<sup>\*</sup>) на гипертрофические процессы в миокарде неоднозначно: в ЛЖ крыс линии SHR они значимо подавляются, в то время, как в миокарде ПЖ спонтанно гипертензивных крыс и обоих желудочков сердца кроликов с вазоренальной АГ изменений не наблюдается.

## **6.5. ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ ЕТА-РЕЦЕПТОРОВ НА АПОПТОЗ И ГИПЕРТРОФИЮ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

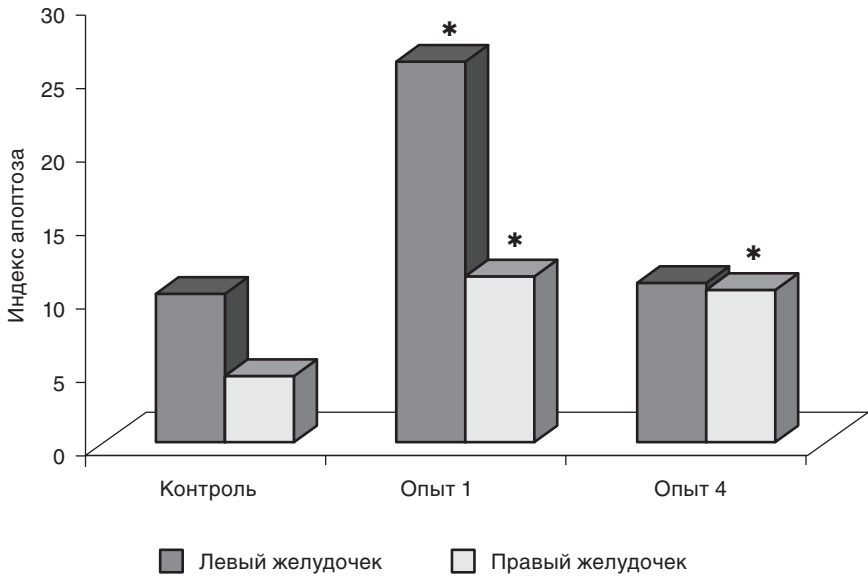
Как известно, АГ представляет мультифакториальный синдром, развитие которого опосредовано сложным комплексом нейрогуморальных механизмов. В последние годы особое внимание исследователей привлекает ЕТ-1, влияние которого на сердечно-сосудистую систему определяется типом взаимодействующего с ним рецептора. Так, ЕТА-рецептор, присутствующий в гладкомышечных клетках кровеносных сосудов и дыхательных путей, КМЦ и некоторых других клетках, опосредует вазоконстрикцию и клеточную пролиферацию, создавая условия для усиления процессов апоптотической гибели и гипертрофии клеток миокарда. В этой связи можно предположить, что применение антагонистов ЕТА-рецепторов будет способствовать снижению АД, уменьшению гипертрофии и опосредованно воздействовать на ПКГ сердечных миоцитов.

Для определения влияния блокады ЕТА-рецепторов на апоптоз и гипертрофию КМЦ при генетически обусловленной АГ во II серии эксперимента крысам опытной группы за 10 дней до достижения ими 15-недельного возраста начинали ежедневное внутрибрюшинное введение ВQ-123, являющегося селективным антагонистом ЕТА-рецепторов, в дозе 100 нмоль/кг массы тела животного.

Оценка интенсивности апоптоза методом TUNEL показала, что введение ВQ-123 спонтанно гипертензивным крысам предупреждает активацию апоптотических процессов в миокарде ЛЖ, что подтверждается отсутствием достоверных отличий в индексе апоптоза у контрольной и опытной группы 4 во II серии эксперимента (рис. 6.11).

В ПЖ-блокада ЕТА-рецепторов значимого влияния на интенсивность апоптоза КМЦ не оказывает.

Данные, полученные при оценке активности каспаз после применения ВQ-123, представлены в табл. 6.16. Выявлено, что в условиях блокады ЕТА-рецепторов в ЛЖ предупреждается активация ферментов каспазного каскада, на что указывает отсутствие статистически достоверных отличий в активности каспазы-3 и каспазы-8 между контрольными животными и крысами линии SHR, получавшими ВQ-123. Активность каспазы-3 в ПЖ сохраняется на контрольном уровне как без лечения, так и после введения данного препарата.



**Рис. 6.11.** Индекс апоптоза кардиомиоцитов в желудочках сердца крыс, %. \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p \leq 0,05$ . Опыт 1 — 15-недельные крысы линии SHR, не получавшие лечения (данные I серии эксперимента), опыт 4 — 15-недельные крысы линии SHR, леченые BQ-123

Таблица 6.16

**Активность каспазы-3 и каспазы-8 в миокарде желудочков сердца крыс ( $M \pm m$ )**

Показатель	ЛЖ		ПЖ	
	контроль	SHR 15 нед + BQ-123	контроль	SHR 15 нед + BQ-123
Каспаза-3, нмоль/мин/мл	0,22±0,03	0,18±0,02	0,11±0,01	0,10±0,01
Каспаза-8, нмоль/мин/мл	0,59±0,07	0,52±0,10	Не определяли	Не определяли

В табл. 6.17 приведены данные, полученные при исследовании ЯЦО, отражающего степень гипертрофии, в КМЦ крыс контрольной и опытных групп.

Таблица 6.17

**Ядерно-цитоплазматическое отношение в кардиомиоцитах желудочков сердца крыс ( $M \pm m$ )**

Желудочек	Контроль	Опыт 1	Опыт 4
Левый	0,27±0,01	0,11±0,01*	0,17±0,01**
Правый	0,26±0,01	0,21±0,01*	0,22±0,01*

*Примечание:* \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p < 0,05$ , \*\* — показатель достоверно отличается от контроля и опыта 1 при  $p < 0,05$ . Опыт 1 — 15-недельные крысы линии SHR, не получавшие лечения (данные I серии эксперимента), опыт 4 — 15-недельные крысы линии SHR, леченые ВQ-123.

Согласно полученным результатам, блокада ETA-рецепторов сопровождается подавлением гипертрофических процессов в миокарде ЛЖ, о чем свидетельствует достоверное повышение ЯЦО у крыс после применения ВQ-123. Следует отметить, что показатель сохраняется на уровне, характерном для 8-недельных крыс SHR. На степень гипертрофии миокарда ПЖ препарат влияния не оказывает.

## **6.6. О ВОЗМОЖНЫХ МЕХАНИЗМАХ ИНИЦИАЦИИ И РЕАЛИЗАЦИИ АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА**

Апоптоз представляет собой генетически детерминированный механизм клеточной гибели, инициируемый в ответ на внутриклеточные или внешние стимулы. Будучи физиологическим феноменом, данный способ элиминации клеток участвует в обеспечении тканевого гомеостаза и развития организма. Однако не менее важна роль апоптоза в формировании и прогрессировании патологических процессов. Так, многие наблюдения показывают, что ПКГ КМЦ относится к ключевым факторам, способствующим развитию сердечной недостаточности [Бершова Т.В. и др., 2009; Lee Y., Gustafsson A.B., 2009]. Учитывая, что сердечно-сосудистые заболевания являются одной из основных причин смертности во всем мире, важнейшей медико-биологической проблемой стало выявление механизмов индукции и реализации апоптоза клеток миокарда с целью разработки медикаментозных способов регуляции данного процесса.

### **6.6.1. ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ АПОПТОТИЧЕСКОЙ ГИБЕЛИ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА**

В представленной работе было проведено сравнительное исследование апоптотической гибели КМЦ при генетически обусловленной и вторичной АГ. Вторичная АГ моделировалась у самцов кроликов породы шиншилла путем сужения брюшной аорты на 1/3 над местом отхождения от нее почечных артерий, при котором развивающаяся ишемия почек приводила к устойчивому повышению АД. Сроками забора материала для оценки апоптоза КМЦ являлись 1, 2 и 4 нед после перенесенной операции. В качестве модели эссенциальной АГ были взяты самцы спонтанно гипертензивных крыс линии SHR в возрасте 8 нед (стадия становления гипертензии), 15 нед (стабилизация повышенного АД на постоянном уровне) и 52 нед (длительно существующая АГ). Контрольные группы животных были представлены нормотензивными крысами линии Wistar-Kyoto соответствующего возраста и пола и интактными кроликами.

Интенсивность апоптоза КМЦ оценивалась двумя независимыми методиками. Метод TUNEL использовался для выявления фрагментированной ДНК, результаты выражались в виде индекса апоптоза, представляющего собой отношение числа TUNEL-позитивных ядер КМЦ к общему количеству ядер КМЦ в поле зрения. Колориметрическим методом исследовалась активность каспаз в миокарде подопытных животных. Как известно, каспазы бывают иницирующие и эффекторные (казнящие) [Olsson M., Zhivotovsky B., 2011]. К первой группе относится каспаза-8, ко второй — каспаза-3. В большинстве работ обычно определяется только активность каспазы-3, так как на ней пересекаются различные пути запуска апоптотической гибели, и ее активация свидетельствует о наличии апоптоза. В настоящее исследование было введено и определение активности каспазы-8, что позволило, помимо выявления наличия апоптотической гибели как таковой, определить пути, вовлеченные в апоптогенную сигнальную трансдукцию, так как активация каспазы-8 указывает на рецепторно-опосредованную инициацию процесса.

При исследовании миокарда кроликов с вазоренальной АГ было выявлено статистически значимое повышение индекса апоптоза КМЦ ЛЖ уже через неделю после моделирования АГ и его дальнейшее увеличение вплоть до четырех недель. В ПЖ интенсивность апоптотической гибели КМЦ у кроликов с однедельной АГ возрастала еще более существенно, нежели в ЛЖ, но оставалась на том же уровне на

остальных сроках исследования с выраженной тенденцией к увеличению через 4 нед после моделирования АГ. Исследование активности каспазы-3 показало достоверное ее повышение в ЛЖ лишь к 4-недельному, а в ПЖ — к 2-недельному сроку. Таким образом, АГ почечного генеза стимулирует апоптоз КМЦ в обоих желудочках, причем в ПЖ на начальных стадиях процесса активация апоптоза происходит более стремительно, чем в ЛЖ, что можно объяснить различиями в ультраструктуре и метаболических процессах в ЛЖ и ПЖ сердца [Казанская Т.А., Фролов В.А., 1995]. Полученные результаты позволяют предполагать существенную роль в реализации ПКГ КМЦ некаспазных механизмов, активирующихся раньше каспазного каскада. Как известно, независимыми от каспаз факторами, вызывающими фрагментацию ДНК, являются высвобождающиеся из митохондрий АИФ и эндонуклеаза G [Li L.Y. et al., 2001; Kim G.T. et al., 2003]. Отсутствие активации каспазы-8 в миокарде кроликов с вазоренальной АГ указывает на формирование в данном случае внутриклеточного апоптогенного сигнала.

Вероятно, фактором, создающим условия для усиления ПКГ, в данном случае выступает возникающая в результате АГ хроническая перегрузка ЛЖ. В проведенных ранее исследованиях на самцах кроликов с острой перегрузкой ЛЖ, вызванной сужением восходящей аорты, также было обнаружено достоверное увеличение активности каспазы-3 в миокарде ЛЖ, однако индукция каспазного каскада осуществлялась по рецепторно-опосредованному пути. Это позволяет предположить, что апоптоз выступает неспецифической реакцией миокарда на развивающуюся перегрузку, и отличия касаются лишь способов инициации процесса. Острая перегрузка приводит к повреждению структурных элементов сердечной мышцы, что сопровождается развитием воспалительной реакции и, как следствие, активацией каспазы-8. При медленно развивающейся перегрузке, обусловленной АГ, воспаление отсутствует, и рецепторный механизм не участвует в индукции ПКГ. В этой связи интересны результаты, полученные при изучении активности каспаз в миокарде ПЖ при острой перегрузке ЛЖ. В данном случае нагрузка на миокард ПЖ развивается не столь резко и вызывается застоем крови в малом круге кровообращения. Как оказалось, активация апоптоза при этом происходит по митохондриальному пути, т.е. так же, как и при хронической перегрузке, обусловленной повышением АД.

При АГ почечного генеза на клетки миокарда действует комплекс апоптогенных стимулов. Ишемия почек сопровождается активацией ренин-ангиотензиновой системы, что приводит к увеличению выработки АТ II, который, как известно, наряду с выраженным прессор-

ным эффектом, обладает способностью индуцировать апоптоз КМЦ [Ravassa S. et al., 2000]. Также индукторами ПКГ клеток миокарда могут выступать механический стресс, вызванный хронической перегрузкой ЛЖ сердца, и энергодефицит, обусловленный возрастанием потребления клетками АТФ вследствие увеличившейся нагрузки на сердечную мышцу и развивающейся гипертрофии миокарда [Fortuno M.A. et al., 2001; Kushnareva Y., Newmeyer D.D., 2010].

Гипертрофические процессы в сердце имеют мультифакториальную природу и инициируются перегрузкой миокарда, а также АТ II, оказывающим на КМЦ как прямое ростовое действие, так и опосредованное через стимуляцию секреции ЕТ-1 [Bernardo V.C. et al., 2010]. В данной работе было определено ЯЦО в КМЦ в динамике вазоренальной АГ, отражающее степень гипертрофии миокарда. В ЛЖ уже через неделю после моделирования АГ статистически значимо по сравнению с контролем снижается ЯЦО, что указывает на наличие гипертрофии, к 2-недельному сроку данный показатель достигает минимума и выходит на плато. В ПЖ гипертрофические процессы инициируются позже, и ЯЦО достоверно снижается у кроликов с 2-недельной АГ. У животных с 4-недельной АГ в ПЖ ЯЦО статистически значимо не отличается от аналогичного показателя на предыдущем сроке исследования, хотя и наблюдается тенденция к его снижению. Из полученных результатов следует, что при вазоренальной АГ гипертрофия представляет собой реакцию миокарда на хроническую перегрузку, обусловленную повышением АД. Несмотря на то что КМЦ относятся к клеткам с ограниченным пролиферативным потенциалом, ростовые факторы могут не только активировать гипертрофические процессы, но и стимулировать вступление некоторых сердечных миоцитов в митотический цикл, который может, не завершаясь цитокинезом, приводить к появлению многоядерных клеток или полиплоидизации ядра [Гудкова А.Я., Шляхто Е.В., 2008]. Вполне возможно, что в этом случае может наблюдаться альтернативный механизм апоптотической гибели КМЦ, сопровождающийся элиминацией некоторых ядер путем их экстррузии в межклеточное пространство и выживанием клетки в целом [Фролов В.А. и др., 2009]. Сравнение динамики интенсивности апоптоза КМЦ и степени гипертрофии миокарда позволяет предполагать, что развивающаяся гипертрофия вносит вклад в индукцию апоптотических процессов в ЛЖ, но не оказывает значимого влияния на ПКГ клеток миокарда ПЖ, так как усиление ПКГ КМЦ в ПЖ при вазоренальной АГ предшествует формированию гипертрофии.

У спонтанно гипертензивных крыс в первые недели жизни интенсивность апоптоза КМЦ ЛЖ и ПЖ сердца значимо ниже, чем у нор-

мотензивных животных, затем по мере развития АГ индекс апоптоза возрастает и у 15-недельных животных становится достоверно выше контроля. Однако далее динамика процесса в ЛЖ и ПЖ отличается. В ЛЖ у годовалых крыс линии SHR индекс апоптоза снижается до контрольных значений, в то время как в ПЖ продолжает увеличиваться. Отсутствие отличий по исследуемому показателю в ЛЖ у годовалых крыс опытной и контрольной групп свидетельствует о том, что длительно существующая хроническая перегрузка сердца перестает оказывать апоптогенное действие, что, возможно, обусловлено формированием определенных адаптационных механизмов, причем более эффективных, чем в ПЖ. Анализ отечественной и зарубежной литературы показал, что на протяжении последних двух десятилетий активно проводятся исследования, доказывающие повышение интенсивности апоптоза в миокарде спонтанно гипертензивных крыс, но следует отметить, что среди них крайне мало работ, посвященных динамике этого процесса. Более того, имеющиеся немногочисленные данные весьма противоречивы. Так, согласно одним из них, интенсивность апоптоза начинает достоверно повышаться с 4-недельного возраста, выходит на плато к 16-й неделе и сохраняется на столь же высоком уровне вплоть до 64-й недели [Liu J.J. et al., 2000]. Согласно другим сведениям, интенсивность апоптотической гибели КМЦ у 30-недельных крыс SHR значимо выше, чем у 16-недельных [Diez J. et al., 1997]. Наиболее близки к нашим результатам данные Р. Hamet и соавт. (1996), показывающие, что у новорожденных крыс SHR в течение первых недель жизни интенсивность апоптоза клеток миокарда ниже, чем у нормотензивных животных, затем по мере развития АГ она резко возрастает, а после 24 нед падает до контрольных значений. Но в любом случае выраженная корреляция между уровнем апоптоза и значением АД у спонтанно гипертензивных животных отсутствует.

При оценке активности каспазы-3 в ЛЖ у крыс линии SHR было обнаружено достоверное повышение показателя по сравнению с нормотензивными животными, однако в ПЖ отличий от контроля ни на одном из сроков исследования установлено не было. В ЛЖ 15-недельных крыс линии SHR также было выявлено достоверное повышение активности каспазы-8, указывающее на активацию рецепторно-опосредованного пути индукции апоптоза. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что у спонтанно гипертензивных крыс к моменту выхода АД на плато, что происходит к 15–16-недельному возрасту, усиливается апоптоз клеток миокарда обоих желудочков. При этом в инициации ПКГ в ЛЖ участвует рецепторный путь, на что указывает значимое повышение активности каспазы-8. Однако нельзя



полностью исключать возможность участия в процессе и митохондриального (внутреннего) механизма запуска апоптоза. Исходя из результатов, полученных при исследовании активности каспазы-3 в миокарде ПЖ спонтанно гипертензивных крыс, можно предположить, что апоптотическая гибель КМЦ в ПЖ крыс SHR реализуется без участия каспазного каскада. Таким образом, данные исследования миокарда спонтанно гипертензивных крыс подтверждают предположение о значительной роли при АГ некаспазных механизмов гибели КМЦ.

В связи с бытующим мнением о том, что ПКГ первоначально является защитным механизмом, направленным на ограничение гиперплазии и гипертрофии миокарда [Hamet P., 2001], нами определялось ЯЦО в миокарде у гипертензивных и контрольных животных. В ЛЖ спонтанно гипертензивных крыс ЯЦО на всех сроках исследования было достоверно ниже контрольных значений, что подтверждает наличие гипертрофии миокарда, причем у 15-недельных животных с АГ данный показатель достигает минимума и выходит на плато. В ПЖ 8- и 15-недельных крыс линии SHR ЯЦО статистически значимо ниже контроля, однако, у годовалых гипертензивных и нормотензивных животных отличий не обнаружено. Исходя из полученных результатов можно предположить, что влияние гипертрофии миокарда на апоптотическую гибель КМЦ более значимо в ЛЖ, так как прекращение ее нарастания в ЛЖ сопровождается падением индекса апоптоза до контрольных значений. В ПЖ корреляции между интенсивностью апоптоза и степенью гипертрофии миокарда не наблюдается. Таким образом, у крыс с АГ гипертрофические процессы в миокарде начинаются в первые недели жизни на фоне снижения апоптотической гибели КМЦ. Существуют литературные данные, показывающие, что гипертрофия миокарда у крыс линии SHR развивается раньше, чем формируется АГ [Hamet P., 2001]. Более того, проведенные в ходе ряда исследований скрещивания спонтанно гипертензивных и нормотензивных крыс показали независимость генетических детерминант, определяющих АД и гипертрофию миокарда [Innes V.A. et al., 1998; Постнов А.Ю. и др., 2003]. В этом существенное отличие данной модели от рассмотренной ранее вазоренальной АГ у кроликов, при которой гипертрофия миокарда является результатом вызванной АГ гемодинамической перегрузки сердца. Опираясь на полученные нами результаты и данные других исследователей, показывающие, что ростовые стимулы, активируя разные киназы, оказывают на апоптотическую гибель КМЦ противоположный эффект [Bishopric N.H. et al., 2001; Bernardo B.C. et al., 2010], можно предположить, что сигнальные пути, опосредующие развитие гипертрофии миокарда у крыс линии SHR, по крайней мере на началь-

ных этапах ее развития, также подавляют ПКГ. Однако по мере дальнейшего развития гипертрофии и повышения АД, индукторы апоптоза начинают преобладать над его супрессорами, стимулируя гибель КМЦ, причем в ЛЖ и ПЖ апоптогенные сигналы, видимо, отличаются.

### **6.6.2. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ДЕФИЦИТ КАК ВОЗМОЖНЫЙ ФАКТОР ИНДУКЦИИ АПОПТОЗА КЛЕТОК МИОКАРДА ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

При АГ триггерами апоптотической программы в КМЦ могут выступать различные факторы, включая механические силы, окислительный стресс, гипоксию, хроническое персистирование ростовых факторов и т.д. Однако механические силы нельзя считать основным индуктором апоптоза сердечных миоцитов в связи с отсутствием выраженной корреляции между интенсивностью процесса и уровнем АД у крыс. В результате повышения АД развивается хроническая перегрузка сердца, при которой в КМЦ возможен умеренный дефицит энергии, обусловленный как возрастанием потребления клетками АТФ вследствие увеличившейся нагрузки на сердечную мышцу и развивающейся гипертрофии миокарда, так и некоторой гипоксией ткани, вызванной изменением коронарного кровотока [Frohlich E.D., 2001]. Недостаток восполнения энергии в клетках может также стать результатом кальциевой перегрузки митохондрий, приводящей к разобщению дыхательной цепи и окислительного фосфорилирования [Постнов Ю.В., 2004]. Дефицит АТФ, в свою очередь, нарушает работу ионных насосов и, наряду с кальциевой перегрузкой, способствует снижению мембранного потенциала митохондрий и, как следствие, открытию пор и высвобождению проапоптотических факторов [Chen X. et al., 2005; Gustafsson A.B., Gottlieb R.A., 2008; Lemasters J.J. et al., 2009]. Таким образом, гипоксия и последующее изменение энергетического баланса клетки могут играть роль в нарушении равновесия между выживанием и гибелью сердечных миоцитов [Depre C., Taegtmeyer H., 2000]. При этом способ клеточной гибели зависит от степени несоответствия энергетических потребностей клетки и продукции энергии в митохондриальном окислительном фосфорилировании [Kushnareva Y., Newmeyer D., 2010]. Так, было обнаружено, что временное и обратимое снижение содержания АТФ в клетках стимулирует их апоптотическую гибель, реализующуюся через активацию белка p53, формирование апоптосомы и индукцию каспазного каскада [Samali A. et al., 2007; Li G.Y. et al., 2009], в то время как значительное уменьшение клеточных запасов АТФ вызывает некроз. Данное явление может быть объяснено

тем, что сами апоптотические процессы являются энергозависимыми, и их осуществление затрудняется в условиях выраженного энергетического дефицита.

Для выявления возможной вовлеченности энергетического дефицита в индукцию апоптоза КМЦ нами было исследовано влияние неотона\*, действующим веществом которого является макроэргическое соединение фосфокреатин, на индекс апоптоза и активность каспаз у животных с АГ различного генеза. Было обнаружено, что данный препарат предотвращает активацию каспазы-3 как при вазоренальной АГ у кроликов, так и у спонтанно гипертензивных крыс, но не влияет на активность каспазы-8, повышение которой наблюдается в ЛЖ 15-недельных крыс линии SHR. Исходя из полученных результатов можно сделать следующие предположения: возможно, что при восстановлении энергетического баланса клетки подавляется активность каспазы-3 без изменения активности каспазы-8, либо, что более вероятно, эффекторная каспаза у крыс линии SHR активируется как внешним, так и внутриклеточным апоптогенными сигналами, причем в условиях повышенного АД именно внутриклеточный сигнал является преобладающим и индуцируется энергетическим дефицитом. Последнее предположение подтверждается и результатами, полученными при исследовании миокарда кроликов с вазоренальной АГ, в котором активация каспазы-3 ответ на повышение АД осуществляется только по митохондриальному пути, и применение фосфокреатина снижает ее активность до контрольных значений.

Индекс апоптоза в ЛЖ и ПЖ кроликов опытной группы при введении фосфокреатина (неотона\*) значимо снижался, но был достоверно выше контрольных значений, что указывает на существенную роль энергетического дефицита при индукции ПКГ КМЦ у кроликов с вазоренальной АГ, но при этом в инициацию процесса вовлечены и другие триггеры клеточной гибели. В ЛЖ крыс линии SHR фосфокреатин (неотон\*) снижал индекс апоптоза до контрольного уровня, но не влиял на соответствующий показатель в ПЖ. Следовательно, механизмы инициации апоптотической гибели КМЦ в ПЖ и ЛЖ спонтанно гипертензивных крыс отличаются, и нарушение энергетического баланса индуцирует ПКГ сердечных миоцитов только в ЛЖ. Вероятно, это обусловлено большей васкуляризацией и лучшим кровоснабжением миокарда ПЖ [Казанская Т.А., Фролов В.А., 1995], вследствие чего в нем не развивается столь выраженный энергодефицит, как в ЛЖ.

В рамках настоящего исследования также было изучено влияние фосфокреатина (неотона\*) на степень гипертрофии КМЦ желудочков сердца спонтанно гипертензивных крыс и кроликов с вазоренальной

АГ. Согласно полученным результатам, ЯЦО в КМЦ ЛЖ в обеих экспериментальных моделях при введении фосфокреатина (неотона<sup>®</sup>) остается достоверно ниже контрольных значений, указывая на развивающуюся гипертрофию, в то время как интенсивность апоптоза под действием того же препарата значительно снижается. Таким образом, можно предположить, что гипертрофия наряду с сопутствующей АГ перегрузкой сердечной мышцы может вносить определенный вклад в формирование энергодефицита в КМЦ ЛЖ, но при введении экзогенных источников энергии перестает оказывать апоптогенное действие. Вопрос о влиянии гипертрофии на апоптоз КМЦ в ПЖ остается открытым, так как у крыс линии SHR значения ЯЦО и индекса апоптоза под влиянием фосфокреатина (неотона<sup>®</sup>) не изменяются, а у кроликов с вазоренальной АГ, хотя и наблюдается снижение индекса апоптоза, эффект препарата не столь выражен, как в ЛЖ.

### **6.6.3. РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ИНИЦИИИ АПОПТОТИЧЕСКОЙ ГИБЕЛИ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

Роль свободнорадикального повреждения клеточных структур в формировании и развитии патологических процессов в сердечно-сосудистой системе изучается уже много лет. Идея о взаимосвязи окислительного стресса и АГ появилась в 1960-х гг. [Romanowska A. et al., 1960]. Аргументом в ее пользу было обнаружение повышенного содержания АФК у животных с АГ различного генеза [Rajagopalan S. et al., 1996; Touyz R.M., 2004; Grande M.T. et al., 2011] и уменьшение величины АД после применения антиоксидантов [Montezano A.C., Touyz R.M., 2012]. Формирование окислительного стресса при гипертензии связано как с деятельностью дыхательной цепи митохондрий [Chen Q. et al., 2003; Turrens J.F., 2003], так и активируемой АТ II НАДФ-оксидазы [Pollock D.M., 2005]. В связи со способностью АФК индуцировать апоптоз [Скулачев В.П., 2001] можно предполагать их участие в инициации наблюдаемой при АГ ПКГ сердечных миоцитов.

Для проверки данной гипотезы животным опытных групп вводился препарат мексидол<sup>®</sup>, действующим веществом которого является этилметилгидроксипиридина сукцинат. Данный препарат, являясь производным 3-оксипиридина, обладает выраженными антиоксидантными свойствами, а сукцинат, входящий в его состав, будучи субстратом цикла Кребса, стимулирует синтез АТФ. Таким образом, он может способствовать уменьшению как энергетического дефицита, так и интенсивности окислительного стресса.

Оказалось, что в миокарде кроликов с вазоренальной АГ этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол\*), так же как и фосфокреатин (неотон\*), предотвращает активацию каспазы-3, а также значительно снижает индекс апоптоза в ЛЖ, хотя данный показатель продолжает оставаться выше контроля. Однако при этом препарат не влияет на интенсивность апоптоза в ПЖ. Индекс апоптоза в ЛЖ крыс линии SHR также снижается под влиянием этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола\*), но остается значительно выше контроля. В ПЖ гипертензивных крыс, как и в предыдущем эксперименте, лечение эффекта не оказало. Следовательно, сукцинат, в отличие от фосфокреатина, не может полностью компенсировать энергодефицит, формирующийся в КМЦ ЛЖ спонтанно гипертензивных крыс и ПЖ кроликов с вазоренальной АГ, что, возможно, обусловлено нарушением функций митохондрий на уровне дыхательной цепи. Безусловный интерес вызывает тот факт, что при введении этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола\*) спонтанно гипертензивным крысам предотвращается активация не только каспазы-3, но и каспазы-8, что указывает на окислительный стресс как возможный индуктор рецепторно-опосредованной передачи апоптогенного сигнала.

Исследование ЯЦО после применения этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола\*) показало, что при вазоренальной АГ препарат в обоих желудочках сердца не влияет на степень гипертрофии миокарда. Таким образом, этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол\*), так же как и фосфокреатин (неотон\*), снижая интенсивность апоптоза, не оказывают влияния на гипертрофические процессы в миокарде при АГ почечного генеза. Следовательно, можно говорить о том, что при компенсации энергетического дефицита и ослаблении окислительного стресса в КМЦ, гипертрофия миокарда перестает оказывать апоптогенное действие.

Лечение спонтанно гипертензивных крыс этилметилгидроксипиридина сукцинатом (мексидолом\*) приводит к статистически значимому повышению ЯЦО в КМЦ ЛЖ, но при этом оно остается достоверно ниже контроля, что указывает на наличие умеренного антигипертрофического эффекта данного препарата. Это, в свою очередь, свидетельствует об участии окислительного стресса в развитии гипертрофии ЛЖ у спонтанно гипертензивных крыс, причем, как было отмечено выше, причиной окислительного стресса является не только энергетический дефицит. В ПЖ введение этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола\*) не предупреждает развитие гипертрофии, на что указывает значимое снижение ЯЦО. Полученные данные еще раз подтверждают тот факт, что индукторы гипертро-

фических процессов, также как и апоптоза, в ПЖ и ЛЖ спонтанно гипертензивных крыс отличаются.

#### **6.6.4. ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ВЛИЯНИЯ ЭНДОТЕЛИНА-1 НА АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

ЕТ представляют собой группу биологически активных веществ пептидной природы, являющихся важнейшими регуляторами деятельности сердечно-сосудистой системы. Из соединений этой группы наибольший интерес на сегодняшний день представляет ЕТ-1. Активировать его синтез в организме могут гипоксия, АТ II, адреналин, ФНО- $\alpha$ , некоторые ростовые факторы и др. [Willey K.E., Davenport A.P., 2001; Stow L.R. et al., 2011]. ЕТ-1, взаимодействуя с ЕТА-рецептором, приводит к сужению кровеносных сосудов и гипертрофии миокарда [Brunner F. et al., 2006], что может опосредованно стимулировать ПКГ КМЦ. Также известно, что данный пептид способен активировать НАДФ-оксидазу, внося таким образом вклад в продукцию АФК и усиление апоптотических процессов [Chen D.D. et al., 2012]. В этой связи было исследовано влияние ВQ-123, относящегося к селективным антагонистам ЕТА-рецепторов, на апоптоз КМЦ 15-недельных спонтанно гипертензивных крыс. Было обнаружено, что введение ВQ-123 предупреждает повышение индекса апоптоза и активацию инициаторной каспазы-8 и эффекторной каспазы-3 в миокарде ЛЖ. При исследовании миокарда ПЖ изменений в интенсивности апоптоза под влиянием блокады ЕТА-рецепторов выявлено не было. Отличия результатов, полученных при исследовании ЛЖ и ПЖ сердца, могут быть обусловлены существенной ролью паракринного и аутокринного действия ЕТ-1, вырабатываемого КМЦ ЛЖ. Это предположение подтверждается литературными данными, показывающими, что содержание ЕТ-1 в крови у крыс линии SHR незначительно отличается от нормы [Li J.S., Schiffrin E.L., 1995], в то время как при перегрузке миокарда повышается интенсивность синтеза ЕТ-1 в КМЦ ЛЖ, а в ПЖ данный показатель остается неизменным [Brunner F. et al., 2006]. Полученные результаты позволяют полагать, что ЕТ-1 способствует индукции ПКГ клеток миокарда ЛЖ при АГ.

Нельзя исключать того, что апоптогенное действие данного пептида обусловлено, в том числе, и его вазоконстрикторными свойствами, а также участием в развитии гипертрофии миокарда. При введении крысам линии SHR препарата ВQ-123 ЯЦО в ЛЖ значительно повышается, но остается достоверно ниже контрольных значений, что, по-видимому,

связано с влиянием других факторов, способствующих развитию гипертрофии, ведущим из которых, является АГ II [Paul M. et al., 2006; Kohan D.E. et al., 2011]. Следует отметить, что блокада ЕТА-рецепторов не влияет на формирование гипертрофии ПЖ. Таким образом, еще раз подтверждается гипотеза об отличии механизмов, инициирующих апоптоз и гипертрофию КМЦ в ЛЖ и ПЖ сердца при АГ.

Поиск новых методов профилактики и лечения патологии сосудов и сердца по-прежнему входит в число важнейших задач современного здравоохранения как в РФ, так и во всем мире. При этом значительные усилия экспериментальной и клинической медицины направлены на совершенствование фармакотерапии АГ, которая в настоящее время остается одной из основных причин заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний.

Опираясь на полученные в настоящем исследовании результаты, а также литературные данные, можно говорить о значительном усилении апоптотических процессов в КМЦ в условиях АГ. Следовательно, применение препаратов, снижающих интенсивность ПКГ сердечных миоцитов, может стать важным слагаемым профилактики и лечения ХСН при АГ различного генеза.

Проведенные эксперименты продемонстрировали, что макроэргические препараты, антиоксиданты и селективные антагонисты ЕТА-рецепторов оказывают определенный ингибирующий эффект на различные звенья апоптотической программы. Анализ полученных данных выявил, что применяемые препараты оказали наибольший эффект на общую интенсивность апоптоза, выраженную в виде показателя индекс апоптоза, причем фосфокреатин (неотон\*) и этилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол\*) обладали сходным действием на исследуемые признаки. В то же время наименьшее влияние со стороны проводимой терапии испытал параметр ЯЦО, отражающий степень гипертрофии миокарда.

Сравнение результатов показало, что использованные препараты большее влияние оказывают на миокард ЛЖ, причем эффективность фосфокреатина (неотона\*) и ВQ-123 приблизительно равна. Следует отметить, что, несмотря на сходное действие фосфокреатина (неотона\*) и этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола\*), последний наименее эффективен по влиянию на комплекс исследованных признаков.

Таким образом, испытания и внедрение в клиническую практику макроэргических препаратов, компенсирующих развивающийся при АГ в миокарде ЛЖ энергетический дефицит, причем желательно в комбинации с антиоксидантами, либо соединений, блокирующих действие ЕТ-1, могут стать основой нового подхода к лечению сердечно-сосуди-

стых заболеваний и профилактике их последствий, направленного на ограничение апоптотической гибели и гипертрофии КМЦ.

## 6.7. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ данных проведенного исследования позволяет говорить об усилении апоптоза КМЦ на фоне выраженных изменений морфофункционального состояния сердца, наблюдаемых при воспроизведении различных моделей патологических процессов.

Очевидно, что принципиально отличающиеся друг от друга типы альтерации сердца сопровождаются включением одной общей реакции — индукции апоптоза КМЦ обоих желудочков. Вместе с тем отсутствие синхронности в интенсификации апоптотической гибели, а также существенные отличия в характере функциональных и структурных изменений при разных видах патологического воздействия на сердце заставляют задуматься о существовании определенных особенностей в реализации внутриклеточных механизмов в каждом конкретном случае.

Таким образом, подтверждается предположение о том, что усиление апоптоза КМЦ имеет неспецифический характер. При этом необходимо учитывать, что некоторые конкретные механизмы, ответственные за возникновение, передачу и амплификацию апоптогенных стимулов в КМЦ, могут отличаться. Представляется, что данная реакция необходима, для того чтобы элиминировать из миокарда поврежденные и функционально неполноценные клетки и тем самым, во-первых, предупредить развитие вторичных заболеваний, в частности аутоиммунных процессов, а во-вторых, оптимально перераспределить нагрузку на функционирующие элементы сердечной мышцы.

Одним из ключевых триггеров апоптоза сердечных миоцитов ЛЖ является энергетический дефицит. Определенный вклад в активацию апоптогенной сигнальной трансдукции, особенно ее рецепторного пути, вносит окислительный стресс. При генетически обусловленной АГ фактором, способствующим индукции апоптотической гибели клеток миокарда, является ET-1. Результаты исследования триггеров апоптоза КМЦ открывают новые возможности для разработки способов медикаментозной супрессии данного процесса в условиях патологии сердечно-сосудистой системы. Следует отметить, что основные механизмы инициации и реализации ПКГ в ПЖ отличаются таковых в ЛЖ и требуют дальнейшего изучения.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Амосова Е.И., Ширококов В.П., Корнюшенко О.Н. К вопросу о роли вирусов Коксаки группы В в этиологии дилатационной кардиомиопатии // Терапевтический архив. — 1990. — № 3. — С. 107–110.

2. Амосова Е.Н. Кардиомиопатии. — Киев: Книга Плюс, 1999. — 421 с.

3. Андреева Н.Н. Экспериментальные и клинические аспекты применения мексидола при гипоксии // Медицинский альманах. — 2009. — № 4. — С. 193–197.

4. Андреева Н.Н., Мухина И.В., Соловьева Т.И. Влияние мексидола на состав и перекисное окисление липидов миокарда в постреанимационном периоде // Общая реаниматология. — 2005. — Т. 1. — № 2. — С. 26–30.

5. Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т. Эпидемиология и прогноз хронической сердечной недостаточности // Русский медицинский журнал. — 1999. — Т. 7. — № 2. — С. 51–55.

6. Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Данилогорская Ю.А. и др. Оксидативный стресс при хронической сердечной недостаточности. Возможности фармакологической коррекции // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. — 2009. — Т. 1. — № 2. — С. 4–9.

7. Белушкина Н.Н. Контроль процесса апоптоза белками семейства Bcl-2 // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2000. — № 4. — С. 9–16.

8. Белушкина Н.Н., Северин С.Е. Молекулярные основы патологии апоптоза // Архив патологии. — 2001. — Т. 63. — № 1. — С. 51–60.

9. Бершова Т.В., Монаенкова С.В., Гасанов А.Г. Патогенетическое значение апоптоза кардиомиоцитов при сердечной недостаточности // Педиатрия. — 2009. — Т. 88. — № 1. — С. 147–154.

10. Билибин Д.П. Функциональная диафферентация — типовая реакция альтерированного сердца. : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1987.

11. Бойцов С.А., Дерюгин М.В. Современные возможности диагностики неревматических миокардитов // Consilium Medicum. — 2002. — Т. 4. — № 3. — С. 117–124.

12. Бойцов С.А., Дерюгин М.В., Сухов В.Ю. Клиническая оценка данных скintiграфии с аутолейкоцитами, меченными 99-МТС-ГМПАО, у больных с малосимптомными неревматическими миокардитами // Кардиология. — 2001. — № 11. — С. 48–52.

13. Борисенко В.Г., Губарева Е.А., Каде А.Х. Реакции миокарда на ишемию // Терапевтический архив. — 2010. — № 3. — С. 64–66.

14. Бра М., Квинан Б., Сузин С.А. Митохондрии в программированной гибели клетки: различные механизмы гибели // Биохимия. — 2005. — Т. 70. — Вып. 2. — С. 284–293.

15. Браниште Т., Соколова Р.И., Жданов В.С. и др. Апоптоз и гибернация кардиомиоцитов перирубцовой зоны как фактор прогрессирования хронической аневризмы // Кардиология. — 2004. — Т. 44. — № 5. — С. 4–7.
16. Бродский В.Я. Полиплоидия в миокарде — компенсаторный резерв сердца // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 1995. — № 5. — С. 454–459.
17. Бродский В.Я., Урываева И.В. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка. — М.: Наука, 1981. — 259 с.
18. Будников Е.Ю., Постнов А.Ю., Дроршук А.Д. и др. Сниженная АТФ-синтезирующая способность митохондрий печени спонтанно-гипертензивных крыс (SHR): роль кальциевой перегрузки митохондрий // Кардиология. — 2002. — № 12. — С. 47–50.
19. Булахова Е.Ю. Использование мексидола для оптимизации лечения артериальной гипертензии у лиц молодого возраста // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2006. — Прил. 1. — С. 101–103.
20. Варенинов А.А., Волгарева Е.В., Матвеев В.В. и др. Водный и ионный баланс тимоцитов крысы при апоптозе, вызванном дексаметазоном и этопозидом. Ионно-осмотическая модель уменьшения объема клетки // Цитология. — 2003. — Т. 45. — № 5. — С. 500–509.
21. Варенинов А.А., Горячая В.В., Матвеев В.В. и др. Дегидратационное сокращение объема клеток при апоптозе — факультативный признак // Цитология. — 2004. — Т. 46. — № 7. — С. 609–619.
22. Верткин А.Л., Полосьянц О.Б., Лукашов М.И. Гипертонический криз: тактика ведения на догоспитальном этапе // Consilium Medicum. — 2006. — Т. 8. — № 12. — С. 24–30.
23. Визир В.А., Березин А.Е., Демиденко А.В. Взаимосвязь содержания эндотелина-1 в плазме крови с процессами ремоделирования сердца и артерий у больных с артериальной гипертензией // Украинский терапевтический журнал — 2003. — № 6. — С. 25–31.
24. Владимирская Е.Б. Апоптоз и его роль в регуляции клеточного равновесия (лекция) // Клиническая лабораторная диагностика. — 2002. — № 11. — С. 25–32.
25. Владимирская Е.Б. Механизмы апоптотической смерти клеток // Гематология и трансфузиология. — 2002. — № 2. — С. 35–40.
26. Воронина Т.А. Антиоксидант мексидол. Основные нейротропные эффекты и механизм действия // Фарматека. — 2009. — № 6. — С. 28–31.
27. Габрусенко С.А. Гипертрофическая кардиомиопатия: современное состояние проблемы // Болезни сердца и сосудов. — 2006. — Т. 1. — № 1. — С. 46–52.
28. Галенко-Ярошевский В.П., Багметова Е.Н., Фильчукова И.А. и др. Антигипоксическое и антинекротическое действие мексидола при ишемии кожи // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины — 2005. — № 2. — С. 170–174.

29. Гасанов А.Г. Апоптоз и хроническая сердечная недостаточность // Педиатрическая фармакология. — 2009. — № 4. — С. 30–34.
30. Гацура В.В., Пичугин В.В., Сернов Л.Н. Противоишемический кардио-протекторный эффект мексидола // Кардиология. — 1996. — Т. 36. — № 11. — С. 59–62.
31. Гистология / под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной — М.: Медицина, 2001. — 744 с.
32. Глазунова В.А., Штиль А.А. Митохондриальные механизмы апоптоза в ответ на повреждение ДНК // Молекулярная биология. — 2008. — Т. 42. — № 5. — С. 765–771.
33. Гордеева А.В., Лабас Ю.А., Звягильская Р.А. Апоптоз одноклеточных организмов: механизмы и эволюция // Биохимия. — 2004. — Т. 69. — Вып. 10. — С. 1301–1313.
34. Гудкова А.Я., Шляхто Е.В. Клеточные механизмы гипертрофии миокарда при гипертрофической кардиомиопатии и эссенциальной артериальной гипертензии // Артериальная гипертензия. — 2008. — Т. 14. — № 4. — С. 373–380.
35. Дедов И.И., Александров А.А. Сахарный диабет: реперфузионные осложнения и проблемы кардиопротекции // Consilium Medicum. — 2006. — Т. 8. — № 9. — С. 44–53.
36. Дерюгин М.В., Бойцов С.А. Хронические инфекционнообусловленные миокардиты как проблема в практике кардиолога // Сердце. — 2004. — Т. 3. — № 4. — С. 172–180.
37. Дерюгин М.В., Косицкая Л.С., Кузнецова С.А. и др. Клинико-иммунологическая характеристика малосимптомного неревматического миокардита // Медицинская иммунология. — 2001. — Т. 3. — № 1. — С. 99–103.
38. Дроздова Г.А. Патогенез гипертонического сердца (экспериментальное исследование) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1980.
39. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса // Вопросы медицинской химии. — 2001. — Т. 47. — № 6. — С. 561–581.
40. Емелина Л.П. Некоторые фосфорно-энергетические показатели крови у больных гипертонической болезнью // Врачебное дело. — 1972. — № 8. — С. 10–13.
41. Желтухин А.О., Чумаков П.М. Повседневные и индуцируемые функции гена p53 // Успехи биологической химии. — 2010. — Т. 50. — С. 447–516.
42. Задионченко В.С., Горбачева Е.В. Гипертонические кризы // Русский медицинский журнал. — 2001. — Т. 9. — № 15. — С. 628–630.
43. Залесский В.Н., Гавриленко Т.П. Апоптоз при ишемии и реперфузии миокарда // Врачебное дело. — 2002. — № 1. — С. 8–15.

44. Залесский В.Н., Поливода С.Н. Апоптоз кардиомиоцитов, сердечная недостаточность и постинфарктное ремоделирование (проблемы и перспективы) // Запорожский медицинский журнал. — 2003. — № 5. — С. 55–58.
45. Залесский В.Н., Стаднюк Л.А., Великая Н.В. Апоптотический и аутофагический пути гибели клетки при гипертрофии и ремоделировании миокарда // Журнал АМН України. — 2003. — Т. 9. — № 4. — С. 699–712.
46. Заржецкий Ю.В., Мутускина Е.А. Влияние сукцината натрия на функциональные, биохимические и морфологические показатели восстановления ЦНС у крыс после 10 мин остановки кровообращения // Анестезиология и реаниматология — 1994. — № 5. — С. 44–48.
47. Заславская Р.М. Хронодиагностика и хронотерапия. — М., 1991.
48. Затеиных Д.А., Минушкина Л.О., Кудряшова О.Ю. и др. Функциональное состояние эндотелия у больных артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца // Кардиология. — 2000. — № 6. — С. 14–17.
49. Зенков Н.К., Ланкин В.З. Окислительный стресс: биохимические и патофизиологические аспекты. — М.: Майк «Наука/Интерпериодика», 2001. — 343 с.
50. Казакова Т.В., Рашид М.А., Карпова Н.Ю. и др. Гипертрофия левого желудочка при кальцинированном аортальном стенозе // Материалы Российского национального конгресса кардиологов. Москва, 2010. — С. 135.
51. Казанская Т.А., Фролов В.А. Правый желудочек сердца: монография. — М.: Изд-во РУДН, 1995. — 199 с.
52. Кандрор В.И. О механизмах сердечно-сосудистых расстройств при тиреотоксикозе (экспериментальное исследование) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1968.
53. Капелько В.И. Регуляторная роль кислородных радикалов в миокардиальных клетках // Российский физиологический журнал. — 2004. — № 6. — С. 681–692.
54. Каримов Р.Н. Основы дискриминантного анализа: учеб.-метод. пособие. — Саратов: СГТУ, 2002. — 108 с.
55. Карпов Р.С., Пузырев К.В., Павлюкова Е.Н. и др. Молекулярно-генетический анализ гипертрофии миокарда левого желудочка // Кардиология. — 2001. — Т. 41. — № 6. — С. 25–30.
56. Квачева Ю.Е. Морфологические типы радиационно-индуцированной гибели клеток кроветворной ткани, ее биологическая суть и значимость на различных этапах развития острого радиационного поражения // Радиационная биология. Радиэкология. — 2002. — Т. 42. — № 10. — С. 287–292.
57. Князькова И.И., Цыганков А.И., Далашзаде С.Р. Влияние каптоприла на изменение эндотелиальных факторов у больных с острым инфарктом миокарда // Украинский кардіологический журнал. — 2004. — № 7. — С. 34–38.

58. Кобалава Ж.Д., Котовская Ю.В. Артериальная гипертензия 2000: монография / под ред. В.С. Моисеева. — Москва, 2001. — 208 с.
59. Кобалава Ж.Д., Котовская Ю.В., Моисеев В.С. Артериальная гипертензия. Ключи к диагностике и лечению. — М.: ГЭОТАР-Медиа. — 2009. — 868 с.
60. Кобыляну Г.Н. Адаптация и дезадаптация миокарда к повышенной нагрузке при его компенсаторной гипертрофии в эксперименте : автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1985.
61. Котовская Ю.В., Кобалава Ж.Д. Анализ пульсовой волны: новая жизнь старого метода // Сердце: журнал для практикующих врачей. — 2007. — Т. 6. — № 3. — С. 133–137.
62. Кухта В.К., Морозкина Н.В., Богатырева Е.В. и др. Молекулярные механизмы апоптоза, // Белорусский медицинский журнал. — 2004. — № 1. — С. 35–38.
63. Литвицкий П.Ф. Патогенетические и адаптивные изменения в сердце при его регионарной ишемии и последующем возобновлении кровотока // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2002. — № 2. — С. 2–12.
64. Лопаткин Ю.М., Илюхин О.В. Контроль жесткости сосудов. Клиническое значение и способы коррекции // Сердце: журнал для практикующих врачей. — 2007. — Т. 6. — № 3. — С. 128–132.
65. Лукьянова Л.Д. Митохондриальная дисфункция, типовой патологический процесс, молекулярный механизм гипоксии // Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты / под ред. Л.Д. Лукьяновой, И.Б. Ушакова. — Воронеж: Истоки. — 2004. — С. 8–50.
66. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы и перспективы фармакологической коррекции гипоксических состояний // Фармакотерапия в неврологии и психиатрии. — М., 2002. — С. 22–34.
67. Лукьянова Л.Д. Фармакологическая коррекция митохондриальной дисфункции при гипоксии // Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты / под ред. Л.Д. Лукьяновой, И.Б. Ушакова. — Воронеж: Истоки. — 2004. — С. 456–484.
68. Луцкий М.А., Назаренко Е.А., Разинкин К.А. Применение отечественного антиоксиданта препарата мексидол в комплексном лечении ишемического инсульта // Русский медицинский журнал. — 2008. — № 12. — С. 305.
69. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю. Гибель клетки (апоптоз). — М.: Медицина, 2001.
70. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М. Генетические факторы развития дилатационной кардиомиопатии // Вестник РАМН. — 2006. — № 7. — С. 43–52.

71. Лысенко А.И., Соловьева Н.А. Роль *Chlamydia pneumoniae* в повреждении эндотелиальных клеток аорты человека при атеросклерозе // Архив патологии. — 2010. — Т. 72. — № 2. — С. 21–25.

72. Лю Б.Н., Лю М.Б. Кислородно-перекисная концепция апоптоза: повышение уровня аргументации и развития // Успехи современной биологии. — 2005. — № 6. — С. 567–578.

73. Маевский Е.И., Гришина Е.В., Розенфельд А.С. и др. О сигнальной и субстратной роли янтарной кислоты при гипоксии // Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция: IV Российская конференция. — 2005. — С. 12–14.

74. Макаров А.И., Салмаси Ж.М., Санина Н.П. Апоптоз и сердечная недостаточность // Сердечная недостаточность. — 2003. — Т. 4. — № 6 (22). — С. 312–314.

75. Манских В.Н. Морфологические методы верификации и количественной оценки апоптоза // Бюллетень сибирской медицины. — 2004. — № 1. — С. 63–70.

76. Манских В.Н. Пути гибели клетки и их биологическое значение // Цитология. — 2007. — Т. 49. — № 11. — С. 909–915.

77. Мареев В.Ю., Данилеян М.О., Беленков Ю.Н. От имени рабочей группы: исследование ЭПОХА-О-ХСН. Сравнительная характеристика больных с ХСН в зависимости от величины фракции выброса. По результатам Российского многоцентрового исследования ЭПОХА-О-ХСН // Сердечная недостаточность. — 2006. — № 7. — С. 164–171.

78. Матвеева Н.Ю. Апоптоз: морфологические особенности и молекулярные механизмы // Тихоокеанский медицинский журнал. — 2003. — № 4. — С. 12–16.

79. Меерсон Ф.З. Миокард при гиперфункции, гипертрофии и недостаточности сердца. — М., 1965.

80. Мельникова Н.П., Тимошин С.С., Пеллиниери Л.И. и др. Процессы апоптоза, пролиферации и синтеза белка в кардиомиоцитах новорожденных белых крыс при введении эндотелина-1 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2004. — Т. 137. — № 6. — С. 687–690.

81. Минушкина Л.О., Никитин А.Г., Бражник В.А. и др. Гипертрофия миокарда у больных гипертонической болезнью: роль генетического полиморфизма  $\beta$ -реактивных структур // Кардиология. — 2010. — № 1. — С. 9–14.

82. Моисеев В.С., Кобалава Ж.Д., Чистяков Д.А. и др. Полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента при артериальной гипертонии и сердечно-сосудистых заболеваниях в московской популяции // Молекулярная биология. — 1998. — № 3. — С. 410–415.

83. Моисеев В.С. Сердечная недостаточность и достижения генетики // Сердечная недостаточность. — 2000. — Т. 1. — № 4. — С. 121–130.

84. Моисеев В.С., Сумароков А.В., Стяжкин В.Ю. Кардиомиопатии. — М.: Медицина, 1993. — 176 с.

85. Моисеев В.С., Сумароков А.В. Болезни сердца. — М., 2001.

86. Моисеева О.М., Лясникова Е.А., Семенова Е.Г. и др. Трансформирующий фактор beta 1 и маркеры активации лейкоцитов при гипертонической болезни // Артериальная гипертензия. — 2003. — Т. 9. — № 1. — С. 14–16.

87. Москалева Е.Ю., Северин С.Е. Возможные механизмы адаптации клетки к повреждениям, индуцирующим программированную гибель. Связь с патологией // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2006. — № 2. — С. 2–15.

88. Московский центр ВОЗ. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем. Десятый пересмотр (МКБ-10). — М.: Медицина, 2003. — 924 с.

89. Мустяца В.Ф. Функциональные и структурные особенности миокарда при применении гипотензивных препаратов в условиях экспериментальной артериальной гипертензии : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2005.

90. Мутускина Е.А., Заржецкий Ю.В., Трубина И.Е. О возможности уменьшения постреанимационной патологии посредством препаратов янтарной кислоты // Экспериментальные, клинические и организационные проблемы общей реаниматологии / под ред. В.А. Неговского. — М.: Из-во НИИ общей реаниматологии РАМН. — 1996. — С. 195–205.

91. Мухарлямов Н.М., Попович М.И., Затушевский И.Ф. Дилатационная кардиомиопатия. — Кишинев: Штиинца, 1986. — 158 с.

92. Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Семенов Д.Е. Ультраструктура сократительного аппарата кардиомиоцитов при регенераторно-пластической недостаточности миокарда // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2001. — Т. 131. — № 3. — С. 347–352.

93. Непомнящих Л.М., Розенберг В.Д. Морфологические проявления «атеросклеротического сердца» (патологоанатомическое и экспериментальное исследование) // Бюллетень СО РАМН. — 2006. — № 2 (120). — С. 118–125.

94. Непомнящих Л.М., Семенов Д.Е. Апоптоз кардиомиоцитов как крайнее проявление регенераторно-пластической недостаточности миокарда // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2000. — Т. 130. — № 9. — С. 903–907.

95. Никитин О.П., Малютина С.К. Гипертрофия левого желудочка: популяционно-генетическое исследование // Кардиология. — 1999. — № 6. — С. 27–32.

96. Новожилова А.П., Плужников Н.Н., Новиков В.С. Программированная клеточная смерть. — Спб.: Наука, 1996. — С. 9–29.

97. Обухов А.А., Зыкова Е.С., Косенков Д.А. Белки теплового шока и апоптоз // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2007. — № 2. — С. 52–56.

98. Одинцова Н.Ф. Мексидол в комплексной терапии артериальной гипертензии у больных пожилого и старческого возраста // Фарматека. — 2006. — № 20. — С. 35.

99. Оковитый С.В. Клиническая фармакология антигипоксантов // ФАРМиндекс-Практик. — Вып. 7. — 2005. — С. 48–63.

100. Оковитый С.В., Смирнов А.В. Антигипоксанты // Эксперим. и клин. фармакология. — 2001. — Т. 64. — № 3. — С. 76–80.

101. Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В. Редокс-регуляция клеточных функций // Биохимия. — 2007. — Т. 72. — Вып. 2. — С. 158–174.

102. Онищенко Г.Е. Варианты программированной гибели клеток // Материалы IX Российского онкологического конгресса. — Москва, 2005. — С. 69–72.

103. Палеев Н.Р. Вирусная инфекция и миокардиальная патология // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2006. — № 9–10. — С. 95–99.

104. Пальцев М.А. Молекулярная медицина и прогресс фундаментальных наук // Вестник РАМН. — 2002. — Т. 72. — № 1. — С. 13–21.

105. Пальцев М.А., Демуря С.А., Коган Е.А. и др. Роль bcl-2, bax, bak в процессах спонтанного апоптоза и пролиферации в нейроэндокринных опухолях легких: иммуногистохимическое исследование // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2000. — Т. 130. — № 7. — С. 98–101.

106. Патарая С.А., Преображенский Д.В., Сидоренко Б.А. и др. Биохимия и физиология семейства эндотелинов // Кардиология. — 2000. — Т. 40. — № 6. — С. 78–85.

107. Пауков В.С., Фролов В.А. Элементы теории патологии сердца. — М., 1982.

108. Петрищев Н.Н., Васина Л.В., Луговая А.В. Содержание растворимых маркеров апоптоза и циркулирующих аннексин-V-связанных апоптотических клеток в крови больных острым коронарным синдромом // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер. 11. — 2008. — Вып. 1. — С. 14–23.

109. Писарев В.Б., Новочадов В.В., Зарипова И.В. Ультраструктура кардиомиоцитов при патологии сердца, вызванной хронической эндогенной интоксикацией и цитостатиками // Вестник ВолГМУ. — 2007. — № 4 (24). — С. 35–38.

110. Плохинский Н.А. Биометрия. — М.: МГУ, 1970. — 367 с.

111. Постнов А.Ю., Фомина О.П., Петрухина В.А. и др. Генетическая модель гипертрофии миокарда без повышенного артериального давления у крыс // Артериальная гипертензия. — 2003. — № 4. — С. 115–116.

112. Постнов Ю.В. О роли недостаточности митохондриального энергообразования в развитии первичной гипертензии: нейрогенная составляющая патогенеза гипертензии // Кардиология. — 2004. — № 6. — С. 52–58.



113. Постнов Ю.В. К развитию мембранной концепции патогенеза первичной артериальной гипертензии (нарушение функции митохондрий и энергетический дефицит) // Кардиология. — 2000. — № 10. — С. 4–11.
114. Постнов Ю.В., Бакеева Л.Е., Цыпленкова В.Г. и др. Нарушение ультраструктуры митохондриального аппарата кардиомиоцитов крыс со спонтанной гипертензией (SHR) // Кардиология. — 2000. — Т. 40. — № 1. — С. 55–63.
115. Проскуряков С.Я., Габай В.Л., Коноплянников А.Г. Иммунология некроза и апоптоза // Биохимия. — 2005. — Т. 70. — № 12. — С. 1593–1605.
116. Проскуряков С.Я., Габай В.Л., Коноплянников А.Г. Некроз — активная, управляемая форма программируемой клеточной гибели // Биохимия. — 2002. — Т. 67. — № 4. — С. 467–491.
117. Пупышев А.Б. Лизосомы человека: библиометрическая оценка актуальных направлений исследований // Бюллетень СО РАМН. — 2006. — № 1 (119). — С. 106–116.
118. Райхлин Н.Т., Райхлин А.Н. Регуляция и проявления апоптоза в физиологических условиях и в опухолях // Вопросы онкологии — 2002. — Т. 48. — № 2. — С. 159–171.
119. Рамдавон П. Взаимоотношения правого и левого желудочков сердца при острой и хронической перегрузке левого желудочка в эксперименте : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1993.
120. Рубанова М.П., Вебер В.Р., Жмайлова С.В. и др. Сравнительный анализ острого ремоделирования левого и правого желудочков под влиянием преднизолона у крыс линии Вистар // Материалы Российского национального конгресса кардиологов. — Москва, 2010. — С. 289–290.
121. Рыбакова М.Г., Гудкова А.Я. Апоптоз и заболевания сердца // Цитология. — 2004. — Т. 46. — № 5. — С. 389–394.
122. Рыбакова М.Г., Кузнецова И.А. Роль апоптоза в ишемическом повреждении миокарда // Архив патологии. — 2005. — Т. 67. — № 5. — С. 23–25.
123. Рязанов А.С. Клинико-генетические аспекты развития гипертрофии миокарда левого желудочка // Российский кардиологический журнал. — 2003. — № 2. — С. 93–95.
124. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Часовских Н.Ю. и др. Роль редокс-зависимых сигнальных систем в регуляции апоптоза при окислительном стрессе // Цитология. — 2009. — Т. 51. — № 4. — С. 329–334.
125. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Часовских Н.Ю. и др. Редокс-зависимая регуляция апоптоза: адаптивная роль активных форм кислорода при окислительном стрессе // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. — 2008. — Т. 94. — № 6. — С. 710–718.
126. Самуилов В.Д. Биохимия программируемой клеточной смерти (апоптоза) у животных // Соросовский образовательный журнал. — 2001. — Т. 7. — № 10. — С. 18–25.

127. Самуилов В.Д., Олескин А.В., Лагунова Е. Программируемая клеточная смерть // Биохимия. — 2000. — Т. 65. — С. 1029–1046.
128. Семенов Д.Е., Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М. Особенности антрациклиновой модели кардиомиопатии: снижение синтеза белка, нарушение внутриклеточной регенерации и безнекротическая элиминация кардиомиоцитов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2001. — Т. 131. — № 5. — С. 594–599.
129. Сергиенко В.Б., Бугрий М.Е. Радионуклидные исследования при остром инфаркте миокарда // Болезни сердца и сосудов. — 2008. — № 4. — С. 12–16.
130. Симоненко Б.В., Бойцов С.А., Глухов А.А. Апоптоз и патология миокарда // Клиническая медицина. — 2000. — Т. 64. — № 8. — С. 12–16.
131. Скулачев В.П. Старение как атавистическая программа, которую можно попытаться отменить // Вестник РАН. — 2005. — Т. 63. — № 12. — С. 831–843.
132. Скулачев В.П. Явления запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода // Соросовский образовательный журнал. — 2001. — Т. 7. — № 6. — С. 4–10.
133. Соколова Р.И., Браниште Т.А., Цыпленкова В.Г. и др. Роль апоптоза и гибернации кардиомиоцитов в прогрессировании хронической аневризмы сердца // Российский национальный конгресс кардиологов: Сборник трудов. — СПб., 2002. — С. 387–388.
134. Старикова Е.Г., Кайгородова Е.В. Роль белков семейства Bcl-2 в дизрегуляции апоптоза мононуклеаров в условиях окислительного стресса in vitro и при остром воспалении // Материалы VIII конгресса молодых ученых и специалистов. — Томск, 2007. — С. 205–206.
135. Степанов В.А., Пузырев К.В. Полиморфизм генов ангиотензин-превращающего фермента и эндотелиальной синтазы окиси азота у лиц с артериальной гипертензией, гипертрофией миокарда левого желудочка и гипертрофической кардиомиопатией // Генетика. — 1998. — Т. 34. — С. 1578–1581.
136. Степанов В.А., Пузырев К.В., Спиридонова М.Г. и др. Полиморфизм генов ангиотензин-превращающего фермента и эндотелиальной синтазы окиси азота у лиц с артериальной гипертензией, гипертрофией миокарда левого желудочка и гипертрофической кардиомиопатией // Генетика. — 1998. — Т. 34. — № 11. — С. 1578–1581.
137. Сторожаков Г.И., Утешев Д.Б. Роль апоптоза в развитии атеросклероза, ишемии миокарда и сердечной недостаточности // Сердечная недостаточность. — 2000. — Т. 1. — № 4. — С. 131–134.
138. Суворов А.В., Горева В.В., Суворов М.А. Изменение липидного профиля, пероксидазных свойств крови и уровня эндотелина-1 у больных стенокардией напряжения при лечении нифедипином GITS и фелодипином // Нижегородский медицинский журнал — 2002. — № 3. — С. 7–11.

139. Терещенко С.Н., Джаиани Н.А. Дилатационная кардиомиопатия сегодня // *Consilium Medicum*. — 2001. — Т. 3. — № 2. — С. 12–18.
140. Терещенко С.Н., Джаиани Н.А., Мареев В.Ю. и др. Влияние генов, отвечающих за синтез кардиальных белков актина и дистрофина, на развитие хронической сердечной недостаточности у больных с инфарктом миокарда и дилатационной кардиомиопатией // *Сердечная недостаточность*. — 2000 — Т. 1. — № 1. — С. 18–20.
141. Тронов В.А. Репарация ДНК и апоптоз // *Цитология*. — 1999. — № 5. — С. 405–411.
142. Убайдуллаева В.У., Магрупов Б.А. Сравнительная характеристика различных форм инфаркта миокарда с интервалом 30 лет // *Архив патологии*. — 2010. — Т. 72. — № 2. — С. 15–21.
143. Федорова Н.Е., Соколова Т.М., Меджидова М.Г. и др. Различная регуляция митохондриального апоптоза и экспрессии гена *bcl-2* в покоящихся и делящихся фибробластах человека, зараженных цитомегаловирусом // *Цитология*. — 2010. — Т. 52. — № 2. — С. 168–176.
144. Фильченков А.А. Каспазы: регуляторы апоптоза и других клеточных функций // *Биохимия*. — 2003. — Т. 68. — Вып. 4. — С. 453–466.
145. Флейшман М.Ю., Тимошин С.С. Апоптоз: различные аспекты общебиологического феномена // *Дальневосточный медицинский журнал*. — 2000. — № 2. — С. 109–112.
146. Фролов В.А. О типовой патологической реакции альтерированного сердца : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1967.
147. Фролов В.А. Сезонные структурно-функциональные изменения сердца кролика // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 1984. — № 4. — С. 420–423.
148. Фролов В.А., Дроздова Г.А., Риегер П. и др. Начальные механизмы формирования «гипертонического сердца» // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 2004. — Т. 137. — № 3. — С. 249–252.
149. Фролов В.А., Далин М.В. Дифтерийное сердце. — М., 1996. — 208 с.
150. Фролов В.А., Дроздова Г.А. Гипертоническое сердце. — Баку: Азернешр., 1984. — 247 с.
151. Фролов В.А., Дроздова Г.А., Казанская Т.А. Правый желудочек сердца при гемодинамической перегрузке левого // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* — 1995. — № 3. — С. 26–31.
152. Фролов В.А., Дроздова Г.А., Мустяца В.Ф. и др. Гипотензивная терапия и сердце: монография. — М.: РУДН, 2009. — 292 с.
153. Фролов В.А., Дроздова Г.А., Мустяца В.Ф. и др. О возможном механизме обратного развития гипертрофии сердца // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 2001. — Т. 132. — № 7. — С. 42–44.
154. Фролов В.А., Казанская Т.А., Дроздова Г.А. и др. Типовые реакции поврежденного сердца. — М.: Изд-во Российской академии наук. 1995. — 328 с.

155. Фролов В.А., Казанская Т.А., Дроздова Г.А. и др. Оценка лабильности миокарда как показатель его функционального состояния в норме, предболезни и патологии // Предболезнь. Материалы конф. 1 ММИ и Моск. общества патофизиологов. — М., 1969. — С. 93–101.

156. Хлапов А.П., Вечерский Ю.Ю., Рязанцева Н.В. и др. Роль апоптоза кардиомиоцитов в механизмах ишемического ремоделирования миокарда // Бюллетень сибирской медицины. — 2008. — № 3. — С. 33–37.

157. Хлапов А.П., Вечерский Ю.Ю., Шипулин В.М. и др. Апоптоз кардиомиоцитов в развитии ИБС у кардиохирургических больных // Патология кровообращения и кардиохирургия. — 2008. — № 1. — С. 21–24.

158. Хлыстов В.В., Усынин А.Ф., Павленко В.С. и др. Ультраструктура кардиомиоцитов перинфарктной зоны при лечении экспериментального инфаркта миокарда у крыс гексапептидом даларгином // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1988. — Т. 105. — № 3. — С. 362–365.

159. Целуйко В.И., Кравченко Н.А. Биохимические механизмы развития сердечной недостаточности // Украинський терапевтичний журнал. — 2004. — № 4. — С. 70–76.

160. Цыпленкова В.Г., Шварнева Г.Г., Браниште Ф.А. и др. Ретроспективный морфологический анализ эндомикардиальных биоптатов больных миокардитом // Архив патологии. — 2002. — Т. 64. — Вып. 6. — С. 43–46.

161. Цыпленкова В.Г. Дифференцировка, «гибернация» и апоптоз кардиомиоцитов — возможные факторы прогрессирования диабетической кардиомиопатии // Архив патологии. — 2009. — № 4. — С. 30–33.

162. Цыпленкова В.Г. Критические заметки по поводу парадигмы «гиберирующий и оглушенный миокард» // Кардиология. — 2005. — № 9. — С. 43–46.

163. Цыпленкова В.Г. Ультраструктурное и иммуногистохимическое изучение механизмов гибели кардиомиоцитов при различных заболеваниях сердца // Материалы VIII Всероссийской конференции по патологии клетки. — Москва, 2010. — С. 278–279.

164. Цыпленкова В.Г., Воробьев А.А. Ультраструктурная и иммуногистохимическая характеристика механизма гибели кардиомиоцитов при аритмогенной дисплазии правого желудочка // Архив патологии. — 2007. — Т. 69. — № 6. — С. 3–7.

165. Цыпленкова В.Г., Капелько В.И., Коновалова Г.Г. и др. Влияние убихинона на сократительную функцию и антиоксидантный статус миокарда при наследственной гипертонии у крыс // Кардиология. — 2006. — № 5. — С. 54–62.

166. Часовских Н.Ю., Старикова Е.Г. Молекулярные механизмы реализации апоптотической программы мононуклеаров в условиях окислитель-

ного стресса *in vitro* и при остром воспалении // Материалы VIII конгресса молодых ученых и специалистов. — Томск, 2007. — С. 211–213.

167. Черников В.П., Белоусова Т.А., Кактурский Л.В. Морфологические и биохимические критерии клеточной гибели // Архив патологии. — 2010. — Т. 72. — № 3. — С. 48–54.

168. Чернобаева Г.Н., Романова В.Е., Дудченко А.М., Германова Э.Л. Антигипоксические эффекты и механизмы действия некоторых производных 3-оксипиридинон // Итоги науки и техники. Серия «Фармакология. Химиотерапевтические средства» / под ред. Л.Д. Лукьяновой. — М.: ВИНТИ. — 1991. — Т. 27. — С. 26–39.

169. Черпаченко Н.М. Изменение активности ферментов в миокарде больных с идиопатической и вторичной дилатационной кардиомиопатией // Архив патологии. — 1993. — Т. 55. — № 2. — С. 69–73.

170. Чечина О.Е., Биктасова А.К., Сазонова Е.В. и др. Роль цитокинов в редокс-зависимой регуляции апоптоза // Бюллетень сибирской медицины. — 2009. — № 2. — С. 67–72.

171. Чибисов С.М. Интегральные взаимоотношения разнопериодических биоритмов сердца в норме и при десинхронизации : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1993.

172. Чумаков П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме // Успехи биологической химии. — 2007. — Т. 47. — С. 3–52.

173. Шалашова М.Л., Дудаева М.Л. Применение мексидола в комбинированной терапии с традиционными антигипертензивными средствами // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины — 2006. — Прил. 1. — С. 11.

174. Шаповалов В.Д., Михалева Л.М. Апоптоз и ультраструктурные изменения плазматических клеток собственно слизистой оболочки десны больных пародонтозом // Иммунология. — 2002. — Т. 23. — № 2. — С. 83–86.

175. Швед И.А., Владимирская Т.Э. Апоптоз кардиомиоцитов при экспериментальной ишемии миокарда и влияние на его развитие креатининогидрата // Здравоохранение. — 2009. — № 2. — С. 18–20.

176. Шилов А.М., Мельник М.В., Чубаров М.В. Комплексные антиоксиданты в профилактике и лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы // Российские медицинские вести. — 2004. — № 4. — С. 45–49.

177. Широкова А.В. Апоптоз. Сигнальные пути и изменение ионного и водного баланса клетки // Цитология. — 2007. — Т. 49. — № 5. — С. 385–394.

178. Шляхто Е.В., Бокерия Л.А., Рыбакова М.Г. и др. Клеточные аспекты патогенеза гипертрофической кардиомиопатии: роль полиплоидии кардиомиоцитов и активации в миокарде ядерного антигена пролиферирующей клетки // Цитология. — 2007. — Т. 49. — № 10. — С. 817–822.

179. Шляхто Е.В., Конради А.О., Моисеева О.М. Молекулярно-генетические и клеточные аспекты ремоделирования сердца и сосудов

при гипертонической болезни // *Терапевтический архив*. — 2004. — № 6. — С. 51–58.

180. Шоф Н.Ф., Каган В.Е. Использование окислительного стресса и механизма передачи сигналов при лечении новообразований, устойчивых к химиотерапии // *Биохимия*. — 2004. — Т. 69. — Вып. 1. — С. 48–56.

181. Шхвацабая И.К., Серебровская Ю.А., Лукьянова О.Н. и др. Активность ренина в плазме крови у больных гипертонической болезнью // *Кардиология*. — 1973. — Т. 13. — № 2. — С. 59–65.

182. Эмироглу Н. Заболеваемость дифтерией в европейском регионе ВОЗ. Рекомендации ВОЗ по контролю, лечению и профилактике дифтерии // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2001. — Т. 3. — № 3. — С. 274–279.

183. Abbate A., Bonanno E., Mauriello A. et al. Widespread myocardial inflammation and infarct-related artery patency // *Circulation*. — 2004. — Vol. 110. — № 6. — P. 46–50.

184. Abbate A., Bussani R., Biondi-Zoccai G.G. et al. Infarct-related artery occlusion, tissue markers of ischaemia, and increased apoptosis in the peri-infarct viable myocardium // *European Heart Journal*. — 2005. — Vol. 26. — N 19. — P. 2039–2045.

185. Abbate A., Bussani R., Sinagra G. et al. Right ventricular cardiomyocyte apoptosis in patients with acute myocardial infarction of the left ventricular wall // *American Journal of Cardiology*. — 2008. — Vol. 102. — N 6. — P. 658–662.

186. Abbate A., Morales C., De Falco M. Ischemia and apoptosis in an animal model of permanent infarct-related artery occlusion // *International Journal of Cardiology*. — 2007. — Vol. 121. — N 1. — P. 109–111.

187. Abbate A., Sinagra G., Bussani R., Hoke N.N., Merlo M., Varma A., Toldo S., Salloum F.N., Biondi-Zoccai G.G., Vetrovec G.W., Crea F., Silvestri F., Baldi A. Apoptosis in patients with acute myocarditis // *American Journal of Cardiology*. — 2009. — Vol. 104. — N 7. — P. 995–1000.

188. Achar S.A., Kundu S., Norcross W.A. Diagnosis of acute coronary syndrome // *Am. Fam. Physician*. — 2005. — Vol. 72. — N 1. — P. 119–126.

189. Adlam D., Bendall J.K., De Bono J.P., Alp N.J., Khoo J., Nicoli T., Yokoyama M., Kawashima S., Channon K.M. Relationships between nitric oxide-mediated endothelial function, eNOS coupling and blood pressure revealed by eNOS-GTP cyclohydrolase 1 double transgenic mice // *Experimental Physiology*. — 2007. — V. 92. — P. 119–126.

190. Agapitov A.V., Haynes W.G. Role of endothelin in cardiovascular disease // *Journal of Renin Angiotensin Aldosterone System*. — 2002. — N 3. — P. 1–15.

191. Aharinejad S., Andrukhova O., Lucas T., Zuckermann A., Wiesenthaler G., Wolner E., Grimm M. Programmed cell death in idiopathic dilated cardiomyopathy is mediated by suppression of the apoptosis inhibitor Apollon. // *Ann. Thorac. Surg.* — 2008. — Vol. 86. — N 1. — P. 109–114.

192. Aikawa R., Komuro I., Yamazaki T., Zou Y., Kudoh S., Zhu W., Kadowaki T., Yazaki Y. Rho family small G proteins play critical roles in mechanical stress-induced hypertrophic responses in cardiac myocytes // *Circulation Research*. — 1999. — V. 84. — N 4. — P. 458–466.
193. Alcalai R., Seidman J.G., Seidman C.E. Genetic basis of hypertrophic cardiomyopathy: from bench to the clinics // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* — 2008. — Vol. 19. — N 1. — P. 104–110.
194. Alenzi F.Q., Lotfy M., Wyse R. Swords of cell death: caspase activation and regulation // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* — 2010. — V. 11. — N 2. — P. 271–280.
195. Alexander B.T., Cockrell K.L., Rinewalt A.N., Herrington J.N., Granger J.P. Enhanced renal expression of preproendothelin mRNA during chronic angiotensin II hypertension // *Am J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 2001. — Vol. 280. — R 1388–R1392.
196. Allahdadi K.J., Cherg T.W., Pai H., Silva A.Q., Walker B.R., Nelin L.D., Kanagy N.L. Endothelin type A receptor antagonist normalizes blood pressure in rats exposed to eucapnic intermittent hypoxia // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2008. — Vol. 295. — H434–H440.
197. Allcock G.H., Venema R.C., Pollock D.M. ETA receptor blockade attenuates the hypertension but not renal dysfunction in DOCA-salt rats // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 1998. — Vol. 275. — R245–R252.
198. Alloatti G., Arnoletti E., Bassino E., Penna C., Perrelli M.G., Ghé C., Muccioli G. Obestatin affords cardioprotection to the ischemic-reperused isolated rat heart and inhibits apoptosis in cultures of similarly stressed cardiomyocytes // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2010. — Vol. 299. — N 2. — P. H470–H481.
199. Ameisen J.C. On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years // *Cell Death Differ.* — 2002. — Vol. 9. — N 4. — P. 367–393.
200. Andres R.H., Ducray A.D., Schlattner U., Wallimann T., Widmer H.R. Functions and effects of creatine in the central nervous system // *Brain Res. Bull.* — 2008. — Vol. 76. — P. 329–343.
201. Anselmi A., Gaudino M., Baldi A., Vetrovec G.W., Bussani R., Possati G., Abbate A. Role of apoptosis in pressure-overload cardiomyopathy // *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. — 2008. — Vol. 9. — N 3. — P. 227–232.
202. Anthoni P., Agnese di Sant, Karen L., De Mesy J. Dilasic staining of large epoxy tissue sections and applications to surgical pathology // *Am. J. Clin. Path.* — 1984. — Vol. 81. — N 1. — P. 25–29.
203. Anversa P., Hiler B., Ricci R., Guideri G., Olivetti G. Myocyte cell loss and myocyte hypertrophy in the aging rat heart // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 1986. — N 8. — P. 1441–1448.
204. Anversa P., Olivetti G., Leri A., Liu Y., Kajstura J. Myocyte cell death and ventricular remodeling // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* — 1997. — N 6. — P. 169–176.

205. Aoki H., Kang P.M., Hampe J., Yoshimura K., Noma T., Matsuzaki M., Izumo S. Direct activation of mitochondrial apoptosis machinery by c-Jun N-terminal kinase in adult cardiac myocytes. // *Circ. Res.* — 2000. — Vol. 87. — N 2. — P. 118–125.

206. Aon M.A., Cortassa S., Marban E., O'Rourke B. Synchronized whole cell oscillations in mitochondrial metabolism triggered by a local release of reactive oxygen species in cardiac myocytes // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278. — P. 44735–44744.

207. Arnaudeau S., Kelley W.L., Walsh J.V. Jr., Demaurex N. Mitochondria recycle Ca(2p) to the endoplasmic reticulum and prevent the depletion of neighboring endoplasmic reticulum regions // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. — P. 29430–29439.

208. Arnett D.K., de las Fuentes L., Broeckel U. Genes for left ventricular hypertrophy // *Curr. Hypertens. Rep.* — 2004. — Vol. 6. — N 1. — P. 36–41.

209. Arnoult D. Apoptosis-associated mitochondrial outer membrane permeabilization assays // *Methods.* — 2008. — Vol. 44. — N 3. — P. 229–234.

210. Arur S., Uche U.E., Rezaul K., Fong M., Scranton V., Cowan A.E., Mohler W., Han D.K. Annexin I is an endogenous ligand that mediates apoptotic cell engulfment // *Dev. Cell.* — 2003. — N 4. — P. 587–598.

211. Asano S., Rice K.M., Kakarla S., Katta A., Desai D.H., Walker E.M., Wehner P., Blough E.R. Aging influences multiple indices of oxidative stress in the heart of the Fischer 344/NNia x Brown Norway/ BiNia rat // *Redox Rep.* — 2007. — Vol. 12. — N 4. — P. 167 – 180.

212. Ascensão A., Magalhães J., Soares J.M., Ferreira R., Neuparth M.J., Marques F., Oliveira P.J., Duarte J.A. Moderate endurance training prevents doxorubicin-induced *in vivo* mitochondriopathy and reduces the development of cardiac apoptosis // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2005. — Vol. 289. — N 2. — P. H722–H731.

213. Ashkenazi A Targeting death and decoy receptors of the tumour-necrosis factor superfamily // *Nat. Rev. Cancer.* — 2002. — Vol. 2. — N 6. — P. 420–430.

214. Ashkenazi A., Dixit V.M. Death receptors: signaling and modulation // *Science.* — 1998. — Vol. 281. — P. 1305–1308.

215. Ashkenazi A., Holland P., Eckhardt S.G. Ligand-based targeting of apoptosis in cancer: the potential of recombinant human apoptosis ligand 2/Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (rhApo2L/TRAIL) // *J. Clin. Oncol.* — 2008. — Vol. 26. — N 21. — P. 3621–3630.

216. Azevedo C.F., Nigri M., Higuchi M.L. et al. Prognostic significance of myocardial fibrosis quantification by histopathology and magnetic resonance imaging in patients with severe aortic valve disease // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2010. — Vol. 56. — N 4. — P. 278–287.

217. Badorff C., Ruetten H., Mueller S., Stahmer M., Gehring D., Jung F., Ihling C., Zeiher A.M., Dimmeler S. Fas receptor signaling inhibits glycogen syn-



these kinase 3 beta and induces cardiac hypertrophy following pressure overload. // *J. Clin. Invest.* — 2002. — Vol. 109. — N 3. — P. 373–381.

218. Bae S., Siu P.M., Choudhury S., Ke Q., Choi J.H., Koh Y.Y. Delayed activation of caspase-independent apoptosis during heart failure in transgenic mice overexpressing caspase inhibitor CrmA // *Am. J. Physiol.* — 2010. — Vol. 299. — N 5. — H1374–H1381.

219. Bahi N., Zhang J., Llovera M., Ballester M., Comella J.X., Sanchis D. Switch from caspase-dependent to caspase-independent death during heart development: essential role of endonuclease G in ischemia-induced DNA processing of differentiated cardiomyocytes // *J. Biol. Chem.* — 2006. — Vol. 281. — P. 22943–22952.

220. Baines C.P., Kaiser R.A., Purcell N.H., Blair N.S., Osinska H., Hambleton M.A., Brunskill E.W., Sayen M.R., Gottlieb R.A., Dorn G.W., Robbins J., Molkentin J.D. Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death // *Nature.* — 2005. — Vol. 434. — P. 658–662.

221. Balaban R.S. Cardiac energy metabolism homeostasis: role of cytosolic calcium // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 2002. — Vol. 34. — P. 1259–1271.

222. Baldeviano G.C., Barin J.G., Talor M.V., Srinivasan S., Bedja D., Zheng D., Gabrielson K., Iwakura Y., Rose N.R., Cihakova D. Interleukin-17A is dispensable for myocarditis but essential for the progression to dilated cardiomyopathy // *Circ. Res.* — 2010. — Vol. 106. — N 10. — P. 1646–1655.

223. Ball A. J., Levine F. Telomere-independent cellular senescence in human fetal cardiomyocytes // *Aging Cell.* — 2005. — N 4. — P. 21–30.

224. Bao Q., Lu W., Rabinowitz J.D., Shi Y. Calcium blocks formation of apoptosome by preventing nucleotide exchange in Apaf-1 // *Mol. Cell.* — 2007. — Vol. 25. — N 2. — P. 181–192.

225. Barandier C., Ming X.F., Yang Z. Small G proteins as a novel therapeutic targets in cardiovascular medicine // *News Physiol. Sci.* — 2003. — Vol. 18. — P. 18–22.

226. Barbosa M.E., Alenina N., Bader M. Induction and analysis of cardiac hypertrophy in transgenic animal models // *Methods Mol. Med.* — 2005. — N 112. — P. 339–352.

227. Bassi R., Heads R., Marber M. S., Clark J. E. Targeting p38-MAPK in the ischaemic heart: kill or cure? // *Curr. Opin. Pharmacol.* — 2008. — Vol. 8. — N 2. — P. 141–146.

228. Baudin B. Polymorphism in angiotensin II receptor genes and hypertension // *Exp. Physiol.* — 2005. — Vol. 90. — N 3. — P. 277–282.

229. Bedard K., Krause K.H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology // *Physiol. Rev.* — 2007. — Vol. 87. — P. 245–313.

230. Beere H.M. «The stress of dying»: the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis // *J. Cell Sci.* — 2004. — Vol. 117. — Pt. 13. — P. 2641–2651.

231. Beere H.M. Death versus survival: functional interaction between the apoptotic and stress-inducible heat shock protein pathways // *J. Clin. Invest.* 2005. — Vol. 115. — N 10. — P. 2633–2639.
232. Bejarano E., Cuervo A.M. Chaperone-mediated autophagy // *Proc. Am. Thorac. Soc.* — 2010. — Vol. 7. — N 1. — P. 29–39.
233. Beltrami A.P., Urbanek K., Kajstura J., Yan S.M., Finato N., Bussani R., Nadal-Ginard B., Silvestri F., Leri A., Beltrami C.A., Anversa P. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction // *New Engl J Med.* — 2001. — Vol. 344. — P. 1750–1757.
234. Bergmann O., Bhardwaj R. D., Bernard S., Zdunek S., Barnabe-Heider F., Walsh S., Zupicich J., Alkass K., Buchholz B.A., Druid H., Jovinge S., Frisén J. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans // *Science.* — 2009. — Vol. 324. — P. 98–102.
235. Bernardi P., Petronilli V., Di Lisa F., Forte M. A mitochondrial perspective on cell death // *Trends Biochem. Sci.* — 2001. — Vol. 26. — P.112–117.
236. Bernardo B.C., Weeks K.L., Pretorius L., McMullen J.R. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies // *Pharmacology & Therapeutics.* — 2010. — N 128. — P.191–227.
237. Beswick R.A., Dorrance A.M., Leite R., Webb R.C. NADH/NADPH oxidase and enhanced superoxide production in the mineralocorticoid hypertensive rat // *Hypertension.* — 2001a. — Vol. 38. — P. 1107–1111.
238. Beswick R.A., Zhang H., Marable D., Catravas J.D., Hill W.D., Webb R.C. Long-term antioxidant administration attenuates mineralocorticoid hypertension and renal inflammatory response // *Hypertension.* — 2001b. Vol. 37. — P. 781–786.
239. Bhatia K., Elmarakby A.A., El-Remessey A., Sullivan J.C. Oxidative stress contributes to sex differences in angiotensin II-mediated hypertension in spontaneously hypertensive rats // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 2012. — Vol. 302. — P. 274–282.
240. Billen L.P., Shamas-Din A., Andrews D.W. Bid: a Bax-like BH3 protein // *Oncogene.* — 2008. — Suppl. 1. — P. 93–104.
241. Birks E.J., Latif N., Enesa K., Folkvang T., Luong le A., Sarathchandra P., Khan M., Ova H., Terracciano C.M., Barton P.J., Yacoub M.H., Evans P.C. Elevated p53 expression is associated with dysregulation of the ubiquitin-proteasome system in dilated cardiomyopathy. // *Cardiovasc. Res.* — 2008. — Vol. 79. — N 3. — P. 472–480.
242. Bishopric N.H., Andreka P., Stepak T., Webster K.A. Molecular mechanisms of apoptosis in the cardiac myocyte // *Curr. Opin. Pharmacol.* — 2001. — N 1. — P.141–150.
243. Boatright K.M., Salvesen G.S. Mechanisms of caspase activation. // *Curr. Opin. Cell Biol.* — 2003. — Vol. 15. — N 6. — P. 725–731.
244. Borner C. The Bcl-2 protein family: sensors and checkpoints for life-or-death decisions // *Mol. Immunol.* — 2003. — Vol. 39. — N 11. — P. 615–647.

245. Bortner C.D., Cidlowski J.A. Caspase independent/dependent regulation of K<sup>+</sup>, cell shrinkage, and mitochondrial membrane potential during lymphocyte apoptosis // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. — P. 21953–21962.

246. Bossy-Wetzel E., Green D.R. Detection of apoptosis by Annexin V labeling // *Methods Enzymol.* — 2000. — Vol. 322. — P. 15–18.

247. Bouvard V., Zaitchouk T., Vacher M., Duthu A., Canivet M., Choisy-Rossi C., Nieruchalski M., May E. Tissue and cell-specific expression of the p53-target genes: bax, fas, mdm2 and waf1/p21, before and following ionising irradiation in mice // *Oncogene.* — 2000. — Vol. 19. — P. 649–660.

248. Boya P., Gonzalez-Polo R.A., Casares N., Perfettini J.L., Dessen P., Larochette N., Métivier D., Meley D., Souquere S., Yoshimori T., Pierron G., Codogno P., Kroemer G. Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis // *Mol. Cell Biol.* — 2005. — Vol. 25. — P. 1025–1040.

249. Boyd J.M., Malstrom S., Subramanian T., Venkatesh L.K., Schaeper U., Elangovan B., D'Sa-Eipper C., Chinnadurai G. Adenovirus E1B 19 kDa and Bcl-2 proteins interact with a common set of cellular proteins. // *Cell.* — 1994. — Vol. 79. — N 2. — P. 341–351.

250. Bradshaw A.D., Baicu C.F., Rentz T.J., Van Laer A.O., Boggs J., Lacy J.M., Zile M.R. Pressure overload-induced alterations in fibrillar collagen content and myocardial diastolic function: role of secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) in post-synthetic procollagen processing. // *Circulation.* — 2009. — Vol. 119. — N 2. — P. 269–280.

251. Brand M.D., Nicholls D.G. Assessing mitochondrial dysfunction in cells // *Biochem J.* — 2011. — Vol. 435. — N 2. — P. 297–312.

252. Brar B.K., Stephanou A., Liao Z., O'Leary R.M., Pennica D., Yellon D.M., Latchman D.S. Cardioprotrophin-1 can protect cardiomyocytes from injury when added both prior to stimulated ischemia and at deoxygenating // *Cardiovasc Res.* — 2001. — Vol. 51. — P. 265–274.

253. Bratton D.L., Fadok V.A., Richter D.A., Kailey J.M., Guthrie L.A., Henson P.M. Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium-mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272. — P. 26159–65.

254. Bregagnollo E.A., Mestrinel M.A., Okoshi K. et al. Relative role of left ventricular geometric remodeling and of morphological and functional myocardial remodeling in the transition from compensated hypertrophy to heart failure in rats with supravalvar aortic stenosis. // *Arq. Bras. Cardiol.* — 2007. — Vol. 88. — N 2. — P. 225–233.

255. Briones A.M., Tabet .F, Callera G.E., Montezano A.C., Yogi A., He Y., Quinn M.T., Salaces M., Touyz R.M. Differential regulation of Nox1, Nox2 and Nox4 in vascular smooth muscle cells from WKY and SHR // *J. Am. Soc. Hypertens.* — 2011. — Vol. 5. — P. 137–153.

256. Bröker L.E., Kruyt F.A., Giaccone G. Cell death independent of caspases: a review // *Clin. Cancer Res.* 2005. — Vol. 11. — N 9. — P. 3155–3162.

257. Bruick R.K. Expression of the gene encoding the proapoptotic Nip3 protein is induced by hypoxia // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2000. — Vol. 97. — N 16. — P. 9082–9087.

258. Brunner F., Bras-Silva C., Cerdeira A.S., Leite-Moreira A.F. Cardiovascular endothelins: essential regulators of cardiovascular homeostasis // *Pharmacol. Ther.* — 2006. — V. 111. — P. 508–531.

259. Budanov A.V., Karin M. p53 target genes sestrin1 and sestrin2 connect genotoxic stress and mTOR signaling // *Cell.* — 2008. — Vol. 134. — N 3. — P. 451–460.

260. Bujak M., Dobaczewski M., Chatila K., Mendoza L.H., Li N., Reddy A., Frangogiannis N.G. Interleukin-1 receptor type I signaling critically regulates infarct healing and cardiac remodeling // *Am. J. Pathol.* — 2008. — Vol. 173. — N 1. — P. 57–67.

261. Bujak M., Frangogiannis N.G. The role of IL-1 in the pathogenesis of heart disease // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz).* — 2009. — Vol. 57. — N 3. — P. 165–176.

262. Bujak M., Frangogiannis N.G. The role of TGF-beta signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling // *Cardiovasc. Res.* — 2007. — Vol. 74. — N 2. — P. 184–195.

263. Buzás K., Megyeri K., Hőgye M., Csanády M., Bogáts G., Mándi Y. Comparative study of the roles of cytokines and apoptosis in dilated and hypertrophic cardiomyopathies // *Eur. Cytokine Netw.* — 2004. — Vol. 15. — N 1. — P. 53–59.

264. Buzek J., Latonen L., Kurki S., Peltonen K., Laiho M. Redox state of tumor suppressor p53 regulates its sequence-specific DNA binding in DNA-damaged cells by cysteine 277 // *Nucleic Acids Res.* — 2002. — Vol. 30. — P. 2340–2348.

265. Cacciapuoti F. Molecular mechanisms of left ventricular hypertrophy (LVH) in systemic hypertension (SH)—possible therapeutic perspectives // *J. Am. Soc. Hypertens.* — 2011. — Vol. 5. — N 6. — P. 449–455.

266. Caforio A.L., Mahon N.J., McKenna W.J. Cardiac autoantibodies to myosin and other heart-specific autoantigens in myocarditis and dilated cardiomyopathy // *Autoimmunity.* — 2001. — Vol. 34. — N 3. — P. 199–204.

267. Camors E., Monceau V., Charlemagne D. Annexins and Ca<sup>2+</sup> handling in the heart // *Cardiovasc Res.* — 2005. — Vol. 65. — N 4. — P. 793–802.

268. Cande C., Cecconi F., Dessen P., Kroemer G. Apoptosis-inducing factor (AIF): key to the conserved caspase-independent pathways of cell death? // *J. Cell Sci.* — 2002. — Vol. 115. — P. 4727–4734.

269. Capano M., Crompton M. Bax translocates to mitochondria of heart cells during simulated ischaemia: involvement of AMP-activated and p38 mitogen-activated protein kinases // *Biochem. J.* — 2006. — Vol. 395. — P. 57–64.

270. Carballo S., Robinson P., Otway R., Fatkin D., Jongbloed J.D., de Jonge N., Blair E., van Tintelen J.P., Redwood C., Watkins H. Identification and func-

tional characterization of cardiac troponin I as a novel disease gene in autosomal dominant dilated cardiomyopathy // *Circ. Res.* — 2009. — Vol. 105. — N 4. — P. 375–382.

271. Carvalho B.M., Bassani R.A., Franchini K.G., Bassani J.W. Enhanced calcium mobilization in rat ventricular myocytes during the onset of pressure overload-induced hypertrophy // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2006. — Vol. 291. — N 4. — P. 1803–1813.

272. Caserta T.M., Smith A.N., Gultice A.D., Reedy M.A., Brown T.L. Q-VD-OPH, a broad spectrum caspase inhibitor with potent antiapoptotic properties // *Apoptosis.* — 2003. — N 8. — P. 345–352.

273. Castedo M., Ferri K., Roumier T., Métivier D., Zamzami N., Kroemer G. Quantitation of mitochondrial alterations associated with apoptosis // *J. Immunol. Methods.* — 2002. — Vol. 265. — N 1–2. — P. 39–47.

274. Castedo M., Perfettini J.L., Roumier T., Andreau K., Medema R., Kroemer G. Cell death by mitotic catastrophe: a molecular definition // *Oncogene.* — 2004. — Vol. 23. — N 16. — P. 2825–2837.

275. Centurione L., Antonucci A., Miscia S., Grilli A., Rapino M., Grifone G., Di Giacomo V., Di Giulio C., Falconi M., Cataldi A. Age-related death-survival balance in myocardium: an immunohistochemical and biochemical study // *Mech. Ageing Dev.* — 2002. — Vol. 123. — P. 341–350.

276. Chan H.W., Smith N.J., Hannan R.D., Thomas W.G. Tackling the EGFR in pathological tissue remodeling // *Pulm. Pharmacol. Ther.* — 2006. — Vol. 19. — N 1. — P. 74–78.

277. Chang H.Y., Yang X. Proteases for cell suicide: functions and regulation of caspases // *Microbiol. Mol. Boil. Rev.* — 2000. — Vol. 64. — N 4. — P. 821–846.

278. Chang T.C., Wentzel E.A., Kent O.A., Ramachandran K., Mullendore M., Lee K.H., Feldmann G., Yamakuchi M., Ferlito M., Lowenstein C.J., Arking D.E., Beer M.A., Maitra A., Mendell J.T. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis // *Mol. Cell.* — 2007. — Vol. 26. — N 5. — P. 745–752.

279. Chen D. D., Dong Y.G., Yuan H., Chen A.F. Endothelin 1 Activation of Endothelin A Receptor/NADPH Oxidase Pathway and Diminished Antioxidants Critically Contribute to Endothelial Progenitor Cell Reduction and Dysfunction in Salt-Sensitive Hypertension // *Hypertension.* — 2012. — Vol. 59. — N 5. — P. 1037–1043.

280. Chen J.H., Hales C.N., Ozanne S.E. DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: causal or correlative? // *Nucleic. Acids. Res.* — 2007. — V. 35. — P. 7417–7428.

281. Chen Q., Vazquez E.J., Moghaddas S., Hoppel C.L., Lesnfsky E.J. Production of reactive oxygen species by mitochondria: central role of complex III // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278. — P. 36027–36031.

282. Chen Q.M., Alexander D., Sun H., Xie L., Lin Y., Terrand J., Morrissy S., Purdom S. Corticosteroids inhibit cell death induced by doxorubicin in cardio-

myocytes: induction of antiapoptosis, antioxidant, and detoxification genes // *Mol. Pharmacol.* — 2005. — Vol. 67. — N 6. — P. 1861–1873.

283. Chen X., Touyz R.M., Park J.B., Schiffrin E.L. Antioxidant effects of vitamins C and E are associated with altered activation of vascular NADPH oxidase and superoxide dismutase in stroke-prone SHR // *Hypertension.* — 2001. — Vol. 38. — P. 606–611.

284. Chen X., Zhang X., Kubo H., Harris D.M., Mills G.D., Moyer J., Berretta R., Potts S.T., Marsh J.D., Houser S.R.  $Ca^{2+}$  influx-induced sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  overload causes mitochondrial-dependent apoptosis in ventricular myocytes // *Circ. Res.* — 2005. — Vol. 97. — P.1009–1017.

285. Chen Y., Pat B., Zheng J., Cain L., Powell P., Shi K., Sabri A., Husain A., Dell'italia L.J. Tumor necrosis factor-alpha produced in cardiomyocytes mediates a predominant myocardial inflammatory response to stretch in early volume overload // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 2010. — Vol. 49. — N 1. — P. 70–78.

286. Chen Z., Chua C.C., Ho Y.S., Hamdy R.C., Chua B.H. Overexpression of Bcl-2 attenuates apoptosis and protects against myocardial I/R injury in transgenic mice // *Am. J. Physiol.* — 2001. — V. 280. — H2313–H2320.

287. Cheng G., Zile M.R., Takahashi M., Baicu C.F., Bonnema D.D., Cabral F., Menick D.R., Cooper G. 4th A direct test of the hypothesis that increased microtubule network density contributes to contractile dysfunction of the hypertrophied heart // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2008. — Vol. 294. — N 5. — P. 2231–2241.

288. Cheng W., Li B., Kajstura J., Li P., Wolin M.S., Sonnenblick E.H., Hintze T.H., Olivetti G., Anversa P. Stretch-induced programmedmyocyte cell death // *J. Clin. Invest.* — 1995. — Vol. 96. — P. 2247–2259.

289. Chinnery P.F., Samuels D.C., Elson J., Turnbull D.M. Accumulation of mitochondrial DNA mutations in ageing, cancer, and mitochondrial disease: is there a common mechanism? // *Lancet.* — 2002. — Vol. 360. — P. 1323–1325.

290. Chiong M., Wang Z.V., Pedrozo Z., Cao D.J., Troncoso R., Ibacache M., Criollo A., Nemchenko A., Hill J.A., Lavandero S. Cardiomyocyte death: mechanisms and translational implications // *Cell Death and Disease.* — 2011. — N 2. — E. 244.

291. Chipuk J.E., Green D.R. How do BCL-2 proteins induce mitochondrial outer membrane permeabilization? // *Trends Cell Biol.* — 2008. — Vol. 18. — N 4. — P. 157–164.

292. Chipuk J.E., Kuwana T., Bouchier-Hayes L., Droin N.M., Newmeyer D.D., Schuler M., Green D.R. Direct activation of Bax by p53 mediates mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis // *Science.* — 2004. — Vol. 303. — P. 1010–1014.

293. Cho B.B., Toledo-Pereyra L.H. Caspase-independent programmed cell death following ischemic stroke // *Invest. Surg.* — 2008. — Vol. 21. — N 3. — P. 141–147.

294. Chobrial I.M., Witzig T.E., Adjei A.A. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy // *CA Cancer. J. Clin.* — 2005. — V. 55. — P. 178–194.
295. Choi Y.H., Cowan D.B., Moran A.M., Colan S.D., Stamm C., Takeuchi K., Friehs I., del Nido P.J., McGowan F.X. Jr. Myocyte apoptosis occurs early during the development of pressure-overload hypertrophy in infant myocardium // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* — 2009. — Vol. 137. — N 6. — P. 1356–1362.
296. Choudhury S., Bae S., Kumar S.R., Ke Q., Yalamarti B., Choi J.H., Kirshenbaum L.A., Kang P.M. Role of AIF in cardiac apoptosis in hypertrophic cardiomyocytes from Dahl salt-sensitive rats // *Cardiovasc. Res.* — 2010. — Vol. 85. — N 1. — P. 28–37.
297. Chowdhury I., Tharakan B., Bhat G.K. Caspases — an update // *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* — 2008. — Vol. 151. — N 1. — P. 10–27.
298. Chugh S.S., Reinier K., Teodorescu C., Evanado A., Kehr E., Al Samara M., Mariani R., Gunson K., Jui J. Epidemiology of sudden cardiac death: clinical and research implications // *Prog. Cardiovasc. Dis.* — 2008. — Vol. 51. — N 3. — P. 213–228.
299. Chung C.S., Song J.Y., Lomas J. Simms HH, Chaudry I.H., Ayala A. Inhibition of Fas/Fas ligand signaling improves septic survival: differential effects on macrophage apoptotic and functional capacity // *J. Leukoc. Biol.* — 2003. — Vol. 74. — P. 344–351.
300. Cigola E., Kajstura J., Li B., Meggs L.G., Anversa P. Angiotensin II activates programmed myocyte cell death *in vitro* // *Exp. Cell Res.* — 1997. — Vol. 231. — P. 363–371.
301. Clerk A., Aggeli I.K., Stathopoulou K., Sugden P.H. Peptide growth factors signal differentially through protein kinase C to extracellular signal-regulated kinases in neonatal cardiomyocytes // *Cell Signal.* — 2006. — Vol. 18. — N 2. — P. 225–235.
302. Clerk A., Cole S.M., Cullingford T.E., Harrison J.G., Jormakka M., Valks D.M. Regulation of cardiac myocyte cell death // *Pharmacol Ther.* — 2003. — Vol. 97. — P. 223–261.
303. Clerk A., Sugden P.H. Dying by the way you live: AIF vs. caspases in apoptosis of hypertrophied cardiomyocytes. // *Cardiovasc. Res.* — 2010. — Vol. 85. — N 1. — P. 3–4.
304. Clerk A., Sugden P.H. Small guanine nucleotide-binding proteins and myocardial hypertrophy // *Circ. Res.* — 2000. — Vol. 86. — N 10. — P. 1019–1023.
305. Cohen G.M. Caspases: the executioners of apoptosis // *Biochem. J.* — 1997. — Vol. 326. — Pt. 1. — P. 1–16.
306. Communal C., Colucci W.S. The control of cardiomyocyte apoptosis via the beta-adrenergic signaling pathways // *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.* — 2005. — Vol. 98. — N 3. — P. 236–241
307. Condorelli G., Morisco C., Stassi G., Notte A., Farina F., Sgaramella G. Increased cardiomyocyte apoptosis and changes in proapoptotic and antiapoptotic

genes bax and bcl-2 during left ventricular adaptations to chronic pressure overload in the rat // *Circulation*. — 1999. — Vol. 99. — P. 3071–3078.

308. Cooper G. 4th Proliferating cardiac microtubules // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2009. — Vol. 297. — N 2. — P. 510–511.

309. Cory S., Adams J.M. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch // *Nat. Rev. Cancer*. — 2002. — N 2. — P. 647–656.

310. Cowie M.R., Wood D.A., Coats A.J., Thompson S.G., Suresh V., Poole-Wilson P.A., Sutton G.C. Survival of patients with a new diagnosis of heart failure: a population based study // *Heart*. — 2000. — Vol. 83. — N 5. — P. 505–510.

311. Crow M.T., Mani K., Nam Y.J., Kitsis R.N. The mitochondrial death pathway and cardiac myocyte apoptosis // *Circ. Res.* — 2004. — Vol. 95. — P. 957–970.

312. D'Uscio L.V., Moreau P., Shaw S., Takase H., Barton M., Luscher T.F. Effects of chronic ETA-receptor blockade in angiotensin II-induced hypertension // *Hypertension*. — 1997. — Vol. 29. — P. 435–441.

313. Dai D.F., Rabinovitch P.S. Cardiac aging in mice and humans: the role of mitochondrial oxidative stress // *Trends Cardiovasc. Med.* — 2009. — Vol. 19. — P. 213–220.

314. Dallaporta B., Hirsch T., Susin S.A., Zamzami N., Larochette N., Brenner C., Marzo I., Kroemer G. Potassium leakage during the apoptotic degradation phase // *J. Immunol.* — 1998. — Vol. 160. — P. 5605–5615.

315. Daniel D., Yang B., Lawrence D.A., Totpal K., Balter I., Lee W.P., Gogineni A., Cole M.J., Yee S.F., Ross S., Ashkenazi A. Cooperation of the pro-apoptotic receptor agonist rhApo2L/TRAIL with the CD20 antibody rituximab against non-Hodgkin lymphoma xenografts // *Blood*. — 2007. — Vol. 110. — N 12. — P. 4037–4046.

316. Darzynkiewicz Z., Bruno S., DelBino G., Gorczyca W., Hotz M.A., Lassota P., Traganos F. Features of apoptotic cells measured by flow cytometry // *Cytometry*. — 1992. — Vol. 13. — P. 795–808.

317. Daugas E., Nochy D., Ravagnan L., Loeffler M., Susin S.A., Zamzami N., Kroemer G. Apoptosis-inducing factor (AIF): a ubiquitous mitochondrial oxidoreductase involved in apoptosis // *FEBS Lett.* — 2000. — Vol. 476. — N 3. — P. 118–123.

318. de Mello W.C. Novel aspects of angiotensin II action in the heart. Implications to myocardial ischemia and heart failure // *Regul. Pept.* — 2011. — Vol. 166. — N 1–3. — P. 9–14.

319. de Meyer G.R., De Keulenaer G.W., Martinet W. Role of autophagy in heart failure associated with aging // *Heart Fail. Rev.* — 2010. — Vol. 15. — N 5. — P. 423–430.

320. de Meyer G.R., Martinet W. Autophagy in the cardiovascular system. // *Biochim. Biophys. Acta*. — 2009. — Vol. 1793. — N 9. — P. 1485–1495.

321. de Wind L.J., Willems J., Roemen T.H., Coumans W.A., Reneman R.S., Van Der Vusse G.J., Van Bilsen M. Ischemic: reperfused isolated working mouse



heart: membrane damage and type II A phospholipase A // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2001. — Vol. 280. — N 6. — P. 2572–2580.

322. deBiasi R.L., Robinson B.A., Leser J.S., Brown R.D., Long C.S., Clarke P. Critical role for death-receptor mediated apoptotic signaling in viral myocarditis // *J. Card. Fail.* — 2010. — Vol. 16. — N 11. — P. 901–910.

323. Debnath J., Baehrecke E.H., Kroemer G. Does autophagy contribute to cell death? // *Autophagy.* — 2005. — N 1. — P. 66–74.

324. Dejean L.M., Martinez-Caballero S., Kinnally K.W. Is MAC the knife that cuts cytochrome c from mitochondria during apoptosis? // *Cell Death and Differentiation.* — 2006. — Vol. 13. — P. 1387–1395.

325. Denecker G., Vercammen D., Declercq W., Vandenabeele P. Apoptotic and necrotic cell death induced by death domain receptors // *Cell Mol. Life Sci.* — 2001. — Vol. 58. — P. 356–370.

326. Depre C., Taegtmeyer H. Metabolic aspects of programmed cell survival and cell death in the heart // *Cardiovasc. Res.* — 2000. — Vol. 45. — P. 538–548.

327. Deten A., Volz H.C., Briest W., Zimmer H.G. Cardiac cytokine expression is upregulated in the acute phase after myocardial infarction. Experimental studies in rats // *Cardiovasc. Res.* — 2002. — Vol. 55. — N 2. — P. 329–340.

328. Devereux R.B. Therapeutic options in minimizing left ventricular hypertrophy // *Am. Heart J.* — 2000. — Vol. 139. — N 1, Pt 2. — S9–S14.

329. Dewald O., Zymek P., Winkelmann K., Koerting A., Ren G., Abou-Khamis T., Michael L.H., Rollins B.J., Entman M.L., Frangogiannis N.G. CCL2/Monocyte Chemoattractant Protein-1 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts // *Circ. Res.* — 2005. — Vol. 96. — N 8. — P. 881–889.

330. Dhingra S., Sharma A.K., Arora R.C., Slezak J., Singal P.K. IL-10 attenuates TNF-alpha-induced NF kappaB pathway activation and cardiomyocyte apoptosis // *Cardiovasc. Res.* — 2009. — Vol. 82. — N 1. — P. 59–66.

331. Di Napoli P., Taccardi A.A., Grilli A., Felaco M., Balbone A., Angelucci D., Gallina S., Calafiore A.M., De Caterina R., Barsotti A. Left ventricular wall stress as a direct correlate of cardiomyocyte apoptosis in patients with severe dilated cardiomyopathy // *Am. Heart J.* — 2003. — Vol. 146. — N 6. — P. 1105–1111.

332. Diamantis A., Magiorkinis E., Sakorafas G.H., Androustos G. A brief history of apoptosis: from ancient to modern times // *Onkologie.* — 2008. — Vol. 31. — N 12. — P. 702–706.

333. Diaz M.E., Graham H.K., Trafford A.W. Enhanced sarcolemmal Ca<sup>2+</sup> efflux reduces sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> content and systolic Ca<sup>2+</sup> in cardiac hypertrophy // *Cardiovasc. Res.* — 2004. — Vol. 62. — N 3. — P. 538–547.

334. Dickhout J. G., Lee R.M. Blood pressure and heart rate development in young spontaneously hypertensive rats // *Am. J. Physiol.* — 1998. — Vol. 274. — H794–H800.

335. Diederich D., Skopec J., Diederich A., Dai F.X. Cyclosporine produces endothelial dysfunction by increased production of superoxide // *Hypertension.* — 1994. — Vol. 23. — P. 957–961.

336. Diep O.N., Mabrouk M., Yue P., Schiffrin E.I. Effect of AT(1) receptor blockade on cardiac apoptosis in angiotensin II-induced hypertension // *Am. J. Physiol.* — 2002. — Vol. 282. — P. 1635–1641.
337. Díez J. Towards a new paradigm about hypertensive heart disease // *Med. Clin. North Am.* — 2009. — Vol. 93. — N 3. — P. 637–645.
338. Díez J., Panizo A., Hernández M., Vega F., Sola I., Fortuño M.A., Pardo J. Cardiomyocyte apoptosis and cardiac angiotensin-converting enzyme in spontaneously hypertensive rats // *Hypertension.* — 1997. — Vol. 30. — P. 1029–1034.
339. Dikalov S. Crosstalk between mitochondria and NADPH oxidases // *Free Radic. Biol. Med.* — 2011. — Vol. 51. — N 7. — P. 1289–1301.
340. Ding B., Price R., Golsmith E., Borg T., Jan X., Douglas P., Weinberg E., Bartunek J., Thielen T., Didenko V., Lovell B.H. Left ventricular hypertrophy in ascending aortic stenosis mice: anoikis and the progression to early failure // *Circulation.* — 2000. — Vol. 101. — P. 2854–2862.
341. Ding Y.F., Brower G.L., Zhong Q., Murray D., Holland M., Janicki J.S., Zhong J. Defective intracellular Ca<sup>2+</sup> homeostasis contributes to myocyte dysfunction during ventricular remodelling induced by chronic volume overload in rats // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* — 2008. — Vol. 35. — N 7. — P. 827–835.
342. Disashi T., Nonoguchi H., Iwaoka T. et al. Endothelin converting enzyme-1 gene expression in the kidney of spontaneously hypertensive rats // *Hypertension.* — 1997. — V. 30. — N 6. — P. 1591–1597.
343. Dorn G.W., Force T. Protein kinase cascades in the regulation of cardiac hypertrophy // *J. Clin. Invest.* — 2005. — V. 115. — N 3. — P. 527–537.
344. Douglas S.A., Gellai M., Ezekiel M., Ohlstein E.H. BQ-123, a selective endothelin subtype A-receptor antagonist, lowers blood pressure in different rat models of hypertension // *J. Hypertens.* — 1994. — V. 12. — N 5. — P. 561–567.
345. Dröge W., Kinscherf R. Aberrant insulin receptor signaling and amino acid homeostasis as a major cause of oxidative stress in aging // *Antioxid. Redox Signal.* — 2008. — Vol. 10. — N 4. — P. 661–678.
346. Drummond G.R., Selemidis S., Griendling K.K., Sobey C.G. Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets // *Nat. Rev. Drug Discov.* — 2011. — N 10. — P. 453–471.
347. Du C., Fang M., Li Y., Li L., Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition // *Cell.* — 2000. — V. 102. — N 1. — P. 33–42.
348. Dumrese C., Maurus C.F., Gygi D., Schneider M.K., Walch M., Groscurth P., Ziegler U. Chlamydia pneumoniae induces aponecrosis in human aortic smooth muscle cells // *BMC Microbiol.* — 2005. — Vol. 5. — P. 2.
349. Earnshaw W.C., Martins L.M., Kaufmann S.H. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis // *Annu. Rev. Biochem.* — 1999. — Vol. 68. — P. 383–424.

350. Edlich F., Banerjee S., Suzuki M., Cleland M.M., Arnoult D., Wang C., Neutzner A., Tjandra N., Youle R.J. Bcl-x(L) Retrotranslocates Bax from the Mitochondria into the Cytosol // *Cell*. — 2011. — Vol. 145. — P.104–116.

351. Eefting F., Rensing B., Wigman J., Pannekoek W.J., Liu W.M., Cramer M.J., Lips D.J., Doevendans P.A. Role of apoptosis in reperfusion injury // *Cardiovasc. Res.* — 2004. — Vol. 61. — P. 414–426.

352. Elliott P., McKenna W.J. Hypertrophic cardiomyopathy // *Lancet*. — 2004. — Vol. 363. — N 9424. — P.1881–1891.

353. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death // *Toxicol. Pathol.* — 2007. — Vol. 35. — N 4. — P. 495–516.

354. Elsässer A., Suzuki K., Lorenz-Meyer S., Bode C., Schaper J. The role of apoptosis in myocardial ischemia: a critical appraisal // *Basic Res. Cardiol.* — 2001. — Vol. 96. — N 3. — P. 219–226.

355. Enari M., Sakahira H., Yokoyama H., Okawa K., Iwamatsu A., Nagata S. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD // *Nature*. — 1998. — Vol. 391. — P. 43–50.

356. Ernesto A., Aiello L., Villa-Abrille M.C., Escudero E.M., Portiansky E.L. Myocardial hypertrophy of normotensive Wistar-Kyoto rats // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2004. — Vol. 286. — H1229–H1235.

357. Eskes R., Desagher S., Antonsson B., Martinou J.C. Bid induces the oligomerization and insertion of Bax into the outer mitochondrial membrane // *Mol. Cell Biol.* — 2000. — Vol. 20. — P. 929–935.

358. Esposti M.D. The roles of Bid // *Apoptosis*. — 2002. — N 7. — P. 433–440.

359. Estaquier J., Vallette F., Vayssiere J.L., Mignotte B. The mitochondrial pathways of apoptosis // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2012. — Vol. 942. — P. 157–183.

360. Ethell D.W., Buhler L.A. Fas ligand-mediated apoptosis in degenerative disorders of the brain // *J. Clin. Immunol.* — 2003. — Vol. 23. — P. 439–46.

361. Fabris B., Candido R., Bortoletto M., Zentilin L., Sandri M., Fior F., Toffoli B., Stebel M., Bardelli M., Belgrado D., Giacca M., Carretta R. Dose and time-dependent apoptotic effects by angiotensin II infusion on left ventricular cardiomyocytes // *J. Hypertens.* — 2007. — Vol. 25. — N 7. — P. 1481–1490.

362. Favaloro B., Allocati N., Graziano V., Di Ilio C., De Laurenzi V. Role of apoptosis in disease // *Aging (Albany NY)*. — 201. — Vol. 4. — N 5. — P. 330–349.

363. Feng Q.Z., Li Y.F., Zhao Y.S. et al. Effects of creatine phosphate on cardiomyocyte apoptosis in rats with myocardial infarction // *J. Clin. Rehabil. Tissue Eng. Res.* — 2007. — N 11. — P. 4902–4905.

364. Ferrari R., La Canna G., Giubbini R., Visioli O. Stunned and hibernating myocardium: possibility of intervention // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* — 1992. — Vol. 20. — Suppl 5. — P. 5–13.

365. Fidziańska A., Bilińska Z.T., Walczak E., Witkowski A., Chojnowska L. Autophagy in transition from hypertrophic cardiomyopathy to heart failure // *J. Electron. Microsc. (Tokyo)*. — 2010. — Vol. 59. — N 2. — P. 181–183.

366. Fiorillo C., Nediani C., Ponziani V., Giannini L., Celli A., Nassi N., Formigli L., Perna A.M., Nassi P. Cardiac volume overload rapidly induces oxidative stress-mediated myocyte apoptosis and hypertrophy // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2005. — Vol. 1741. — N 1–2. — P. 173–182.

367. Fischer U., Schulze-Osthoff K. New approaches and therapeutics targeting apoptosis in disease // *Pharmacol. Rev.* — 2005. — Vol. 57. — P. 187–215.

368. Formigli L., Papucci L., Tani A., Schiavone N., Tempestini A., Orlandini G.E., Capaccioli S., Orlandini S.Z. Aponecrosis: morphological and biochemical exploration of a syncretic process of cell death sharing apoptosis and necrosis // *J. Cell Physiol.* — 2000. — Vol. 182. — P. 41–49.

369. Formigli L., Papucci L., Tani A., Schiavone N., Tempestini A., Orlandini G.E., Capaccioli S., Orlandini S.Z. Aponecrosis: morphological and biochemical exploration of a syncretic process of cell death sharing apoptosis and necrosis // *J. Cell Physiol.* — 2000. — Vol. 182. — N 1. — P. 41–49.

370. Förstermann U. Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies // *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* — 2008. — N 5. — P. 338–349.

371. Fortuño M. A., Ravassa S., Etayo J.C., Díez J. Overexpression of Bax Protein and Enhanced Apoptosis in the Left Ventricle of Spontaneously Hypertensive Rats : Effects of AT1 Blockade With Losartan // *Hypertension.* — 1998. — V. 32. — P. 280–286.

372. Fortuño M. A., Ravassa S., Fortuño A., Zalba Guillermo and Díez Javier. Cardiomyocyte Apoptotic Cell Death in Arterial Hypertension: Mechanisms and Potential Management // *Hypertension.* — 2001. — Vol. 38. — P. 1406–1412.

373. Fortuño M.A., González A., Ravassa S., López B., Díez J. Clinical implications of apoptosis in hypertensive heart disease. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2003. — Vol. 284. — N 5. — P. 1495–1506.

374. Fossel M. Cell senescence in human aging: a review of the theory // *In Vivo.* — 2000. — Vol. 14. — P. 29–34.

375. Fosslien E. Mitochondrial medicine: cardiomyopathy caused by defective oxidative phosphorylation // *Ann. Clin. Lab. Sci.* — 2003. — Vol. 33. — P. 371–395.

376. Fowler M.R., Naz J.R., Graham M.D., Bru-Mercier G., Harrison S.M., Orchard C.H. Decreased  $\text{Ca}^{2+}$  extrusion via  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$  exchange in epicardial left ventricular myocytes during compensated hypertrophy // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2005. — Vol. 288. — N 5. — P. 2431–2438.

377. Frangogiannis N.G. The immune system and cardiac repair // *Pharmacol. Res.* — 2008. — Vol. 58. — N 2. — P. 88–111.

378. Frangogiannis N.G., Shimoni S., Chang S.M., Ren G., Dewald O., Gersch C., Shan K., Aggeli C., Reardon M., Letsou G.V., Espada R., Ramchandani M., Entman M.L., Zoghbi W.A. Active interstitial remodeling: an important process in the hibernating human myocardium // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2002. — Vol. 39. — N 9. — P. 1468–1474.

379. Frangogiannis N.G., Shimoni S., Chang S.M., Ren G., Shan K., Aggeli C., Reardon M.J., Letsou G.V., Espada R., Ramchandani M., Entman M.L., Zoghbi W.A. Evidence for an active inflammatory process in the hibernating human myocardium // *Am. J. Pathol.* — 2002. — Vol. 160. — N 4. — P. 1425–1433.
380. Frazier A.H., Ramirez-Correa G.A., Murphy A.M. Molecular mechanisms of sarcomere dysfunction in dilated and hypertrophic cardiomyopathy. // *Prog. Pediatr. Cardiol.* — 2011. — Vol. 31. — N 1. — P. 29–33.
381. Friis M.B., Friborg C.R., Schneider L., Nielsen M.B., Lambert I.H., Christensen S.T., Hoffmann E.K. Cell shrinkage as a signal to apoptosis in NIH 3T3 fibroblasts // *J. Physiol.* — 2005. — Vol. 567. — P. 427–443.
382. Frohlich E.D. Fibrosis and ischemia: the real risks in hypertensive heart disease // *Am. J. Hypertens.* — 2001. — V. 14. — P. 194S–199S.
383. Fujioka S., Kitaura Y. Coxsackie B virus infection in idiopathic dilated cardiomyopathy: clinical and pharmacological implications // *BioDrugs.* — 2001. — Vol. 15. — N 12. — P. 791–799.
384. Fulda S., Vucic D. Targeting IAP proteins for therapeutic intervention in cancer // *Nat. Rev. Drug Discov.* — 2012. — V. 11. — N 2. — P. 109–124.
385. Gallenne T., Gautier F., Oliver L., Hervouet E., Noel B., Hickman J.A., Geneste O., Carton P.F., Vallette F.M., Manon S., Juin P. Bax activation by the BH3-only protein Puma promotes cell dependence on antiapoptotic Bcl-2 family members // *J. Cell Biol.* — 2009. — V. 185. — P. 279–290.
386. Gan X.T., Chakrabarti S., Karmazyn M. Increased endothelin-1 and endothelin receptor expression in myocytes of ischemic and reperfused rat hearts and ventricular myocytes exposed to ischemic conditions and its inhibition by nitric oxide generation // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 2003. — Vol. 81. — N 2. — P. 105–113.
387. Garcarena C.D., Caldiz C.I., Portiansky E.L., Chiappe de Cingolani G.E., Ennis I.L. Chronic NHE-1 blockade induces an antiapoptotic effect in the hypertrophied heart // *J. Appl. Physiol.* — 2009. — Vol. 106. — N 4. — P. 1325–1331.
388. Garrido C., Galluzzi L., Brunet M., Puig P.E., Didelot C., Kroemer G. Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria // *Cell Death Differ.* — 2006. — Vol. 13. — P. 1423–1433.
389. Geiszt M. NADPH oxidases: new kids on the block // *Cardiovasc. Res.* — 2006. — Vol. 71. — P. 289–299.
390. Giaccia A.J., Kastan M.B. The complexity of p53 modulation: emerging patterns from divergent signals // *Genes Dev.* — 1998. — Vol. 12. — P. 2973–2983.
391. Giam M., Huang D.C., Bouillet P. BH3-only proteins and their roles in programmed cell death // *Oncogene.* — 2008. — Vol. 27. — Suppl. 1. — P. 128–136.
392. Gill C., Mestral R., Samali A. Losing heart: the role of apoptosis in heart disease: a novel therapeutic target? // *FASEB J.* — 2002. — Vol. 16. — P. 135–146.

393. Gill R.S., Bigam D.L., Cheung P.Y. The role of cyclosporine in the treatment of myocardial reperfusion injury // *Shock*. — 2012. — Vol. 37. — N 4. — P. 341–347.
394. Giordano F.J. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure // *J. Clin. Invest.* — 2005. — Vol. 115. — P. 500–508.
395. Glancy B., Balaban R.S. Role of mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  in the regulation of cellular energetics // *Biochemistry*. — 2012. — Vol. 51. — N 14. — P. 2959–2973.
396. Goldblatt H. Experimental Hypertension Induced by Renal Ischemia: Harvey Lecture, May 19, 1938 // *Bull. N.Y. Acad. Med.* — 1938. — Vol. 14. — N 9. — P. 523–553.
397. Goldblatt H., Kahn J.R. Experimental hypertension: constriction of the aorta at various levels // *J. A.M.A.* — 1938. — N 9. — P. 686.
398. Goldblatt H., Kahn J.R., Hanzal R.F. Studies on experimental hypertension : IX. The effect on blood pressure of constriction of the abdominal aorta above and below the site of origin of both main renal arteries // *J. Exp. Med.* — 1939. — Vol. 69. — N 5. — P. 649–674.
399. Goldspink D. F., Burniston J. G. and Tan L.-B. Cardiomyocyte death and the ageing and failing heart // *Experimental Physiology*. — 2003. — Vol. 88. — N 3. — P. 447–458.
400. Gonzalez A., Fortuno M.A., Ravassa S. et al. Cardiomyocyte apoptosis in hypertensive cardiomyopathy // *Cardiovasc. Res.* — 2003. — Vol. 59. — P. 549–562.
401. Gonzalez A., Lopez B., Ravassa S., Querejeta R., Larman M., Díez J., Fortuño M.A. Stimulation of cardiac apoptosis in essential hypertension: potential role of angiotensin II // *Hypertension*. — 2002. — Vol. 39. — P. 75–80.
402. González A., Ravassa S., López B., Loperena I., Querejeta R., Díez J. Apoptosis in hypertensive heart disease: a clinical approach // *Curr. Opin. Cardiol.* — 2006. — Vol. 21. — N 4. — P. 288–294.
403. Goping I.S., Barry M., Liston P., Sawchuk T., Constantinescu G., Michalak K.M., Shostak I., Roberts D.L., Hunter A.M., Korneluk R., Bleackley R.C. Granzyme B-induced apoptosis requires both direct caspase activation and relief of caspase inhibition // *Immunity*. — 2003. — Vol. 18. — P. 355–365.
404. Gorman A., McCarthy J., Finucane D., Reville W., Cotter T. Morphological assessment of apoptosis // Cotter T.G., Martin S.J. editors, *Techniques in apoptosis. A user's guide*, London: Portland Press. — 1996. — P. 1–20.
405. Gorman A.M., Ceccatelli S., Orrenius S. Role of mitochondria in neuronal apoptosis // *Dev. Neurosci.* — 2000. — Vol. 22. — P. 348–358.
406. Gozuacik D., Kimchi A. Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism // *Oncogene*. — 2004. — Vol. 23. — N 16. — P. 2891–2906.
407. Grande M.T., Pascual G., Riobos A.S., Clemente-Lorenzo M., Bardaji B., Barreiro L., Tornavaca O., Meseguer A., López-Novoa J.M. Increased oxidative stress, the renin-angiotensin system, and sympathetic overactivation induce

- hypertension in kidney androgen-regulated protein transgenic mice // *Free Radic. Biol. Med.* — 2011. — Vol. 51. — P. 1831–1841.
408. Green D.R., Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death // *Science.* — 2004. — Vol. 305. — P. 626–629.
409. Greijer A.E., van der Wall E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis // *J. Clin. Pathol.* — 2004. — Vol. 57. — N 10. — P. 1009–1014.
410. Grutter M.G. Caspases: key players in programmed cell death // *Cur. Opin. Cell Biol.* — 2000. — Vol. 10. — P. 649–655.
411. Gurtu V., Kain S.R., Zhang G. Fluorometric and colorimetric detection of caspase activity associated with apoptosis // *Anal. Biochem.* — 1997. — Vol. 251. — P. 98–102.
412. Gurusamy N., Das D.K. Is autophagy a double-edged sword for the heart? // *Acta Physiol. Hung.* — 2009. — Vol. 96. — N 3. — P. 267–276.
413. Gustafsson A., Gottlieb R. Heart mitochondria: gates of life and death // *Cardiovascular Research.* — 2008. — Vol. 77. — P. 334–343.
414. Gustafsson A.B., Gottlieb R.A. Bcl-2 Family Members and Apoptosis, taken to heart // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* — 2006. — Vol. 292. — C45–C51.
415. Gustafsson A.B., Gottlieb R.A. Mechanisms of apoptosis in the heart // *J. Clin. Immunol.* — 2003. — Vol. 23. — P. 447–459.
416. Gustafsson A.B., Tsai J.G., Logue S.E., Crow M.T., Gottlieb R.A. Apoptosis repressor with caspase recruitment domain protects against cell death by interfering with Bax activation // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279. — P. 21233–21238.
417. Guttenplan N., Lee C., Frishman W.H. Inhibition of myocardial apoptosis as a therapeutic target in cardiovascular disease prevention: focus on caspase inhibition // *Heart Dis.* — 2001. — N 3. — P. 313–318.
418. Hacker G. The morphology of apoptosis // *Cell Tissue Res.* — 2000. — Vol. 301. — P. 5–17.
419. Haddad J.J. Oxygen-sensing mechanisms and the regulation of redox-responsive transcription factors in development and pathophysiology // *Respir. Res.* — 2002. — Vol. 3. — P. 20–26.
420. Hait W.N., Jin S., Yang J.M. A matter of life or death (or both): understanding autophagy in cancer // *Clin. Cancer Res.* — 2006. — Vol. 12. — P. 1961–1965.
421. Halestrap A.P. Calcium, mitochondria and reperfusion injury: a pore way to die // *Biochem. Soc. Trans.* — 2006. — Vol. 34. — P. 232–237.
422. Hamet P., Moreau P., Dam T.V., Orlov S.N., Tea B.S., de Blois D., Tremblay J. The time window of apoptosis: a new component in the therapeutic strategy for cardiovascular remodeling // *J. Hypertens.* — 1996. — Suppl. 14. — N 5. — P. 65–70.

423. Hamet P., Richard L., Dam T.V., Teiger E., Orlov S.N., Gaboury L., Gossard F., Tremblay J. Apoptosis in target organs of hypertension // *Hypertension*. — 1995. — Vol. 26. — P. 642–648.

424. Hamet P., Thorin-Trescases N., Moreau P., Dumas P., Tea B.S., de Blois D., Kren V., Pravenec M., Kunes J., Sun Y., Tremblay J. Workshop: excess growth and apoptosis: is hypertension a case of accelerated aging of cardiovascular cells? // *Hypertension*. — 2001. — Vol. 37. Part 2. — P. 760–766.

425. Hang T., Huang Z., Jiang S., Gong J., Wang C., Xie D., Ren H. Apoptosis in pressure overload-induced cardiac hypertrophy is mediated, in part, by adenine nucleotide translocator-1 // *Ann. Clin. Lab. Sci.* — 2006. — Vol. 36. — N 1. — P. 88–95.

426. Hang T., Jiang S., Wang C., Xie D., Ren H., Zhuge H. Apoptosis and expression of uncoupling protein-2 in pressure overload-induced left ventricular hypertrophy // *Acta Cardiol.* — 2007. — Vol. 62. — N 5. — P. 461–465.

427. Harada H., Grant S. Apoptosis regulators // *Rev. Clin. Exp. Hematol.* — 2003. — Vol. 7. — 2. — P. 117–138.

428. Harada M., Itoh H., Nakagawa O., Ogawa Y., Miyamoto Y., Kuwahara K., Ogawa E., Igaki T., Yamashita J., Masuda I., Yoshimasa T., Tanaka I., Saito Y., Nakao K. Significance of ventricular myocytes and nonmyocytes interaction during cardiocyte hypertrophy: evidence for endothelin-1 as a paracrine hypertrophic factor from cardiac nonmyocytes // *Circulation*. — 1997. — Vol. 96. — P. 3737–3744.

429. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry // *J. Gerontol.* — 1956. — N 11. — P. 298–300.

430. Harman D. Role of free radicals in aging and disease // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 1992. — Vol. 673. — P. 126–141.

431. Harrison D.G., Gongora M.C. Oxidative stress and hypertension // *Med. Clin. North. Am.* — 2009. — Vol. 93. — P. 621–635.

432. Hasegawa A., Cheng X., Kajino K., Berezov A., Murata K., Nakayama T., Yakita H., Murali R., Greene M.I. Fas-disabling small exocyclic peptide mimetics limit apoptosis by an unexpected mechanism // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2004. — Vol. 101. — N 17. — P. 6599–6604.

433. Haudek S.B., Taffet G.E., Schneider M.D., Mann D.L. TNF provokes cardiomyocyte apoptosis and cardiac remodeling through activation of multiple cell death pathways // *J. Clin. Invest.* — 2007. — Vol. 117. — N 9. — P. 2692–2701.

434. Haupt S., Berger M., Haupt Y. Apoptosis — the p53 network // *Journal of Cell Science*. — 2003. — Vol. 116. — P. 4077–4085.

435. He L., He X., Lim L.P., de Stanchina E., Xuan Z., Liang Y., Xue W., Zender L., Magnus J., Ridzon D., Jackson A.L., Linsley P.S., Chen C., Lowe S.W., Cleary M.A., Hannon G.J. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network // *Nature*. — 2007. — Vol. 447. — N 7148. — P. 1130–1134.

436. Heckman C.A., Mehew J.W., Boxer L.M. NF-kappaB activates Bcl-2 expression in t(14;18) lymphoma cells // *Oncogene*. — 2002. — Vol. 21. — N 24. — P. 3898–3908.



437. Heger J., Peters S.C., Piper H.M., Euler G. SMAD-proteins as a molecular switch from hypertrophy to apoptosis induction in adult ventricular cardiomyocytes // *J. Cell Physiol.* — 2009. — Vol. 220. — N 2. — P. 515–523.

438. Hengartner M.O. The biochemistry of apoptosis // *Nature.* — 2000. — Vol. 407. — P. 770–776.

439. Hetz C., Vitte P.A., Bombrun A., Rostovtseva T.K., Montessuit S., Hiver A., Schwarz M.K., Church D.J., Korsmeyer S.J., Martinou J.C., Antonsson B. Bax channel inhibitors prevent mitochondrion-mediated apoptosis and protect neurons in a model of global brain ischemia // *J. Biol. Chem.* — 2005. — Vol. 280. — P. 42960–42970.

440. Heusch G., Schulz R. Hibernating myocardium: new answers, still more questions! // *Circ. Res.* — 2002. — Vol. 91. — N 10. — P. 863–865.

441. Heusch G., Schulz R., Rahimtoola S.H. Myocardial hibernation: a delicate balance. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2005. — Vol. 288. — N 3. — P. 984–899.

442. Hider N., Narula N., Narula J. Apoptosis in heart failure represents programmed cell survival, not death, of cardiomyocytes and likelihood of reverse remodeling // *J. Card. Fail.* — 2002. — N 8. — P. 512–517.

443. Hikoso S., Ikeda Y., Yamaguchi O., Takeda T., Higuchi Y., Hirotani S., Kashiwase K., Yamada M., Asahi M., Matsumura Y., Nishida K., Matsuzaki M., Hori M., Otsu K. Progression of heart failure was suppressed by inhibition of apoptosis signal-regulating kinase 1 via transcortical gene transfer // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2007. — Vol. 50. — N 5. — P. 453–462.

444. Hilbert P., Lindpaintner K., Beckmann J.S., Serikawa T., Soubrier F., Dubay C., Cartwright P., De Gouyon B., Julier C., Takahashi S. Chromosomal mapping of two genetic loci associated with blood-pressure regulation in hereditary hypertensive rats // *Nature.* — 1991. — Vol. 353. — P. 521–529.

445. Hill M.M., Adrain C., Duriez P.J., Creagh E.M., Martin S.J. Analysis of the composition, assembly kinetics and activity of native Apaf-1 apoptosomes // *EMBO. J.* — 2004. — Vol. 23. — P. 2134–2145.

446. Hochhauser E., Cheporko Y., Yasovich N., Pinchas L., Offen D., Barhum Y., Pannet H., Tobar A., Vidne B.A., Birk E. Bax deficiency reduces infarct size and improves long-term function after myocardial infarction // *Cell Biochem. Biophys.* — 2007. — Vol. 47. — P. 11–20.

447. Hochhauser E., Kivity S., Offen D., Maulik N., Otani H., Barhum Y., Pannet H., Shneyvays V., Shainberg A., Goldshtaub V., Tobar A., Vidne B.A. Bax ablation protects against myocardial ischemiareperfusion injury in transgenic mice // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2003. — Vol. 284 — P. 2351–2359.

448. Holly T.A., Drincic A., Byun Y., Nakamura S., Harris K., Klocke F.J., Cryns V.L. Caspase inhibition reduces myocyte cell death induced by myocardial ischemia and reperfusion *in vivo* // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 1999. — V. 31. — P. 1709–1715.

449. Honsho S., Nishikawa S., Amano K., Zen K., Adachi Y., Kishita E., Matsui A., Katsume A., Yamaguchi S., Nishikawa K., Isoda K., Riches D.W., Matoba S., Okigaki M., Matsubara H. Pressure-mediated hypertrophy and mechanical stretch induces IL-1 release and subsequent IGF-1 generation to maintain compensative hypertrophy by affecting Akt and JNK pathways // *Circ. Res.* — 2009. — Vol. 105. — N 11. — P. 1149–1158.

450. Hori M., Nishida K. Oxidative stress and left ventricular remodeling after myocardial infarction // *Cardiovasc. Res.* — 2009. — Vol. 81. — N 3. — P. 457–464.

451. Horio T. Heart failure and circulatory peptides // *Nippon Naika Gakkai Zasshi.* — 2005. — Vol. 94. — P. 201–207.

452. Hossain M.M., Richardson J.R. Mechanism of pyrethroid pesticide-induced apoptosis: role of calpain and the ER stress pathway // *Toxicol. Sci.* — 2011. — Vol. 122. — N 2. — P. 512–525.

453. Hotchkiss R.S., Tinsley K.W., Karl I.E. Role of apoptotic cell death in sepsis // *Scand. J. Infect. Dis.* — 2003. — Vol. 35. — P. 585–592.

454. Høyer-Hansen M., Jäättelä M. Autophagy: an emerging target for cancer therapy // *Autophagy.* — 2008. — Vol. 4. — N 5. — P. 574–580.

455. Hu S., Snipas S.J., Vincenz C., Salvesen G., Dixit V.M. Caspase-14 is a novel developmentally regulated protease // *J. Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 273. — P. 29648–29653.

456. Hu X., Wang H., Lu W., Dong Y., Cheng P. The study on intramyocardial calcium overload and apoptosis induced by coxsackievirus B3 // *J. Tongji Med. Univ.* — 2001. — Vol. 21. — N 3. — P. 256–258.

457. Huang J., Klionsky D.J. Autophagy and human disease // *Cell Cycle.* — 2007. — Vol. 6. — N 15. — P. 1837–1849.

458. Hutchins J.B., Barger S.W. Why neurons die: cell death in the nervous system // *Anat Rec.* — 1998. — Vol. 253. — N 3. — P. 79–90.

459. Hyman B.T., Yuan J. Apoptotic and non-apoptotic roles of caspases in neuronal physiology and pathophysiology // *Nat. Rev. Neurosci.* — 2012. — Vol. 13. — N 6. — P. 395–406.

460. Hynynen M.M., Khalil R.A. The Vascular Endothelin System in Hypertension — Recent Patents and Discoveries // *Recent Patents Cardiovasc. Drug. Discov.* — 2006. — N 1. — P. 95–108.

461. Ibe W., Saraste A., Lindemann S., Bruder S., Buerke M., Darius H., Pulkki K., Voipio-Pulkki L.M. Cardiomyocyte apoptosis is related to left ventricular dysfunction and remodelling in dilated cardiomyopathy, but is not affected by growth hormone treatment // *Eur. J. Heart Fail.* — 2007. — Vol. 9. — N 2. — P. 160–167.

462. Ioney F.H., Krammer P.H. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis // *Nat. Rev. Cancer.* — 2002. — N 2. — P. 277–288.

463. Ikeda S., Hamada M., Qu P., Hiasa G., Hashida H., Shigematsu Y., Hiwada K. Relationship between cardiomyocyte cell death and cardiac function

during hypertensive cardiac remodelling in Dahl rats // *Clin. Sci. (Lond)*. — 2002. — Vol. 102. — N 3. — P. 329–335.

464. Ikeuchi M., Tsutsui H., Shiomi T., Matsusaka H., Matsushima S., Wen J., Kubota T., Takeshita A. Inhibition of TGF-beta signaling exacerbates early cardiac dysfunction but prevents late remodeling after infarction. // *Cardiovasc. Res.* — 2004. — Vol. 64. — N 3. — P. 526–535.

465. Imanishi T., Murry C.E., Reinecke H., Hano T., Nishio I., Liles W.C., Hofsta L., Kim K., O'Brien K.D., Schwartz S.M., Han D.K. Cellular FLIP is expressed in cardiomyocytes and down-regulated in TUNEL-positive grafted cardiac tissues // *Cardiovasc. Res.* — 2000. — V. 48. — P. 101–110.

466. Innes B.A., McLaughlin M.G., Kapuscinski M.K., Jacob H.J., Harrap S.B. Independent genetic susceptibility to cardiac hypertrophy in inherited hypertension // *J. Hypertension*. — 1998. — V. 31. — N 3. — P. 261–267.

467. Ishibashi Y., Takahashi M., Isomatsu Y., Qiao F., Iijima Y., Shiraishi H., Simsic J.M., Baicu C.F., Robbins J., Zile M.R., Cooper G. 4th. Role of microtubules versus myosin heavy chain isoforms in contractile dysfunction of hypertrophied murine cardiocytes // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2003. — Vol. 285. — N 3. — P. H1270–1285.

468. Ishikawa M., Saito Y., Miyamoto Y., Harada M., Kuwahara K., Ogawa E., Nakagawa O., Hamanaka I., Kajiyama N., Takahashi N., Masuda I., Hashimoto T., Sakai O., Hosoya T., Nakao K. A heart-specific increase in cardiotrophin-1 gene expression precedes the establishment of ventricular hypertrophy in genetically hypertensive rats // *J. Hypertens.* — 1999. — Vol. 17. — N 6. — P. 807–816.

469. Itahana K., Campisi J., Dimri G.P. Mechanisms of cellular senescence in human and mouse cells // *Biogerontology*. — 2004. — N 5. — P. 1–10.

470. Ito H., Hirata Y., Adachi S., Tanaka M., Tsujino M., Koike A., Nogami A., Murumo F., Hiroe M. Endothelin-1 is an autocrine/paracrine factor in the mechanism of angiotensin II-induced hypertrophy in cultured rat cardiomyocytes // *J. Clin. Invest.* — 1993. — Vol. 92. — N 1. — P. 398–403.

471. Ito H., Hiroe M., Hirata Y., Fujisaki H., Adachi S., Akimoto H., Ohta Y., Marumo F. Endothelin ETA receptor antagonist blocks cardiac hypertrophy provoked by hemodynamic overload // *Circulation*. — 1994. — Vol. 89. — N 5. — P. 2198–2203.

472. Ito Y., Otsuki Y. Localization of apoptotic cells in the human epidermis by an in situ DNA nick end-labeling method using confocal reflectant laser microscopy // *J. Histochem. Cytochem.* — 1998. — Vol. 46. — N 6. — P. 783–786.

473. Itoh G., Tamura J., Suzuki M., Suzuki Y., Ikeda H., Koike M., Nomura M., Jie T., Ito K. DNA fragmentation of human infarcted myocardial cells demonstrated by the nick end labeling method and DNA agarose gel electrophoresis // *Am. J. Pathol.* — 1995. — Vol. 146. — P. 1325–1331.

474. Jacob C., Jamier V., Ba L.A. Redox active secondary metabolites // *Curr. Opin. Chem. Biol.* — 2011. — Vol. 15. — P. 149–155.

475. Jacob H.J., Lindpaintner K., Lincoln S.E., Kusumi K., Bunker R.K., Mao Y.P., Ganten D., Dzau V.J., Lander E.S. Genetic mapping of a gene causing hypertension in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat // *Cell*. — 1991. — Vol. 67. — N 1. — P. 213–224.

476. Jahns R., Boivin V., Schwarzbach V., Ertl G., Lohse M.J. Pathological autoantibodies in cardiomyopathy // *Autoimmunity*. — 2008. — Vol. 41. — N 6. — P. 454–461.

477. James K.E., Asgian J.L., Li Z.Z., Ekici O.D., Rubin J.R., Mikolajczyk J., Salvesen G.S., Powers J.C. Design, synthesis, and evaluation of aza-peptide epoxides as selective and potent inhibitors of caspases-1, -3, -6 and -8 // *J. Med. Chem.* — 2004. — Vol. 47. — P. 1553–1574.

478. Jeng A.Y., Savage P., Beil M.E., Bruseo C.W., Hoyer D., Fink C.A., Trapani A.J. CGS 34226, a thiol-based dual inhibitor of endothelin converting enzyme-1 and neutral endopeptidase // *Clin. Sci. (Lond)*. — 2002. — Vol. 103. Suppl. 48. — P. 98–101.

479. Jeremias I., Kupatt C., Martin-Villalba A., Habazettl H., Schenkel J., Boekstegers P., Debatin K.M. Involvement of CD95/Apo1/Fas in cell death after myocardial ischemia // *Circulation*. — 2000. — Vol. 102. — P. 915–920.

480. Jeunemaitre X., Charru A. M235T variant of the human angiotensinogen gene in unselected hypertensive patients // *J. Hypertens.* — 1993. — N 11. — P. 80–81.

481. Jeunemaitre X., Inoue I. Haplotypes of angiotensinogen in essential hypertension // *Am. J. Hum. Genet.* — 1997. — Vol. 60. — N 6. — P. 1448–1460.

482. Jia Z., Aoyagi T., Yang T. mPGES-1 protects against DOCA-salt hypertension via inhibition of oxidative stress or stimulation of NO/cGMP // *Hypertension*. — 2010. — Vol. 55. — P. 539–546.

483. Jin S., Levine A.J. The p53 functional circuit // *J. Cell Sci.* — 2001. — Vol. 114. — P. 4139–4120.

484. Johnson C.R., Jarvis W.D. Caspase-9 regulation: an update // *Apoptosis*. — 2004. — Vol. 9. — N 4. — P. 423–427.

485. Jonker S.S., Zhang L.B., Louey S., Giraud G.D., Thornburg K.L., Faber J.J. Myocyte enlargement, differentiation, and proliferation kinetics in the fetal sheep heart // *J. Appl. Physiol.* — 2007. — Vol. 102. — P. 1130–1142.

486. Jourdain A., Martinou J.C. Mitochondrial outer-membrane permeabilization and remodelling in apoptosis // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* — 2009. — Vol. 41. — N 10. — P. 1884–1889.

487. Jousen A.M., Poulaki V., Mitsiades N., Cai W., Suzuma I., Pak J., Ju S., Rook S.L., Esser P., Mitsiades C., Kirchhof B., Adamis A.P., Aiello L.P. Suppression of Fas-FasL-induced endothelial cell apoptosis prevents diabetic blood-retinal barrier breakdown in a model of streptozotocin-induced diabetes // *FASEB J.* — 2003. — Vol. 17. — N 1. — P. 76–78.

488. Joza N., Susin S.A., Dugas E., Stanford W.L., Cho S.K., Li C.Y., Sasaki T., Elia A.J., Cheng H.Y., Ravagnan L., Ferri K.F., Zamzami N., Wakeham A.,

Hakem R., Yoshida H., Kong Y.Y., Mak T.W., Zuniga-Pflucker J.C., Kroemer G., Penninger J.M. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death // *Nature*. — 2001. — Vol. 410. — P. 549–554.

489. Jung F., Weiland U., Johns R.A., Ihling C., Dimmeler S. Chronic hypoxia induces apoptosis in cardiac myocytes: a possible role for Bcl-2-like proteins // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2001. — Vol. 286. — P. 419–425.

490. Kabeya Y., Kawamata T., Suzuki K., Ohsumi Y. Cisl/Atg31 is required for autophagosome formation in *Saccharomyces cerevisiae* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2007. — Vol. 356. — N 2. — P. 405–410.

491. Kaburagi S., Hasegawa K., Morimoto T., Araki M., Sawamura T., Masaki T., Sasayama S. The role of endothelin-converting enzyme-1 in the development of alpha1-adrenergic-stimulated hypertrophy in cultured neonatal rat cardiac myocytes // *Circulation*. — 1999. — Vol. 99. — N 2. — P. 292–298.

492. Kaczmarek D.J., Herzog C., Larmann J., Gillmann H.J., Hildebrand R., Schmitz M., Westermann A., Harendza T., Werdehausen R., Osthaus A.W., Echtermeyer F., Hahnenkamp K., Wollert K.C., Theilmeier G. Lidocaine protects from myocardial damage due to ischemia and reperfusion in mice by its antiapoptotic effects // *Anesthesiology*. — 2009. — Vol. 110. — N 5. — P. 1041–1049.

493. Kaeser M.D., Iggo R.D. Chromatin immunoprecipitation analysis fails to support the latency model for regulation of p53 DNA binding activity *in vivo* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2002. — Vol. 99. — P. 95–100.

494. Kahler J., Ewert A., Weckmuller J., Stobbe S., Mittmann C., Koster R., Paul M., Meinertz T., Munzel T. Oxidative stress increases endothelin-1 synthesis in human coronary artery smooth muscle cells // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* — 2001. — Vol. 38. — P.49–57.

495. Kakarla S. K., Rice K. M., Katta A., Paturi S., Wu M., Kolli M., Keshavarzian S., Manzoor K., Wehner P.S., Blough E.R. Possible Molecular Mechanisms Underlying Age-Related Cardiomyocyte Apoptosis in the F344XBN Rat Heart // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* — 2010. — Vol. 65A. — N 2. — P. 147–155.

496. Kang P.M., Yue P., Izumo S. New insights into the role of apoptosis in cardiovascular disease // *Circ. J.* — 2002. — Vol. 66. — N 1. — P. 1–9.

497. Kang P.M., Yue P., Liu Z., Tarnavski O., Bodyak N., Izumo S. Alterations in apoptosis regulatory factors during hypertrophy and heart failure // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2004. — Vol. 287. — N 1. — P. 72–80.

498. Kang S.J., Wang S., Kuida K., Yuan J. Distinct downstream pathways of caspase-11 in regulating apoptosis and cytokine maturation during septic shock response // *Cell Death Differ.* — 2002. — Vol. 9. — P. 1115–1125.

499. Kanoh M., Takemura G., Misao J., Hayakawa Y., Aoyama T., Nishigaki K., Noda T., Fujiwara T., Fukuda K. Significance of myocytes with positive DNA *in situ* nick end-labeling (TUNEL) in hearts with dilated cardiomyopathy: not apoptosis but DNA repair // *Circulation*. — 1999. — Vol. 99. — P. 2757–2764.

500. Kao J.P., Li G., Auston D.A. Practical aspects of measuring intracellular calcium signals with fluorescent indicators // *Methods Cell Biol.* — 2010. — Vol. 99. — P. 113–152.

501. Karin M., Lin A. NF-kappaB at the crossroads of life and death // *Nat Immunol.* — 2002. — Vol. 3. — P. 221–227.

502. Karki P., Seong C., Kim J.E., Hur K., Shin S.Y., Lee J.S., Cho B., Park I.S. Intracellular K(+) inhibits apoptosis by suppressing the Apaf-1 apoptosome formation and subsequent downstream pathways but not cytochrome c release // *Cell Death Differ.* — 2007. — Vol. 14. — N 12. — P. 2068–2075.

503. Kato M. Effect of diphtherial cord factor and diphtherial toxin on mitochondrial oxidative phosphorylation. // *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* — 1972. — Vol. 25. — N 3. — P. 230–235.

504. Kaufmann S.H., Hengartner M.O. Programmed cell death: alive and well in new millenium // *Trends Cell Biol.* — 2001. — Vol. 11. — P. 526–534.

505. Kaufmann S.H., Lee S.H., Meng X.W., Loegering D.A., Kottke T.J., Henzing A.J., Ruchaud S., Samejima K., Earnshaw W.C. Apoptosis-associated caspase activation assays // *Methods.* — 2008. — Vol. 44. — N 3. — P. 262–272.

506. Kelekar A., Thompson C.B. Bcl-2-family proteins: the role of the BH3 domain in apoptosis // *Trends Cell Biol.* — 1998. — Vol. 8. — P. 324–330.

507. Kerr J.F., Winterford C.M., Harmon B.V. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy // *Cancer.* — 1994. — Vol. 73. — P. 2013–2026.

508. Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics // *Br. J. Cancer.* — 1972. — Vol. 26. — P. 239–257.

509. Kiechle F.L., Zhang X. Apoptosis: biochemical aspects and clinical implications // *Clin. Chim. Acta.* — 2002. — Vol. 326. — N 1–2. — P. 27–45.

510. Kim G.T., Chun Y.S., Park J.W., Kim M.S. Role of apoptosis-inducing factor in myocardial cell death by ischemia-reperfusion // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2003. — Vol. 309. — P. 619–624.

511. Kim H., Tu H.C., Ren D., Takeuchi O., Jeffers J.R., Zambetti G.P., Hsieh J.J., Cheng E.H. Stepwise activation of BAX and BAK by tBID, BIM, and PUMA initiates mitochondrial apoptosis. // *Mol. Cell.* — 2009. — Vol. 36. — P. 487–499.

512. Kim J.A., Neupane G.P., Lee E.S., Jeong B.S., Park B.C., Thapa P. NADPH oxidase inhibitors: a patent review // *Expert Opin. Ther. Pat.* 2011. — Vol. 21. — P. 1147–1158.

513. Kim J.S., He L., Lemasters J.J. Mitochondrial permeability transition: a common pathway to necrosis and apoptosis // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2003. — Vol. 304. — P. 463–470.

514. Kim J.S., Jin Y., Lemasters J.J. Reactive oxygen species, but not Ca<sup>2+</sup> overloading, trigger pH- and mitochondrial permeability transition-dependent death of adult rat myocytes after ischemiareperfusion // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2006. — Vol. 290. — P. 2024–2034.

515. Kim N.H., Kang P.M. Apoptosis in cardiovascular diseases: mechanism and clinical implications // *Korean Circ. J.* — 2010. — Vol. 40. — N 7. — P. 299–305.
516. Kim R., Emi M., Tanabe K. Role of mitochondria as the gardens of cell death // *Cancer Chemother. Pharmacol.* — 2006. — Vol. 57. — N 5. — P. 545–553.
517. Kim S.Y., Kim S.J., Kim B.J., Rah S.Y., Chung S.M., Im M.J., Kim U.H. Doxorubicin-induced reactive oxygen species generation and intracellular  $Ca^{2+}$  increase are reciprocally modulated in rat cardiomyocytes // *Exp. Mol. Med.* — 2006. — Vol. 38. — N 5. — P. 535–545.
518. Kischkel F.C., Hellbardt S., Behrmann I., Germer M., Pawlita M., Krammer P.H., Peter M.E. Cytotoxicitydependent APO-1 (Fas/CD95) — associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor // *EMBO J.* — 1995. — Vol. 14. — P. 5579–5588.
519. Kitazumi I., Tsukahara M. Regulation of DNA fragmentation: the role of caspases and phosphorylation // *FEBS J.* — 2011. — Vol. 278. — N 3. — P. 427–441.
520. Klionsky D.J., Cregg J.M., Dunn W.A. Jr., Emr S.D., Sakai Y., Sandoval I.V., Sibirny A., Subramani S., Thumm M., Veenhuis M., Ohsumi Y. A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes // *Dev. Cell.* — 2003. — Vol. 5. — N 4. — P. 539–545.
521. Knudson C.M., Brown N.M. Mitochondria potential, bax «activation», and programmed cell death // *Methods Mol. Biol.* — 2008. — Vol. 414. — P. 95–108.
522. Koenig U., Eckhart L., Tschachler E. Evidence that caspase-13 is not a human but a bovine gene // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2001. — Vol. 285. — P. 1150–1154.
523. Kohan D.E., Rossi N.F., Inscho E.W., Pollock D.M. Regulation of blood pressure and salt homeostasis by endothelin // *Physiol. Rev.* — 2011. — Vol. 91. — N 1. — P. 1–77.
524. Kolwicz S.C., MacDonnell S.M., Renna B.F., Reger P.O., Seqqat R., Rafiq K., Kendrick Z.V., Houser S.R., Sabri A., Libonati J.R. Left ventricular remodeling with exercise in hypertension // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2009. — Vol. 297. — N 4. — P. 1361–1368.
525. Komuro I., Katoh Y., Kaida T., Shibasaki Y., Kurabayashi M., Takaku F., Yazaki Y. Mechanical loading stimulates cell hypertrophy and specific gene expression in cultured rat cardiac myocytes // *J. Biol. Chem.* — 1991. — Vol. 266. — P. 1265–1268.
526. Kondo Y., Kanzawa T., Sawaya R., Kondo S. The role of autophagy in cancer development and response to therapy // *Nat. Rev. Cancer.* — 2005. — Vol. 5. — N 9. — P. 726–734.
527. Konishi Y., Sato H., Tanaka T. Anisomycin superinduces annexin V mRNA expression through the ERK1/2 but not the p38 MAP kinase pathway // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2004. — Vol. 313. — N 4. — P. 977–983.

528. Kostin S., Pool L., Elsasser A., Hein S., Drexler H.C., Arnon E., Hayakawa Y., Zimmermann R., Bauer E., Klövekorn W.P., Schaper J. Myocytes die by multiple mechanisms in failing human hearts // *Circ. Res.* — 2003. — Vol. 92. — P. 715–724.

529. Krayenbuehl H.P., Hess O.M., Monrad E.S., Schneider J., Mall G., Turina M. Left ventricular myocardial structure in aortic valve disease before, intermediate, and late after aortic valve replacement // *Circulation.* — 1989. — Vol. 79. — N 4. — P. 744–755.

530. Krayenbuehl H.P., Hess O.M., Ritter M., Monrad E.S., Hoppeler H. Left ventricular systolic function in aortic stenosis // *Eur. Heart J.* — 1988. — Vol. 9. — Suppl. E. — P. 19–23.

531. Kressel M., Groscurth P. Distinction of apoptotic and necrotic cell death by *in situ* labelling of fragmented DNA // *Cell Tissue Res.* — 1994. — Vol. 278. — P. 549–556.

532. Krishnamurthy P., Rajasingh J., Lambers E., Qin G., Losordo D.W., Kishore R. IL-10 inhibits inflammation and attenuates left ventricular remodeling after myocardial infarction via activation of STAT3 and suppression of HuR // *Circ. Res.* — 2009. — Vol. 104. — N 2. — P. 9–18.

533. Krishnamurthy P., Subramanian V., Singh M., Singh K. Deficiency of beta1 integrins results in increased myocardial dysfunction after myocardial infarction // *Heart.* — 2006. — Vol. 92. — N 9. — P. 1309–1315.

534. Kroemer G., Galluzzi L., Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death // *Physiol. Rev.* — 2007. — Vol. 87. — P. 99–163.

535. Kroemer G., Reed J.C. Mitochondrial control of cell death // *Nat. Med.* — 2000. — Vol. 6. — N 5. — P. 513–519.

536. Krown K.A., Page M.T., Nguyen C., Zechner D., Gutierrez V., Comstock K.L., Glembotski C.C., Quintana P.J., Sabbadini R.A. Tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis in cardiac myocytes. Involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death // *J. Clin. Invest.* — 1996. — Vol. 98. — P. 2854–2865.

537. Krysko D.V., Vanden Berghe T., D'Herde K., Vandenabeele P. Apoptosis and necrosis: detection, discrimination and phagocytosis // *Methods.* — 2008. — Vol. 44. — N 3. — P. 205–221.

538. Kubasiak L.A., Hernandez O.M., Bishopric N.H., Webster K.A. Hypoxia and acidosis activate cardiac myocyte death through the Bcl-2 family protein BNIP3 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99. — P. 12825–12830.

539. Kuribayashi K., Finnberg N., Jeffers J.R., Zambetti G.P., El-Deiry W.S. The relative contribution of pro-apoptotic p53-target genes in the triggering of apoptosis following DNA damage *in vitro* and *in vivo* // *Cell Cycle.* — 2011. — Vol. 10. — N 14. — P. 2380–2389.

540. Kurosaka K., Takahashi M., Watanabe N., Kobayashi Y. Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages // *J. Immunol.* — 2003. — Vol. 171. — P. 4672–4679.



541. Kurrelmeyer K.M., Michael L.H., Baumgarten G., Taffet G.E., Peschon J.J., Sivasubramanian N., Entman M.L., Mann D.L. Endogenous tumor necrosis factor protects the adult cardiac myocyte against ischemic-induced apoptosis in a murine model of acute myocardial infarction // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2000. — Vol. 97. — P. 5456–5461.
542. Kushnareva Y., Newmeyer D.D. Bioenergetics and cell death // *Ann. N Y Acad. Sci.* — 2010. — Vol. 1201. — P. 50–57.
543. Kutuk O., Letai A. Regulation of Bcl-2 family proteins by posttranslational modifications // *Curr. Mol. Med.* — 2008. — Vol. 8. — P. 102–118.
544. Kuwana T., Mackey M.R., Perkins G., Ellisman M.H., Latterich M., Schneider R., Green D.R., Newmeyer D.D. Bid, Bax, and lipids cooperate to form supramolecular openings in the outer mitochondrial membrane // *Cell.* — 2002. — Vol. 111. — P. 331–342.
545. Kytö V., Saraste A., Saukko P., Henn V., Pulkki K., Vuorinen T., Voipio-Pulkki L.M. Apoptotic cardiomyocyte death in fatal myocarditis // *Am. J. Cardiol.* — 2004. — Vol. 94. — N 6. — P. 746–750.
546. Lakatta EG. Aging and cardiovascular structure and function in healthy sedentary humans // *Aging (Milano).* — 1998. — N 10. — P. 162–164.
547. Landmesser U., Cai H., Dikalov S., McCann L., Hwang J., Jo H., Holland S.M., Harrison D.G. Role of p47(phox) in vascular oxidative stress and hypertension caused by angiotensin II // *Hypertension.* — 2002. — Vol. 40. — P. 511–515.
548. Larsen K.E., Sulzer D. Autophagy in neurons: a review. // *Histol. Histopathol.* — 2002. — Vol. 17. — N 3. — P. 897–908.
549. Laugwitz K.L., Moretti A., Weig H.J., Gillitzer A., Pinkernell K., Ott T., Prast I., Städele C., Seyfarth M., Schömig A., Ungerer M. Blocking caspase-activated apoptosis improves contractility in failing myocardium // *Hum. Gene Ther.* — 2001. — Vol. 12. — P. 2051–2063.
550. Lee K.H., Jang Y., Chung J.H. Heat shock protein 90 regulates IKB kinase complex and NF-KB activation in angiotensin II-induced cardiac cell hypertrophy // *Exp. Mol. Med.* — 2010. — Vol. 42. — P. 703–711.
551. Lee M.Y., Griendling K.K. Redox signaling, vascular function, and hypertension // *Antioxid. Redox Signal.* — 2008. — Vol. 10. — P. 1045–1059.
552. Lee P., Sata M., Lefler D.J., Factor S.M., Walsh K., Kitsis R.N. Fas pathway is a critical mediator of cardiac myocyte death and MI during ischemia-reperfusion *in vivo* // *Am. J. Physiol.* — 2003. — Vol. 284. — H456–H463.
553. Lee S.D., Chu C.H., Huang E.J., Lu M.C., Liu J.Y., Liu C.J., Hsu H.H., Lin J.A., Kuo W.W., Huang C.Y. Roles of insulin-like growth factor II in cardiomyoblast apoptosis and in hypertensive rat heart with abdominal aorta ligation // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2006. — Vol. 291. — N 2. — P. 306–314.
554. Lee Y., Gustafsson A.B. Role of apoptosis in cardiovascular disease // *Apoptosis.* — 2009. — Vol. 14. — N 4. — P. 536–548.
555. Leist M., Jaattela M. Four deaths and a funeral: From caspases to alternative mechanisms // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* — 2001. — N 2. — P. 589–598.

556. Leist M., Single B., Castoldi A.F., Kuhnle S., Nicotera P. Intracellular adenosine triphosphate (ATP) concentration: a switch in the decision between apoptosis and necrosis // *J. Exp. Med.* — 1997. — Vol. 185. — P. 1481–1486.

557. Lemasters J.J., Theruvath T.P., Zhong Z., Nieminen A-L. Mitochondrial Calcium and the Permeability Transition in Cell Death // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2009. — Vol. 1787. — N 11. — P. 1395–1401.

558. Leri A., Claudio P.P., Li Q., Wang X., Reiss K., Wang S., Malhotra A., Kajstura J., Anversa P. Stretch-mediated release of angiotensin II induces myocyte apoptosis by activating p53 that enhances the local renin-angiotensin system and decreases the Bcl-2-to-Bax protein ratio in the cell // *J. Clin. Invest.* — 1998. — Vol. 101. — P. 1326–1342.

559. Leri A., Franco S., Zacheo A., Barlucchi L., Chimenti S., Limana F., Nadal-Ginard B., Kajstura J., Anversa P., Blasco M.A. Ablation of telomerase and telomere loss leads to cardiac dilatation and heart failure associated with p53 upregulation // *EMBO J.* — 2003. — Vol. 22. — P. 131–139.

560. Levine B., Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent convict? // *J. Clin. Invest.* — 2005. — Vol. 115. — N 10. — P. 2679–2688.

561. Li G.Y., Fan B., Su G.F. Acute energy reduction induces caspase-dependent apoptosis and activates p53 in retinal ganglion cells (RGC-5) // *Exp. Eye Res.* — 2009. — Vol. 89. — N 4. — P. 581–589.

562. Li J.S., Lariviere R., Schiffrin E.L. Effect of a nonselective endothelin antagonist on vascular remodeling in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. Evidence for a role of endothelin in vascular hypertrophy // *Hypertension.* — 1994. — Vol. 24. — P. 183–188.

563. Li J.S., Schiffrin E.L. Effect of chronic treatment of adult spontaneously hypertensive rats with an endothelin receptor antagonist // *Hypertension.* — 1995. — Vol. 25. — N 4. — Pt. 1. — P. 495–500.

564. Li L.Y., Luo X., Wang X. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria // *Nature.* — 2001. — Vol. 412. — P. 95–99.

565. Li P., Zhang X., Capasso J.M., Meggs L.G., Sonnenblick E.H., Anversa P. Myocyte loss and left ventricular failure characterize the long term effects of coronary artery narrowing or renal hypertension in rats // *Cardiovasc. Res.* — 1993. — Vol. 27. — P. 1066–1075.

566. Li Y., Ha T., Gao X., Kelley J., Williams D.L., Browder I.W., Kao R.L., Li C. NF-KB activation is required for the development of cardiac hypertrophy *in vivo* // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2004. — Vol. 287. — H1712–1720.

567. Li Y., Raffo A.J., Drew L., Mao Y., Tran A., Petrylak D.P., Fine R.L. Fas-mediated apoptosis is dependent on wild-type p53 status in human cancer cells expressing a temperature-sensitive p53 mutant alanine-143. // *Cancer Res.* — 2003. — Vol. 63. — N 7. — P. 1527–1533.

568. Liao X., Liu J.M., Du L., Tang A., Shang Y., Wang S.Q., Chen L.Y., Chen Q. Nitric oxide signaling in stretch-induced apoptosis of neonatal rat cardiomyocytes // *FASEB J.* — 2006. — Vol. 20. — N 11. — P. 1883–1885.

569. Liao X.D., Tang A.H., Chen Q., Jin H.J., Wu C.H., Chen L.Y., Wang S.Q. Role of  $Ca^{2+}$  signaling in initiation of stretch-induced apoptosis in neonatal heart cells. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2003. — Vol. 310. — N 2. — P. 405–411.

570. Lieberman J., Fan Z. Nuclear war: the granzyme A-bomb // *Curr. Opin. Immunol.* — 2003. — Vol. 15. — P. 553–559.

571. Lijnen P., Petrov V. Renin–angiotensin system, hypertrophy and gene expression in cardiac myocytes // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 1999. — Vol. 31. — N 5. — P. 949–970.

572. Lijnen P.J., Petrov V.V., Fagard R.H. Association between transforming growth factor-beta and hypertension. // *Am. J. Hypertens.* — 2003. — Vol. 16. — N 7. — P. 604–611.

573. Liles L., Thomas R.M., Suzuki H., De Brabander J.K., Wang X., Harran P.G. A small molecule smac mimic potentiates TRAIL- and TNF-alpha-mediated cell death // *Science.* — 2004. — Vol. 305. — P. 1471–1474.

574. Liu D., Xu Y. P53, Oxidative Stress, and Aging // *Antioxidants & Redox Signaling.* — 2011. — Vol. 15. — N 6. — P. 1669–1678.

575. Liu J., Mao W., Ding B., Liang C.S. ERKs/p53 signal transduction pathway is involved in doxorubicin-induced apoptosis in H9c2 cells and cardiomyocytes. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2008. — Vol. 295. — N 5. — P. 1956–1965.

576. Liu J.J., Peng L., Bradley C.J., Zulli A., Shen J., Buxton B.F. Increased apoptosis in the heart of genetic hypertension, associated with increased fibroblasts // *Cardiovasc. Res.* — 2000. — Vol. 45. — P. 729–735.

577. Lockshin R.A., Williams C.M. Programmed cell death. II. Endocrine potentiation of the breakdown of the intersegmental muscles of silkworms // *J. Insect. Physiol.* — 1964. — N 10. — P. 643–649.

578. Lockshin R.A., Zakeri Z. Apoptosis, autophagy, and more // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* — 2004. — Vol. 36. — N 12. — P. 2405–2419.

579. Lockshin R.A., Zakeri Z. Caspase-independent cell deaths // *Curr. Opin. Cell Biol.* — 2002. — Vol. 14. — N 6. — P. 727–733.

580. Lockshin R.A., Zakeri Z. Programmed cell death and apoptosis: origins of the theory // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* — 2001. — Vol. 2. — N 7. — P. 545–550.

581. Locksley R.M., Killeen N., Lenardo M.J. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology // *Cell.* — 2001. — Vol. 104. — P. 487–501.

582. Lohrum M.A., Vousden K.H. Regulation and activation of p53 and its family members // *Cell Death Differ.* — 1999. — N 6. — P. 1162–1168.

583. Lomonosova E., Chinnadurai G. BH3-only proteins in apoptosis and beyond: an overview // *Oncogene.* — 2008. — Vol. 27. Suppl 1. — P. 2–19.

584. Londoño D., Bai Y., Zückert W.R., Gelderblom H., Cadavid D. Cardiac apoptosis in severe relapsing fever borreliosis // *Infect. Immun.* — 2005. — Vol. 73. — N 11. — P. 7669–7676.

585. López N., Díez J., Fortuño M.A. Differential hypertrophic effects of cardiotrophin-1 on adult cardiomyocytes from normotensive and spontaneously hypertensive rats // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 2006. — Vol. 41. — N 5. — P. 902–913.

586. Lu X., Hamilton J.A., Shen J., Pang T., Jones D.L., Potter R.F., Arnold J.M., Feng Q. Role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in myocardial dysfunction and apoptosis during hindlimb ischemia and reperfusion // *Crit. Care Med.* — 2006. — Vol. 34. — N 2. — P. 484–491.

587. Luo X., Budihardjo I., Zou H., Slaughter C., Wang X. Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors // *Cell.* — 1998. — Vol. 94. — N 4. — P. 481–490.

588. Luster T.F., Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs // *Circulation.* — 2000. — Vol. 102. — P. 2434–2440.

589. MacIntyre K., Capewell S., Stewart S., Chalmers J.W., Boyd J., Finlayson A., Redpath A., Pell J.P., McMurray J.J. Evidence of improving prognosis in heart failure: trends in case fatality in 66 547 patients hospitalized between 1986 and 1995 // *Circulation.* — 2000. — Vol. 102. — N 10. — P. 1126–1131.

590. MacLachlan T.K., El-Deiry W.S. Apoptotic threshold is lowered by p53 transactivation of caspase-6 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99. — P. 9492–9497.

591. Maelfait J., Beyaert R. Non-apoptotic functions of caspase-8 // *Biochem Pharmacol.* — 2008. — Vol. 76. — N 11. — P. 1365–1373.

592. Maiuri M.C., Galluzzi L., Morselli E., Kepp O., Malik S.A., Kroemer G. Autophagy regulation by p53 // *Curr. Opin. Cell Biol.* — 2010. — Vol. 22. — N 2. — P. 181–185.

593. Mancía G., Grassi G., Parati G., Zanchetti A. The sympathetic nervous system in human hypertension // *Acta. Physiol. Scand. Suppl.* — 1997. — Vol. 640. — P. 117–121.

594. Mani K. Programmed cell death in cardiac myocytes: strategies to maximize post-ischemic salvage // *Heart Fail. Rev.* — 2008. — Vol. 13. — N 2. — P. 193–209.

595. Marchetti P., Decaudin D., Macho A., Zamzami N., Hirsch T., Susin S.A., Kroemer G. Redox regulation of apoptosis: impact of thiol oxidation status on mitochondrial function // *Eur. J. Immunol.* — 1997. — Vol. 27. — N 1. — P. 289–296.

596. Marino J., Stoekli I., Walch M., Latinovic-Golic S., Sundstroem H., Groscurth P., Ziegler U., Dumrese C. Chlamydomonas pneumoniae derived from inclusions late in the infectious cycle induce apoptosis in human aortic endothelial cells // *BMC Microbiol.* — 2008. — Vol. 8. — P. 32.

597. Marino J.S., Tausch B.J., Dearth C.L., Manacci M.V., McLaughlin T.J., Rakyla S.J., Linsenmayer M.P., Pizza F.X.  $\beta$ 2-Integrins contribute to skeletal

muscle hypertrophy in mice // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* — 2008. — Vol. 295. — P. 126–136.

598. Maron B.J., Roberts W.C. Quantitative analysis of cardiac muscle cell disorganization in the ventricular septum of patients with hypertrophic cardiomyopathy // *Circulation.* — 1979. — Vol. 59. — N 4. — P. 689–706.

599. Maron B.J., Towbin J.A., Thiene G., Antzelevitch C., Corrado D., Arnett D., Moss A.J., Seidman C.E., Young J.B. et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention // *Circulation.* — 2006. — Vol. 113. — N 14. — P. 1807–1816.

600. Martí V., Aymat R., Ballester M., García J., Carrió I., Augé J.M. Coronary endothelial dysfunction and myocardial cell damage in chronic stable idiopathic dilated cardiomyopathy // *Int. J. Cardiol.* — 2002. — Vol. 82. — N 3. — P. 237–245.

601. Martinet W., Knaapen M.W., Kockx M.M., De Meyer G.R. Autophagy in cardiovascular disease // *Trends Mol. Med.* — 2007. — Vol. 13. — N 11. — P. 482–491.

602. Martinez-Caballero S., Dejean L.M., Kinnally K.W. Some amphiphilic cations block the mitochondrial apoptosis-induced channel, MAC // *FEBS Lett.* — 2004. — Vol. 568. — N 1–3. — P. 35–38.

603. Martinou J.C., Youle R.J. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics // *Dev. Cell.* — 2011. — Vol. 21. — N 1. — P. 92–101.

604. Martinvalet D., Zhu P., Lieberman J. Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis // *Immunity.* — 2005. — Vol. 22. — P. 355–370.

605. Massey A.C., Zhang C., Cuervo A.M. Chaperone-mediated autophagy in aging and disease // *Curr Top Dev Biol.* — 2006. — Vol. 73. — P. 205–235.

606. Matheu A., Maraver A., Klatt P., Flores I., Garcia-Cao I., Borrás C., Flores J.M., Vina J., Blasco M.A., Serrano M. Delayed ageing through damage protection by the Arf/p53 pathway // *Nature.* — 2007. — Vol. 448. — P. 375–379.

607. McBride M.W., Charchar F.J., Graham D., Miller W.H., Strahorn P., Carr F.J., Dominiczak A.F. Functional genomics in rodent models of hypertension // *J. Physiol.* — 2004. — Vol. 554. Pt 1. — P. 56–63.

608. McCormack J.G., Halestrap A.P., Denton R.M. Role of calcium ions in regulation of mammalian intramitochondrial metabolism // *Physiol. Rev.* — 1990. — Vol. 70. — P. 391–425.

609. McCurdy S., Baicu C.F., Heymans S., Bradshaw A.D. Cardiac extracellular matrix remodeling: fibrillar collagens and Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine (SPARC) // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 2010. — Vol. 48. — N 3. — P. 544–549.

610. McMullen J.R. Nectin-2: an intercalated disc protein that maintains cardiac function in a setting of pressure overload // *Hypertension*. — 2009. — Vol. 54. — N 4. — P. 713–715.
611. Meier P., Finch A., Evan G. Apoptosis in development // *Nature*. — 2000. — V. 407. — N 6805. — P. 796–801.
612. Meijer A.J., Codogno P. Regulation and role of autophagy in mammalian cells // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* — 2004. — Vol. 36. — N 12. — P. 2445–2462.
613. Meléndez G.C., McLarty J.L., Levick S.P., Du Y., Janicki J.S., Brower G.L. Interleukin 6 mediates myocardial fibrosis, concentric hypertrophy, and diastolic dysfunction in rats // *Hypertension*. — 2010. — Vol. 56. — N 2. — P. 225–231.
614. Meng S., Cason G.W., Gannon A.W., Racusen L.C., Manning R.D., Jr. Oxidative stress in Dahl salt-sensitive hypertension // *Hypertension*. — 2003. — Vol. 41. — P. 1346–1352.
615. Mercanoglu G., Safran N., Gungor M., Pamukcu B., Uzun H., Sezgin C., Mercanoglu F., Fici F. The effects of nebivolol on apoptosis in a rat infarct model // *Circ. J.* — 2008. — Vol. 72. — N 4. — P. 660–670.
616. Metivier D., Dallaporta B., Zamzami N., Larochette N., Susin S.A., Marzo I., Kroemer G. Cytofluorometric detection of mitochondrial alterations in early CD95/Fas/APO-1-triggered apoptosis of Jurkat T lymphoma cells. Comparison of seven mitochondrion-specific fluorochromes // *Immunol. Lett.* — 1998. — Vol. 61. — P. 157–163.
617. Michalak E.M., Villunger A., Adams J.M., Strasser A. In several cell types tumour suppressor p53 induces apoptosis largely via Puma but Noxa can contribute // *Cell Death Differ.* — 2008. — Vol. 15. — P. 1019–1029.
618. Michea L., Combs C., Andrews P., Dmitrieva N., Burg M.B. Mitochondrial dysfunction is an early event in high-NaCl-induced apoptosis of mIMCD3 cells // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* — 2002. — Vol. 282. — N 6. — P. 981–990.
619. Mihara M., Erster S., Zaika A., Petrenko O., Chittenden T., Pancoska P., Moll U.M. p53 Has a Direct Apoptogenic Role at the Mitochondria // *Mol. Cell.* — 2003. — Vol. 11. — P. 577–590.
620. Mihatsch K., Nestler M., Saluz H.P., Henke A., Munder T. Proapoptotic protein Siva binds to the muscle protein telethonin in cardiomyocytes during coxsackieviral infection // *Cardiovasc. Res.* — 2009. — Vol. 81. — N 1. — P. 108–115.
621. Minamino T., Yujiri T., Terada N., Taffet G.E., Michael L.H., Johnson G. L., Schneider M.D. MEKK1 is essential for cardiac hypertrophy and dysfunction induced by Gq // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2002. — Vol. 99. — N 6. — P. 3866–3871.
622. Minegishi S., Kitahori K., Murakami A., Ono M. Mechanism of pressure-overload right ventricular hypertrophy in infant rabbits // *Int. Heart J.* — 2011. — Vol. 52. — N 1. — P. 56–60.
623. Miyashita T., Reed J.C. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene // *Cell*. — 1995. — Vol. 80. — N 2. — P. 293–299.

624. Miyata S., Takemura G., Kawase Y., Li Y., Okada H., Maruyama R., Ushikoshi H., Esaki M., Kanamori H., Li L., Misao Y., Tezuka A., Toyo-Oka T., Minatoguchi S., Fujiwara T., Fujiwara H. Autophagic cardiomyocyte death in cardiomyopathic hamsters and its prevention by granulocyte colony-stimulating factor // *Am. J. Pathol.* — 2006. — Vol. 168. — N 2. — P. 386–397.

625. Modesti P.A., Cecioni I., Costoli A., Poggesi L., Galanti G., Serneri G.G. Renal endothelin in heart failure and its relation to sodium excretion // *Am. Heart J.* — 2000. — Vol. 140. — N 4. — P. 617–622.

626. Molckentin J.D., Lu J.R., Antos C.L., Markham B., Richardson J., Robbins J., Grant S.R., Olson E.N. A calcineurin-dependent transcriptional pathway for cardiac hypertrophy // *Cell.* — 1998. — Vol. 93. — P. 215–228.

627. Monceau V., Belikova Y., Kratassiouk G., Charue D., Camors E., Communal C., Trouvé P., Russo-Marie F., Charlemagne D. Externalization of endogenous annexin A5 participates in apoptosis of rat cardiomyocytes // *Cardiovasc. Res.* — 2004. — Vol. 64. — N 3. — P. 496–506.

628. Montezano A.C., Touyz R.M. Molecular Mechanisms of Hypertension—Reactive Oxygen Species and Antioxidants: A Basic Science Update for the Clinician // *Canadian Journal of Cardiology.* — 2012. — Vol. 28. — P. 288–295.

629. Moorjani N., Ahmad M., Catarino P., Brittin R., Trabzuni D., Al-Mohanna F., Narula N., Narula J., Westaby S. Activation of apoptotic caspase cascade during the transition to pressure overload-induced heart failure // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2006. — Vol. 48. — N 7. — P. 1451–1458.

630. Moorjani N., Westaby S., Narula J., Catarino P.A., Brittin R., Kemp T.J., Narula N., Sugden P.H. Effects of left ventricular volume overload on mitochondrial and death-receptor-mediated apoptotic pathways in the transition to heart failure // *Am. J. Cardiol.* — 2009. — Vol. 103. — N 9. — P. 1261–1268.

631. Moreau P., Tea B.S., Dam T.V., Hamet P. Altered balance between cell replication and apoptosis in hearts and kidneys of newborn SHR // *Hypertension.* — 1997. — Vol. 30. — P. 720–724.

632. Moreira M.E., Barcinski M.A. Apoptotic cell and phagocyte interplay: recognition and consequences in different cell systems // *An. Acad. Bras. Cienc.* — 2004. — Vol. 76. — N 1. — P. 193–115.

633. Morillas P., de Andrade H., Castillo J., Quiles J., Bertomeu-González V., Cordero A., Tarazón E., Roselló E., Portolés M., Rivera M., Bertomeu-Martínez V. Inflammation and Apoptosis in Hypertension. Relevance of the Extent of Target Organ Damage // *Rev. Esp. Cardiol.* — 2012. — Vol. 65. — N 9. — P. 819–825.

634. Moroni M.C., Hickman E.S., Lazzarini Denchi E., Caprara G., Colli E., Cecconi F., Müller H., Helin K. Apaf-1 is a transcriptional target for E2F and p53 // *Nat. Cell Biol.* — 2001. — Vol. 6. — P. 552–558.

635. Morrissy S., Xu B., Aguilar D., Zhang J., Chen Q.M. Inhibition of apoptosis by progesterone in cardiomyocytes // *Aging Cell.* — 2010. — Vol. 9. — N 5. — P. 799–809.

636. Mosterd A., Cost B., Hoes A.W., de Bruijne M.C., Deckers J.W., Hofman A., Grobbee D.E. The prognosis of heart failure in the general population: The Rotterdam Study // *Eur. Heart J.* — 2001. — Vol. 22. — N 15. — P. 1318–1327.

637. Mountz J.D., Wu J., Cheng J., Zhou T. Autoimmune disease. A problem of defective apoptosis // *Arthritis Rheum.* — 1994. — Vol. 37. — N 10. — P. 1415–1420.

638. Muller M., Wilder S., Bannasch D., Israeli D., Lehlbach K., Li-Weber M., Friedman S. L., Galle P. R., Stremmel W., Oren M., Krammer P.H. p53 activates the CD95 (APO-1/Fas) gene in response to DNA damage by anticancer drugs // *J. Exp. Med.* — 1998. — Vol. 188. — P. 2033–2045.

639. Munter K., Kirchengast M. The role of endothelin receptor antagonists in cardiovascular pharmacotherapy // *Expert. Opin. Emerg. Drugs.* — 2001. — Vol. 6. — P. 3–11.

640. Muppidi J., Porter M., Siegel R.M. Measurement of apoptosis and other forms of cell death // *Curr. Protoc. Immunol.* — 2004. — Chapter 3. — Unit 3.17.

641. Murdoch C.E., Alom-Ruiz S.P., Wang M., Zhang M., Walker S., Yu B., Brewer A., Shah A.M. Role of endothelial Nox2 NADPH oxidase in angiotensin II-induced hypertension and vasomotor dysfunction // *Basic Res. Cardiol.* — 2011. — Vol. 106. — P. 527–538.

642. Murdoch C.E., Zhang M., Cave A.C., Shah A.M. NADPHoxidase-dependent redox signalling in cardiac hypertrophy, remodelling and failure // *Cardiovasc. Res.* — 2006. — Vol. 71. — N 2. — P. 208–215.

643. Murphy M.P., Smith R.A. Targeting antioxidants to mitochondria by conjugation to lipophilic cations // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* — 2007. — Vol. 47. — P. 629–656.

644. Murray D.B., Gardner J.D., Brower G.L., Janicki J.S. Effects of nonselective endothelin-1 receptor antagonism on cardiac mast cell-mediated ventricular remodeling in rats // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2008. — Vol. 294. — P. 1251–1257.

645. Muslin A.J. MAPK signalling in cardiovascular health and disease: molecular mechanisms and therapeutic targets // *Clin. Sci. (Lond).* — 2008. — Vol. 115. — N 7. — P. 203–218.

646. Nadal-Ginard B., Kajstura J., Leri A., Anversa P. Myocyte death, growth, and regeneration in cardiac hypertrophy and failure // *Circ. Res.* — 2003. — Vol. 92. — P. 139–150.

647. Nagata S., Nagase H., Kawane K., Mukae N., Fukuyama H. Degradation of chromosomal DNA during apoptosis // *Cell Death Differ.* — 2003. — Vol. 10. — P. 108–116.

648. Nah D.Y., Rhee M.Y. The inflammatory response and cardiac repair after myocardial infarction // *Korean Circ. J.* — 2009. — Vol. 39. — N 10. — P. 393–398.

649. Nakagawa T., Shimizu S., Watanabe T., Yamaguchi O., Otsu K., Yamagata H., Inohara H., Kubo T., Tsujimoto Y. Cyclophilin D-dependent mitochon-



drial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death // *Nature*. — 2005. — Vol. 434. — N 7033. — P. 652–658.

650. Nakagawa T., Zhu H., Morishima N., Li E., Xu J., Yankner B.A., Yuan J. Caspase-12 mediates endoplasmicreticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta // *Nature*. — 2000. — Vol. 403. — P. 98–103.

651. Nakamura T., Ueda Y., Juan Y., Katsuda S., Takahashi H., Koh E. Fas-mediated apoptosis in adriamycin-induced cardiomyopathy in rats: *in vivo* study // *Circulation*. — 2000. — Vol. 102. — P. 572–578.

652. Nakazono K., Watanabe N., Matsuno K., Sasaki J., Sato T., Inoue M. Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1991. — Vol. 88. — P. 10045–10048.

653. Narula J., Kolodgie F., Virmani R. Apoptosis and cardiomyopathy // *Curr. Opin. Cardiol*. — 2000. — Vol. 15. — P. 183–188.

654. Nediani C., Formigli L., Perna A.M., Ibba-Manneschi L., Zecchi-Orlandini S., Fiorillo C., Ponziani V., Cecchi C., Liguori P., Fratini G., Nassi P. Early changes induced in the left ventricle by pressure overload. An experimental study on swine heart // *J. Mol. Cell Cardiol*. — 2000. — Vol. 32. — N 1. — P. 131–142.

655. Neglia D., De Caterina A., Marraccini P., Natali A., Ciardetti M., Vecoli C., Gastaldelli A., Ciociaro D., Pellegrini P., Testa R., Menichetti L., L'Abbate A., Stanley W.C., Recchia F.A. Impaired myocardial metabolic reserve and substrate selection flexibility during stress in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. — 2007. — Vol. 293. — N 6. — P. 3270–3278.

656. Negrusz-Kawechka M. The role of endothelins in human cardiovascular disease // *Pol. Mercuriusz. Lek*. — 2001. — Vol. 11. — P. 444–446.

657. Nelson V., Davis G. E., Maxwell S.A. A putative protein inhibitor of activated STAT (PIASy) interacts with p53 and inhibits p53-mediated transactivation but not apoptosis // *Apoptosis*. — 2001. — N 6. — P. 221–234.

658. Nemer M., Dali-Youcef N., Wang H., Aries A., Paradis P. Mechanisms of angiotensin II-dependent progression to heart failure // *Novartis Found Symp*. — 2006. — Vol. 274. — P. 58–68.

659. Nicholson D.W., Thornberry N.A. Caspases: killer proteases // *Trends Biochem. Sci*. — 1997. — Vol. 22. — N 8. — P. 299–306.

660. Nicotera P., Melino G. Regulation of the apoptosis-necrosis switch // *Oncogene*. — 2004. — Vol. 23. — P. 2757–2765.

661. Nijhawan D., Honarpour N., Wang X. Apoptosis in neural development and disease // *Annu. Rev. Neurosci*. — 2000. — Vol. 23. — P. 73–87.

662. Nishida K., Otsu K. Cell death in heart failure // *Circ. J*. — 2008. — Vol. 72. Suppl A. — P. 17–21.

663. Nishida K., Yamaguchi O., Otsu K. Crosstalk between autophagy and apoptosis in heart disease // *Circ. Res*. — 2008. — Vol. 103. — N 4. — P. 343–351.

664. Nishino T., Okamoto K., Eger B.T., Pai E.F., Nishino T. Mammalian xanthine oxidoreductase — mechanism of transition from xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase // *FEBS J.* — 2008. — Vol. 275. — P. 3278–3289.

665. Nishiyama A., Fukui T., Fujisawa Y., Rahman M., Tian R.X., Kimura S., Abe Y. Systemic and regional hemodynamic responses to tempol in angiotensin II-infused hypertensive rats // *Hypertension.* — 2001. — Vol. 37. — P. 77–83.

666. Nitahara J.A., Cheng W., Liu Y., Li B., Leri A., Li P., Mogul D., Gambert S.R., Kajstura J., Anversa P. Intracellular calcium, DNase activity and myocyte apoptosis in aging Fischer 344 rats // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 1998. — Vol. 30. — P. 519–535.

667. Niu J., Azfer A., Wang K., Wang X., Kolattukudy P.E. Cardiac-targeted expression of soluble fas attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2009. — Vol. 328. — N 3. — P. 740–748.

668. Nogueira J.B. Genetics of left ventricular hypertrophy and its regression // *Rev. Port. Cardiol.* — 2005. — Vol. 24. — N 1. — P. 105–117.

669. Noh H.S., Shin I.W., Ha J.H., Hah Y.S., Baek S.M., Kim D.R. Propofol protects the autophagic cell death induced by the ischemia/reperfusion injury in rats // *Mol. Cells.* — 2010. — Vol. 30. — N 5. — P. 455–460.

670. Nordberg J., Arner E.S. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system // *Free Radic. Biol. Med.* — 2001. — Vol. 31. — P. 1287–1312.

671. Norenberg M.D., Rao K.V. The mitochondrial permeability transition in neurologic disease // *Neurochem. Int.* — 2007. — Vol. 50. — P. 983–997.

672. Nuñez G., Benedict M.A., Hu Y., Inohara N. Caspases: the proteases of the apoptotic pathway // *Oncogene.* — 1998. — Vol. 17. — N 25. — P. 3237–3245.

673. Oda E., Ohki R., Murasawa H., Nemoto J., Shibue T., Yamashita T., Tokino T., Taniguchi T., Tanaka N. Noxa, a BH3-only member of the Bcl-2 family and candidate mediator of p53-induced apoptosis // *Science.* — 2000. — Vol. 288. — P. 1053–1058.

674. Ogata Y., Takahashi M. Bcl-xL as an antiapoptotic molecule for cardiomyocytes // *Drug. News Perspect.* — 2003. — Vol. 16. — N 7. — P. 446–752.

675. Oh S., Pirooz S.D., Ni D., Zhao Z., Liang C. Anti-autophagic Bcl-2: Not just an innocent bystander // *Autophagy.* — 2011. — Vol. 7. — N 2. — P. 231–232.

676. Ohno M., Takemura G., Ohno A., Misao J., Hayakawa Y., Minatoguchi S., Fujiwara T., Fujiwara H. «Apoptotic» myocytes in infarct area in rabbit hearts may be oncotic myocytes with DNA fragmentation: analysis with immunogold electron microscopy combined with in situ nick end labeling // *Circulation.* — 1998. — Vol. 98. — P. 1422–1430.

677. Okada H., Mak T.W. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells. // *Nat. Rev. Cancer.* — 2004. — Vol. 4. — N 8. — P. 592–603.

678. Okada H., Takemura G., Kosai K., Li Y., Takahashi T., Esaki M., Yuge K., Miyata S., Maruyama R., Mikami A., Minatoguchi S., Fujiwara T., Fujiwara H. Postinfarction gene therapy against transforming growth factor-beta signal modu-

lates infarct tissue dynamics and attenuates left ventricular remodeling and heart failure // *Circulation*. — 2005. — Vol. 111. — N 19. — P. 2430–2437.

679. Okada Y., Maeno E., Shimizu T., Dezaki K., Wang J., Morishima S. Receptor-mediated control of regulatory volume decrease (RVD) and apoptotic volume decrease (AVD) // *J. Physiol.* — 2001. — Vol. 532. — P. 3–16.

680. Okamoto K., Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats // *Jpn. Circ. J.* — 1963. — Vol. 27. — P. 282–293.

681. Okuda Y., Sakoda S., Fujimura H., Nagata S., Yanagihara T., Bernard C.C. Intrathecal administration of neutralizing antibody against Fas ligand suppresses the progression of experimental autoimmune encephalomyelitis // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2000. — Vol. 275. — P. 164–168.

682. Olivetti G., Melissari M., Balbi T., Quaini F., Cigola E., Sonnenblick E.H., Anversa P. Myocyte cellular hypertrophy is responsible for ventricular remodeling in the hypertrophied heart of middle aged individuals in the absence of cardiac failure // *Cardiovasc. Res.* — 1994. — Vol. 28. — P. 1199–1208.

683. Olivetti G., Melissari M., Capasso J.M., Anversa P. Cardiomyopathy of the aging human heart: myocyte loss and reactive cellular hypertrophy // *Circ. Res.* — 1991. — Vol. 68. — P. 1560–1568.

684. Olmez I., Ozyurt H. Reactive oxygen species and ischemic cerebrovascular disease // *Neurochem. Int.* — 2012. — Vol. 60. — N 2. — P. 208–212.

685. Olson T.M., Kishimoto N.Y., Whitby F.G., Michels V.V. Mutations that alter the surface charge of alpha-tropomyosin are associated with dilated cardiomyopathy // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 2001. — Vol. 33. — N 4. — P. 723–732.

686. Olson T.M., Michels V.V., Thibodeau S.N., Tai Y.S., Keating M.T. Actin mutations in dilated cardiomyopathy, a heritable form of heart failure // *Science*. — 1998. — Vol. 280. — N 5364. — P. 750–752.

687. Olsson A., Manzl C., Strasser A., Villunger A. How important are post-translational modifications in p53 for selectivity in target-gene transcription and tumour suppression? // *Cell Death Differ.* — 2007. — Vol. 14. — P. 1561–1575.

688. Olsson M., Zhivotovsky B. Caspases and cancer // *Cell Death and Differentiation*. — 2011. — Vol. 18. — P. 1441–1449.

689. Opferman J.T., Korsmeyer S.J. Apoptosis in the development and maintenance of the immune system // *Nat. Immunol.* — 2003. — N 4. — P. 410–415.

690. Ortiz M.C., Manriquez M.C., Romero J.C., Juncos L.A. Antioxidants block angiotensin II-induced increases in blood pressure and endothelin // *Hypertension*. — 2001. — Vol. 38. — P. 655–659.

691. Osborne B.A. Apoptosis and the maintenance of homeostasis in the immune system // *Curr. Opin. Immunol.* — 1996. — N 8. — P. 245–254.

692. Otsuki Y., Li Z., Shibata M.A. Apoptotic detection methods—from morphology to gene // *Prog. Histochem. Cytochem.* — 2003. — Vol. 38. — P. 275–339.

693. Ozawa T. Mechanism of somatic mitochondrial DNA mutations associated with age and diseases // *Biochim. Biophys. Acta*. — 1995. — Vol. 1271. — P. 177–189.

694. Palomeque J., Rueda O.V., Sapia L., Valverde C.A., Salas M., Petroff M.V., Mattiazzi A. Angiotensin II-induced oxidative stress resets the  $Ca^{2+}$  dependence of  $Ca^{2+}$ -calmodulin protein kinase II and promotes a death pathway conserved across different species // *Circ. Res.* — 2009. — Vol. 105. — N 12. — P. 1204–1412.
695. Pattingre S., Levine B. Bcl-2 inhibition of autophagy: a new route to cancer? // *Cancer Res.* — 2006. — Vol. 66. — N 6. — P. 2885–2888.
696. Pattingre S., Tassa A., Qu X., Garuti R., Liang X.H., Mizushima N., Packer M., Schneider M.D., Levine B. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy // *Cell.* — 2005. — Vol. 122. — N 6. — P. 927–939.
697. Paul M., Poyan Mehr A., Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems // *Physiol. Rev.* — 2006. — Vol. 86. — P. 747–803.
698. Pereira S.G., Oakley F. Nuclear factor-kappaB1: regulation and function // *Int. J. Biochem. Biol.* — 2008. — Vol. 40. — P. 1425–1430.
699. Peter M.E., Krammer P.H. Mechanisms of CD95 (APO-1/Fas)-mediated apoptosis // *Curr. Opin. Immunol.* — 1998. — N 10. — P. 545–551.
700. Petrovic D. Cytopathological basis of heart failure — cardiomyocyte apoptosis, interstitial fibrosis and inflammatory cell response // *Folia boil.* — 2004. — Vol. 50. — N 2. — P. 58–62.
701. Philipp S., Pagel I., Höhnel K., Lutz J., Buttgerit J., Langenickel T., Hamet P., Dietz R., Willenbrock R. Regulation of caspase 3 and Fas in pressure overload-induced left ventricular dysfunction // *Eur. J. Heart Fail.* — 2004. — Vol. 6. — N 7. — P. 845–851.
702. Pietsch E.C., Sykes S.M., McMahon S.B., Murphy M.E. The p53 family and programmed cell death // *Oncogene.* — 2008. — Vol. 27. — N 50. — P. 6507–6521.
703. Pinto Y.M., Paul M., Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering // *Cardiovasc. Res.* — 1998. — Vol. 39. — N 1. — P. 77–88.
704. Poffenberger M.C., Horwitz M.S. IL-6 during viral-induced chronic autoimmune myocarditis // *Ann. NY Acad. Sci.* — 2009. — N 1173. — P. 318–325.
705. Pollock D.M. Endothelin, Angiotensin, and Oxidative Stress in Hypertension // *Hypertension.* — 2005. — Vol. 45. — P. 477–480.
706. Pollock D.M. Renal endothelin in hypertension // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* — 2000. — N 9. — P. 157–164.
707. Polster B.M., Basanez G., Young M., Suzuki M., Fiskum G. Inhibition of Bax-Induced Cytochrome c Release from Neural Cell and Brain Mitochondria by Dibucaine and Propranolol // *Journal of Neuroscience.* — 2003. — Vol. 23. — N 7. — P. 2735–2743.
708. Porras A., Zuluaga S., Black E., Valladares A., Alvarez A.M., Ambrosino C., Benito M., Nebreda A.R. P38 alpha mitogen-activated protein kinase sensitizes cells to apoptosis induced by different stimuli // *Mol. Biol. Cell.* — 2004. — Vol. 15. — N 2. — P. 922–933.

709. Porter A.G., Jänicke R.U. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis // *Cell Death Differ.* — 1999. — Vol. 6. — N 2. — P. 99–104.
710. Pradelli L.A., Bénéteau M., Ricci J.E. Mitochondrial control of caspase-dependent and -independent cell death // *Cell Mol. Life Sci.* — 2010. — Vol. 67. — N 10. — P. 1589–1597.
711. Pravenec M., Kurtz T.W. Recent Advances in Genetics of the Spontaneously Hypertensive Rat // *Curr. Hypertens. Rep.* — 2010. — N 12. — P. 5–9.
712. Prech M., Marszałek A., Schröder J., Filas V., Lesiak M., Jemielity M., Araszkievicz A., Grajek S. Apoptosis as a mechanism for the elimination of cardiomyocytes after acute myocardial infarction // *Am. J. Cardiol.* — 2010. — Vol. 105. — N 9. — P. 1240–1245.
713. Puddu P., Puddu G.M., Cravero E., Rosati M., Muscari A. The molecular sources of reactive oxygen species in hypertension // *Blood Press.* — 2008. — Vol. 17. — P. 70–77.
714. Purcell N.H., Wilkins B.J., York A., Saba-El-Leil M.K., Meloche S., Robbins J., Molkentin J.D. Genetic inhibition of cardiac ERK1/2 promotes stress-induced apoptosis and heart failure but has no effect on hypertrophy *in vivo* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2007. — Vol. 104. — N 35. — P. 14074–14079.
715. Qi D., Fu M. Cardiomyocyte apoptosis in heart development: methods and protocols // *Methods Mol. Biol.* — 2012. — Vol. 843. — P. 191–197.
716. Qin F., Shite J., Liang Ch. Antioxidants attenuate myocyte apoptosis and improve cardiac function in CHF: association with changes in MAPK pathways // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2003. — Vol. 285. — H822–H832.
717. Quainin F., Urbanek K., Beltrami A.P., Finato N., Beltrami C.A., Nadal-Ginard B., Kajstura J., Leri A., Anversa P. Chimerism of the transplanted heart // *New Engl. J. Med.* — 2002. — Vol. 346. — P. 5–15.
718. Rabinovitch P.S., Dai D.F., Liu Y., Chin M.T., Szeto H.H. Mitochondrial ROS and mtDNA mutations: a central role in cardiac health and aging? // *Environ. Mol. Mutagen.* — 2010. — Vol. 51. — P. 694–694.
719. Rahman M., Pumphrey J.G., Lipkowitz S. The TRAIL to targeted therapy of breast cancer // *Adv. Cancer Res.* — 2009. — Vol. 103. — P. 43–73.
720. Rajagopalan S., Kurz S., Münzel T., Tarpey M., Freeman B.A., Griendling K.K., Harrison D.G. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone // *J. Clin. Invest.* — 1996. — Vol. 97. — P. 1916–1923.
721. Rajagopalan S., Laursen J.B., Borthayre A., Kurz S., Keiser J., Haleen S., Gaid A., Harrison D.G. Role for endothelin-1 in angiotensin II-mediated hypertension // *Hypertension.* — 1997. — Vol. 30. — P. 29–34.
722. Rajapurohitam V., Kilic A., Javadov S., Karmazyn M. Role of NF- $\kappa$ B and p38 MAPK activation in mediating angiotensin II and endothelin-1-induced stimulation in leptin production and cardiomyocyte hypertrophy // *Mol. Cell Biochem.* — 2012. — Vol. 366. — N 1–2. — P. 287–297.

723. Rao R., Hao C.M., Breyer M.D. Hypertonic stress activates glycogen synthase kinase 3 $\beta$ -mediated apoptosis of renal medullary interstitial cells, suppressing an NF $\kappa$ B-driven cyclooxygenase-2-dependent survival pathway // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279. — N 6. — P. 3949–3955.

724. Rapp J.P. Genetic Analysis of Inherited Hypertension in the Rat // *Physiological Reviews.* — 2000. — Vol. 80. — N 1. — P.135–172.

725. Rathmell J.C., Thompson C.B. Pathways of apoptosis in lymphocyte development, homeostasis, and disease // *Cell.* — 2002. — Vol. 109 (Suppl). — P. 97–107.

726. Ravassa S., Fortuño M., Gonzalez A., López B., Zalba G., Fortuño A., Díez J. Mechanisms of increased susceptibility to angiotensin II-induced apoptosis in ventricular cardiomyocytes of spontaneously hypertensive rats // *Hypertension.* — 2000. — Vol. 36. — P. 1065–1071.

727. Ravassa S., González A., López B., Beaumont J., Querejeta R., Larman M., Díez J. Upregulation of myocardial Annexin A5 in hypertensive heart disease: association with systolic dysfunction // *Eur. Heart J.* — 2007. — Vol. 28. — N 22. — P. 2785–2791.

728. Raver-Shapira N., Marciano E., Meiri E., Spector Y., Rosenfeld N., Moskovits N., Bentwich Z., Oren M. Transcriptional activation of miR-34a contributes to p53-mediated apoptosis // *Mol. Cell.* — 2007. — Vol. 26. — N 5. — P. 731–743.

729. Ren A., Yan X., Lu H., Shi J., Yin Y., Bai J., Yuan W., Lin L. Antagonism of endothelin-1 inhibits hypoxia-induced apoptosis in cardiomyocytes // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 2008. — Vol. 86. — N 8. — P. 536–540.

730. Renault T.T., Manon S. Bax: Addressed to kill // *Biochimie.* — 2011. — Vol. 93. — N 9. — P. 1379–1391.

731. Renehan A.G., Booth C., Potten C.S. What is apoptosis, and why is it important? // *BMJ.* — 2001. — Vol. 322. — P. 1536–1538.

732. Repnik U., Turk B. Lysosomal-mitochondrial cross-talk during cell death // *Mitochondrion.* — 2010. — Vol. 10. — N 6. — P. 662–669.

733. Resnick L.M., Gupta R.K., Barbagallo M., Laragh J.H. Is the higher incidence of ischemic disease in patients with hypertension and diabetes related to intracellular depletion of high energy metabolism? // *Am. J. Med. Sci.* — 1994. — V. 307. Suppl 1. — S66–S69.

734. Reubold T.F., Eschenburg S. A molecular view on signal transduction by the apoptosome // *Cell Signal.* — 2012. — V. 24. — N 7. — P. 1420–1425.

735. Rey F.E., Cifuentes M.E., Kiarash A., Quinn M.T., Pagano P.J. Novel competitive inhibitor of NADPH oxidase assembly attenuates vascular O(2) and systolic blood pressure in mice // *Circ. Res.* — 2001. — Vol. 89. — P. 408–414.

736. Reznikov K., Kolesnikova A.L., Pramanik A., Tan-No K., Gileva I., Yakovleva T., Rigler R., Terenius L., Bakalkin G. Clustering of apoptotic cells via bystander killing by peroxides // *FASEB J.* — 2000. — Vol. 14. — P. 1754–1464.

737. Ricci J.E., Gottlieb R.A., Green D.R. Caspase-mediated loss of mitochondrial function and generation of reactive oxygen species during apoptosis // *J. Cell Biol.* — 2003. — Vol. 160. — P. 65–75.
738. Ricci J.E., Munoz-Pinedo C., Fitzgerald P., Bailly-Maitre B., Perkins G.A., Yadava N., Scheffler I.E., Ellisman M.H., Green D.R. Disruption of mitochondrial function during apoptosis is mediated by caspase cleavage of the p75 subunit of complex I of the electron transport chain // *Cell.* — 2004. — Vol. 117. — P. 773–786.
739. Rich S., McLaughlin V.V. Endothelin receptor blockers in cardiovascular disease // *Circulation.* — 2003. — N 4. — P. 2183–2190.
740. Richardson H., Kumar S. Death to flies: Drosophila as a model system to study programmed cell death // *J. Immunol. Methods.* — 2002. — Vol. 265. — N 1–2. — P. 21–38.
741. Riedl S.J., Salvesen G.S. The apoptosome: signalling platform of cell death // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* — 2007. — Vol. 8. — N 5. — P. 405–413.
742. Rivera J., Sobey C.G., Walduck A.K., Drummond G.R. Nox isoforms in vascular pathophysiology: insights from transgenic and knockout mouse models // *Redox Rep.* — 2010. — Vol. 15. — P. 50–63.
743. Rizzuto R., Brini M., Murgia M., Pozzan T. Microdomains with high Ca<sup>2+</sup> close to IP<sub>3</sub>-sensitive channels that are sensed by neighboring mitochondria // *Science.* — 1993. — Vol. 262. — P. 744–747.
744. Rodríguez M., Lucchesi B.R., Schaper J. Apoptosis in myocardial infarction // *Ann. Med.* — 2002. — Vol. 34. — N 6. — P. 470–479.
745. Rodríguez-Calvo M.S., Tourret M.N., Concheiro L., Muñoz J.I., Suárez-Peñaranda J.M. Detection of apoptosis in ischemic heart. Usefulness in the diagnosis of early myocardial injury // *Am. J. Forensic Med. Pathol.* — 2001. — Vol. 22. — N 3. — P. 278–284.
746. Rodríguez-Pascuala F., Busnadiego O., Lagaresa D., Lamasa S. Role of endothelin in the cardiovascular system // *Pharmacological Research.* — 2011. — Vol. 63. — P. 463–472.
747. Romanowskia A., Murray J.R., Huston M.J. Effects of hydrogen peroxide on normal and hypertensive rats // *Pharm. Acta. Helv.* — 1960. — Vol. 35. — P. 354–357.
748. Ronquist G., Soussi B., Frithz G., Scherstén T., Waldenström A. Disturbed energy balance in skeletal muscle of patients with untreated primary hypertension // *J. Intern. Med.* — 1995. — Vol. 238. — P. 167–174.
749. Rosenkranz S. TGF-beta1 and angiotensin networking in cardiac remodeling // *Cardiovasc. Res.* — 2004. — Vol. 63. — N 3. — P. 423–432.
750. Rothermel B.A., Hill J.A. Autophagy in load-induced heart disease // *Circ. Res.* — 2008. — Vol. 103. — N 12. — P. 1363–1369.
751. Rothermund L., Pinto Y.M., Hocher B., Vetter R., Leggewie S., Kobetamehl P., Orzechowski H.D., Kreutz R., Paul M. Cardiac endothelin system impairs left

ventricular function in rennin-dependent hypertension via sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$  uptake // *Circulation*. — 2000. — Vol. 102. — P. 1582–1588.

752. Rouquet N., Pages J.C., Molina T., Briand P., Joulin V. ICE inhibitor YVADcmk is a potent therapeutic agent against *in vivo* liver apoptosis // *Curr. biol.* — 1996. — N 6. — P. 1192–1195.

753. Roura S., Bayes-Genis A. Vascular dysfunction in idiopathic dilated cardiomyopathy // *Nat. Rev. Cardiol.* — 2009. — Vol. 6. — N 9. — P. 590–598.

754. Roura S., Planas F., Prat-Vidal C., Leta R., Soler-Botija C., Carreras F., Llach A., Hove-Madsen L., Pons Lladó G., Farré J., Cinca J., Bayes-Genis A. Idiopathic dilated cardiomyopathy exhibits defective vascularization and vessel formation // *Eur. J. Heart Fail.* — 2007. — Vol. 9. — N 10. — P. 995–1002.

755. Rozenfeld-Granot G., Krishnamurthy J., Kannan K., Toren A., Amariglio N., Givol D., Rechavi G. A positive feedback mechanism in the transcriptional activation of Apaf-1 by p53 and the coactivator Zac-1 // *Oncogene*. — 2002. — Vol. 21. — P. 1469–1476.

756. Runge M.S., Stouffer G.A., Sheahan R.G., Yamamoto S., Tsyplenkova V.G., James T.N. Morphological patterns of death by myocytes in arrhythmogenic right ventricular dysplasia // *Am. J. Med. Sci.* — 2000. — Vol. 320. — N 5. — P. 310–319.

757. Russell J.H., Ley T.J. Lymphocyte-mediated cytotoxicity // *Annu. Rev. Immunol.* — 2002. — Vol. 20. — P. 323–370.

758. Russo A., Terrasi M., Agnese V., Santini D., Bazan V. Apoptosis: a relevant tool for anticancer therapy // *Ann. Oncol.* — 2006. — Suppl 7. — P. 115–123.

759. Sabbah H.N. Apoptosis in heart failure: a real problem? // *Cardiovasc. Drugs Ther.* — 2001. — Vol. 15. — N 6. — P. 525–528.

760. Sablina A.A., Budanov A.V., Ilyinskaya G.V., Agapova L.S., Kravchenko J.E., Chumakov P.M. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor // *Nat. Med.* — 2005. — N 11. — P. 1306–1313.

761. Sabri A., Hughie H.H., Lucchesi P.A. Regulation of hypertrophic and apoptotic signaling pathways by reactive oxygen species in cardiac myocytes // *Antioxid. Redox Signal.* — 2003. — Vol. 5. — N 6. — P. 731–740.

762. Sadoshima J., Izumo S. The cellular and molecular response of cardiac myocytes to mechanical stress // *Annu. Rev. Physiol.* — 1997. — Vol. 59. — P. 551–571.

763. Sadoshima J., Qiu Z., Morgan J. P., Izumo S. Angiotensin II and other hypertrophic stimuli mediated by G protein-coupled receptors activate tyrosine kinase, mitogen-activated protein kinase, and 90-kD S6 kinase in cardiac myocytes. The critical role of  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent signaling // *Circ. Res.* — 1995. — Vol. 76. — N 1. — P. 1–15.

764. Sadoshima J., Xu Y., Slayter H.S., Izumo S. Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes *in vitro* // *Cell*. — 1993. — Vol. 75. — P. 977–984.



765. Saelens X., Festjens N., Vande Walle L., van Gurp M., van Loo G., Vandenabeele P. Toxic proteins released from mitochondria in cell death // *Oncogene*. — 2004. — Vol. 23. — P. 2861–2874.
766. Sahara S., Aoto M., Eguchi Y., Imamoto N., Yoneda Y., Tsujimoto Y. Acinus is a caspase-3-activated protein required for apoptotic chromatin condensation // *Nature*. — 1999. — Vol. 401. — N 6749. — P. 168–173.
767. Saikumar P., Dong Z., Patel Y., Hall K., Hopfer U., Weinberg J.M., Venkatachalam M.A. Role of hypoxia-induced Bax translocation and cytochrome c release in reoxygenation injury // *Oncogene*. — 1998. — Vol. 17. — N 26. — P. 3401–3415.
768. Saito S., Hiroi Y., Zou Y., Aikawa R., Toko H., Shibasaki F., Yazaki Y., Nagai R., Komuro I. Beta-adrenergic pathway induces apoptosis through calcineurin activation in cardiac myocytes // *J. Biol. Chem*. — 2000. — Vol. 275. — P. 34528–34533.
769. Sakahira H., Enari M., Nagata S. Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis // *Nature*. — 1998. — Vol. 391. — N 6662. — P. 96–99.
770. Sala-Mercado J.A., Wider J., Undyala V.V., Jahania S., Yoo W., Mentzer R.M. Jr., Gottlieb R.A., Przyklenk K. Profound cardioprotection with chloramphenicol succinate in the swine model of myocardial ischemia-reperfusion injury // *Circulation*. — 2010. — Vol. 122. — 11 Suppl. — P. 179–184.
771. Salvesen G.S., Duckett C.S. IAP proteins: blocking the road to death's door // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. — 2002. — Vol. 3. — N 6. — P. 401–410.
772. Salvesen G.S., Renatus M. Apoptosome: the seven-spoked death machine // *Dev. Cell*. — 2002. — Vol. 2. — N 3. — P. 256–257.
773. Salvesen G.S., Riedl S.J. Caspase mechanisms // *Adv. Exp. Med. Biol*. — 2008. — Vol. 615. — P. 13–23.
774. Samali A., O'Mahoney M., Reeve J., Logue S., Szegezdi E., McMahon J., Fearnhead H.O. Identification of an inhibitor of caspase activation from heart extracts; ATP blocks apoptosome formation // *Apoptosis*. — 2007. — Vol. 12. — N 3. — P. 465–474.
775. Samani N.J., Gauguier D., Vincent M., Kaiser M.A., Bihoreau M.-T., Lodwick D., Wallis R., Parent V., Kimber P., Rattray F., Thompson J. R., Sassard J., Lathrop M. Analysis of quantitative trait loci for blood pressure on rat chromosomes 2 and 13. Age-related differences in effect // *Hypertension*. — 1996. — Vol. 28. — P. 1118–1122.
776. Sanchis D., Mayorga M., Ballester M., Comella J.X. Lack of Apaf-1 expression confers resistance to cytochrome c-driven apoptosis in cardiomyocytes // *Cell Death Differ*. — 2003. — N 10. — P. 977–986.
777. Sansome C., Zaika A., Marchenko N.D., Moll U.M. Hypoxia death stimulus induces translocation of p53 protein to mitochondria. Detection by immunofluorescence on whole cells // *FEBS Lett*. — 2001. — Vol. 488. — N 3. — P. 110–115.

778. Saraste A., Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis // *Cardiovasc. Res.* — 2000. — Vol. 45. — N 3. — P. 528–537.
779. Sareen D., Ebert A.D., Heins B.M., McGivern J.V., Ornelas L., Svendsen C.N. Inhibition of apoptosis blocks human motor neuron cell death in a stem cell model of spinal muscular atrophy // *PLoS One.* — 2012. — Vol. 7. — N 6. — P. 39113.
780. Sartorius U., Schmitz I., Krammer P.H. Molecular mechanisms of death-receptor-mediated apoptosis // *Chembiochem.* — 2001. — Vol. 2. — N 1. — P. 20–29.
781. Sasazawa Y., Futamura Y., Tashiro E., Imoto M. Vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase inhibitors overcome Bcl-xL-mediated chemoresistance through restoration of a caspase-independent apoptotic pathway // *Cancer Sci.* — 2009. — Vol. 100. — N 8. — P. 1460–1467.
782. Sasser J.M., Pollock J.S., Pollock D.M. Renal endothelin in chronic angiotensin II hypertension // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 2002. — Vol. 283. — R243–R248.
783. Satomi-Kobayashi S., Ueyama T., Mueller S., Toh R., Masano T., Sakoda T., Rikitake Y., Miyoshi J., Matsubara H., Oh H., Kawashima S., Hirata K., Takai Y. Deficiency of nectin-2 leads to cardiac fibrosis and dysfunction under chronic pressure overload // *Hypertension.* — 2009. — Vol. 54. — N 4. — P. 825–831.
784. Savill J., Fadok V. Corpse clearance defines the meaning of cell death // *Nature.* — 2000. — Vol. 407. — P. 784–788.
785. Sawyer D.B., Loscalzo J. Myocardial hibernation: restorative or preterminal sleep // *Circulation.* — 2002. — Vol. 105. — N 13. — P. 1517–1519.
786. Scaffidi C., Schmitz I., Krammer P.H., Peter M.E. The role of c-FLIP in modulation of CD95-induced apoptosis // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. — P. 1541–1548.
787. Schaper J., Lorenz-Meyer S., Suzuki K. The role of apoptosis in dilated cardiomyopathy // *Herz.* — 1999. — Vol. 24. — N 3. — P. 219–224.
788. Scherz-Shouval R., Elazar Z. Regulation of autophagy by ROS: physiology and pathology // *Trends Biochem. Sci.* — 2011. — Vol. 36. — N 1. — P. 30–38.
789. Scherz-Shouval R., Elazar Z. ROS, mitochondria and the regulation of autophagy // *Trends Cell Biol.* — 2007. — Vol. 17. — N 9. — P. 422–427.
790. Schiffrin E.L. J. Endothelin and endothelin antagonists in hypertension // *Hypertension.* — 1998. — Vol. 16. — N 12. — Part 2. — P. 1891–1895.
791. Schiffrin E.L. Role of endothelin-1 in hypertension and vascular disease // *Am. J. Hypertens.* — 2001. — Vol. 14. — N 6. Pt 2. — P. 83–89.
792. Schimmer A.D. Inhibitor of apoptosis proteins: translating basic knowledge into clinical practice // *Cancer Res.* — 2004. — Vol. 64. — P. 7183–7190.
793. Schnackenberg C.G., Welch W.J., Wilcox C.S. Normalization of blood pressure and renal vascular resistance in SHR with a membrane-permeable superoxide dismutase mimetic: role of nitric oxide // *Hypertension.* — 1998. — Vol. 32. — P. 59–64.

794. Schneiders D., Heger J., Best P., Michael Piper H., Taimor G. SMAD proteins are involved in apoptosis induction in ventricular cardiomyocytes. // *Cardiovasc Res.* — 2005. — Vol. 67. — N 1. — P. 87–96.
795. Schoneich C. Protein modification in aging: an update // *Exp. Gerontol.* — 2006. — Vol. 41. — P. 807–812.
796. Schröder D., Heger J., Piper H.M., Euler G. Angiotensin II stimulates apoptosis via TGF-beta1 signaling in ventricular cardiomyocytes of rat // *J. Mol. Med.* — 2006. — Vol. 84. — N 11. — P. 975–983.
797. Schultz D.R., Harrington W.J. Jr. Apoptosis: programmed cell death at a molecular level // *Semin. Arthritis Rheum.* — 2003. — Vol. 32. — N 6. — P. 345–369.
798. Schunkert H., Dzau V.J., Tang S.S., Hirsch A.T., Apstein C.S., Lorell B.H. Increased rat cardiac angiotensin converting enzyme activity and mRNA expression in pressure overload left ventricular hypertrophy: effect on coronary resistance, contractility, and relaxation // *J. Clin. Invest.* — 1990. — Vol. 86. — P. 1913–1920.
799. Schwerk C., Schulze-Osthoff K. Non-apoptotic functions of caspases in cellular proliferation and differentiation // *Biochem. Pharmacol.* — 2003. — Vol. 66. — N 8. — P. 1453–1458.
800. Schwimbeck P.L., Badorff C., Rohn G., Schulze K., Schultheiss H.P. The role of sensitized T-cells in myocarditis and dilated cardiomyopathy // *Int. J. Cardiol.* — 1996. — Vol. 54. — N 2. — P. 117–125.
801. Scorrano L. Opening the doors to cytochrome c: changes in mitochondrial shape and apoptosis // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* — 2009. — Vol. 41. — N 10. — P. 1875–1883.
802. Sedeek M., Hébert R.L., Kennedy C.R., Burns K.D., Touyz R.M. Molecular mechanisms of hypertension: role of Nox family NADPH oxidases // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* — 2009. — Vol. 18. — P. 122–127.
803. Sedmera D., Thompson R.P. Myocyte proliferation in the developing heart // *Dev. Dyn.* — 2011. — Vol. 240. — N 6. — P. 1322–1334.
804. Seki K., Sanada S., Kudinova A.Y., Steinhauser M.L., Handa V., Gannon J., Lee R.T. Interleukin-33 prevents apoptosis and improves survival after experimental myocardial infarction through ST2 signaling // *Circ. Heart Fail.* — 2009. — Vol. 2. — N 6. — P. 684–691.
805. Sevrioukova I.F. Apoptosis-inducing factor: structure, function, and redox regulation // *Antioxid. Redox Signal.* — 2011. — Vol. 14. — N 12. — P. 2545–2579.
806. Sharma A.K., Dhingra S., Khaper N., Singal P.K. Activation of apoptotic processes during transition from hypertrophy to heart failure in guinea pigs // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2007. — Vol. 293. — N 3. — P. 1384–1390.
807. Sharov V.G., Todor A., Suzuki G., Morita H., Tanheco E.J., Sabbah H.N. Hypoxia, angiotensin-II, and norepinephrine mediated apoptosis is stimulus specific in canine failed cardiomyocytes: a role for p38 MAPK, Fas-L and cyclin D // *Eur. J. Heart Fail.* — 2003. — N 5. — P. 121–129.

808. Sheikh M.S., Huang Y. Death receptor activation complexes: it takes two to activate TNF receptor 1 // *Cell Cycle*. — 2003. — Vol. 2. — N 6. — P. 550–552.
809. Shen Y., Kan Q.C., Xu W., Chu Y.W., Xiong S.D. Coxsackievirus B3 infection induced viral myocarditis by regulating the expression pattern of chemokines in cardiac myocytes // *Iran J. Allergy Asthma Immunol.* — 2009. — Vol. 8. — N 1. — P. 1–9.
810. Sheu S.S., Nauduri D., Anders M.W. Targeting antioxidants to mitochondria: A new therapeutic direction // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2006. — Vol. 1762. — N 2. — P. 256–265.
811. Sheydina A., Riordon D.R., Boheler K.R. Molecular mechanisms of cardiomyocyte aging // *Clinical Science.* — 2011. — Vol. 121. — P. 315–329.
812. Shi Y. Apoptosome assembly // *Methods Enzymol.* — 2008. — Vol. 442. — P. 141–156.
813. Shimomura H., Terasaki F., Hayashi T., Kitaura Y., Isomura T., Suma H. Autophagic degeneration as a possible mechanism of myocardial cell death in dilated cardiomyopathy // *Jpn. Circ. J.* — 2001. — Vol. 65. — N 11. — P. 965–968.
814. Shintani T., Klionsky D.J. Autophagy in health and disease: a double-edged sword // *Science.* — 2004. — Vol. 306. — N 5698. — P. 990–995.
815. Singh K., Xiao L., Remondino A., Sawyer D.B., Colucci W.S. Adrenergic regulation of cardiac myocyte apoptosis // *J. Cell Physiol.* — 2001. — Vol. 189. — N 3. — P. 257–265.
816. Siwik D.A., Tzortzis J.D., Pimental D.R., Chang D.L., Pagano P.J., Singh K., Sawyer D.B., Colucci W.S. Inhibition of copper-zinc superoxide dismutase induces cell growth, hypertrophic phenotype, and apoptosis in neonatal rat cardiac myocytes *in vitro* // *Circ. Res.* — 1999. — Vol. 85. — P. 147–153.
817. Skulachev V.P. Bioenergetic aspects of apoptosis, necrosis and mitoptosis // *Apoptosis.* — 2006. — Vol. 11. — N 4. — P. 473–485.
818. Skulachev V.P. Programmed death in yeast as adaptation? // *FEBS Lett.* — 2002. — Vol. 528. — N 1–3. — P. 23–26.
819. Slee E.A., Adrain C., Martin S.J. Executioner caspase-3, -6, and -7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. — P. 7320–7326.
820. Slezak J., Tribulova N., Okruhlicova L., Dhingra R., Bajaj A., Freed D., Singal P. Hibernating myocardium: pathophysiology, diagnosis, and treatment // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 2009. — Vol. 87. — N 4. — P. 252–265.
821. Smaili S.S., Hsu Y.T., Carvalho A.C., Rosenstock T.R., Sharpe J.C., Youle R.J. Mitochondria, calcium and pro-apoptotic proteins as mediators in cell death signaling // *Braz. J. Med. Biol. Res.* — 2003. — Vol. 36. — N 2. — P. 183–190.
822. Smith R.A., Hartley R.C., Cochemé H.M., Murphy M.P. Mitochondrial pharmacology // *Trends Pharmacol. Sci.* — 2012. — Vol. 33. — N 6. — P. 341–352.
823. Song E., Lee S-K., Wang J., Ince N., Ouyang N., Min J., Chen J., Shankar P., Lieberman J. RNA interference targeting Fas protects mice from fulminant hepatitis // *Nature Medicine.* — 2003. — N 9. — P. 347–351.

824. Song G., Chen G.G., Yun J.P., Lai P.B. Association of p53 with Bid induces cell death in response to etoposide treatment in hepatocellular carcinoma // *Curr. Cancer Drug Targets*. — 2009. — Vol. 9. — N 7. — P. 871–880.

825. Song L.J., Wang G.L., Liu J., Qiu Q.Y., Ou J.H., Guan Y.Y. Cellular mechanisms of reduced sarcoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  content in L-thyroxine induced rat ventricular hypertrophy // *Acta Pharmacol. Sin.* — 2008. — Vol. 29. — N 4. — P. 430–436.

826. Sowter H.M., Ratcliffe P.J., Watson P., Greenberg A.H., Harris A.L. HIF-1-dependent regulation of hypoxic induction of the cell death factors BNIP3 and NIX in human tumors // *Cancer Res.* — 2001. — Vol. 61. — N 18. — P. 6669–6673.

827. Sperandio S., de Belle I., Bredesen D.E. An alternative, non-apoptotic form of programmed cell death // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2000. — Vol. 97. — P. 14376–14381.

828. Spinar J., Spinarova L., Vitovec J., Ludka O., Hubená G., Tomandlová M., Tomandl J. Big endothelin and chronic heart failure // *Vnitr. Lek.* — 2002. — Vol. 48. — P. 3–7.

829. Stefanec T. Endothelial apoptosis: could it have a role in the pathogenesis and treatment of disease // *Chest.* — 2000. — Vol. 117. — P. 841–854.

830. Stow L.R., Jacobs M.E., Wingo C.S., Cain B.D. Endothelin-1 gene regulation // *FASEB J.* — 2011. — Vol. 25. — P. 16–28.

831. Subramanian Sh., Kalyanaraman B., Migrino R.Q. Mitochondrially Targeted Antioxidants for the Treatment of Cardiovascular Diseases // *Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery*. — 2010. — N 5. — P. 54–65.

832. Sugamura K., Keaney J.F. Jr. Reactive oxygen species in cardiovascular disease // *Free Radic. Biol. Med.* — 2011. — Vol. 51. — P. 978–992.

833. Suliman A., Lam A., Datta R., Srivastava R.K. Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrial-dependent and -independent pathways // *Oncogene*. — 2001. — Vol. 20. — P. 2122–2133.

834. Sun M., Opavsky M.A., Stewart D.J., Rabinovitch M., Dawood F., Wen W.H., Liu P.P. Temporal response and localization of integrins beta1 and beta3 in the heart after myocardial infarction: regulation by cytokines // *Circulation*. — 2003. — Vol. 107. — N 7. — P. 1046–1052.

835. Susin S.A., Daugas E., Ravagnan L., Samejima K., Zamzami N., Loeffler M., Costantini P., Ferri K.F., Irinopoulou T., Prevost M.C., Brothers G., Mak T.W., Penninger J., Earnshaw W.C., Kroemer G. Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis // *J. Exp. Med.* — 2000. — Vol. 192. — P. 571–580.

836. Susin S.A., Lorenzo H.K., Zamzami N., Marzo I., Snow B.E., Brothers G.M., Mangion J., Jacotot E., Costantini P., Loeffler M., Larochette N., Goodlett D.R., Aebersold R., Siderovski D.P., Penninger J.M., Kroemer G. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor // *Nature*. — 1999. — Vol. 397. — N 6718. — P. 441–446.

837. Sutsch G., Kiowski W., Yan X.W., Hunziker P., Christen S., Strobel W., Kim J.H., Rickenbacher P., Bertel O. Short-term oral endothelin-receptor antago-

nist therapy in conventionally treated patients with symptomatic severe chronic heart failure // *Circulation*. — 1998. — Vol. 98. — N 21. — P. 2262–2268.

838. Suzuki J., Matsubara H., Urakami M., Inada M. Rat angiotensin II (type 1A) receptor mRNA regulation and subtype expression in myocardial growth and hypertrophy // *Circ. Res.* — 1993. — Vol. 73. — P. 439–447.

839. Szabadkai G., Rizzuto R. Participation of endoplasmic reticulum and mitochondrial calcium handling in apoptosis: more than just neighborhood? // *FEBS Lett.* — 2004. — Vol. 567. — P. 111–115.

840. Taddei S., Virdis A., Ghiadoni L., Sudano I., Notari M., Salvetti A. Vasoconstriction to endogenous endothelin-1 is increased in the peripheral circulation of patients with essential hypertension // *Circulation*. — 1999. — Vol. 100. — P. 1680–1683.

841. Takemura G., Fujiwara H. Morphological aspects of apoptosis in heart diseases. Morphological aspects of apoptosis in heart diseases // *J. Cell. Mol. Med.* — 2006. — Vol. 10. — N 1. — P. 56–75.

842. Takemura G., Fujiwara H. Role of apoptosis in remodeling after myocardial infarction // *Pharmacol Ther.* — 2004. — Vol. 104. — N 1. — P. 1–16.

843. Takemura G., Miyata S., Kawase Y., Okada H., Maruyama R., Fujiwara H. Autophagic degeneration and death of cardiomyocytes in heart failure // *Autophagy*. — 2006. — Vol. 2. — N 3. — P. 212–214.

844. Tanaka M., Fujiwara H., Onodera T., Wu D.J., Matsuda M., Hamashima Y., Kawai C. Quantitative analysis of narrowings of intramyocardial small arteries in normal hearts, hypertensive hearts, and hearts with hypertrophic cardiomyopathy // *Circulation*. — 1987. — Vol. 75. — N 6. — P. 1130–1139.

845. Tang L.-H., Xia Zh.-Y., Zhao B., Wei X.D., Luo T., Meng Q.T. Phosphocreatine Preconditioning Attenuates Apoptosis in Ischemia-Reperfusion Injury of Rat Brain // *J. of Biomedicine and Biotechnology*. — Volume 2011, Article ID 107091, 4 pages.

846. Taniyama Y., Griendling K.K. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms // *Hypertension*. — 2003. — Vol. 42. — P. 1075–1081.

847. Tannous P., Zhu H., Johnstone J.L., Shelton J.M., Rajasekaran N.S., Benjamin I.J., Nguyen L., Gerard R.D., Levine B., Rothermel B.A., Hill J.A. Autophagy is an adaptive response in desmin-related cardiomyopathy // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2008. — Vol. 105. — N 28. — P. 9745–9750.

848. Tarasov V., Jung P., Verdoodt B., Lodygin D., Epanchintsev A., Menses A., Meister G., Hermeking H. Differential regulation of microRNAs by p53 revealed by massively parallel sequencing: miR-34a is a p53 target that induces apoptosis and G1-arrest // *Cell Cycle*. — 2007. — Vol. 6. — N 13. — P. 1586–1593.

849. Tasdemir E., Maiuri M.C., Galluzzi L., Vitale I., Djavaheri-Mergny M., D'Amelio M., Criollo A., Morselli E., Zhu C., Harper F., Nannmark U. et al. Regulation of autophagy by cytoplasmic p53 // *Nat. Cell Biol.* — 2008. — Vol. 10. — N 6. — P. 676–687.

850. Teiger E., Than V.D., Richard L., Wisnewsky C., Tea B.S., Gaboury L., Tremblay J., Schwartz K., Hamet P. Apoptosis in pressure overload induced heart hypertrophy in the rat // *J. Clin. Invest.* — 1996. — Vol. 97. — P. 2891–2897.
851. Terman A., Brunk U.T. Autophagy in cardiac myocyte homeostasis, aging, and pathology // *Cardiovasc. Res.* — 2005. — Vol. 68. — N 3. — P. 355–365.
852. Thomas W.G., Brandenburger Y., Autelitano D.J., Pham T., Qian H., Hannan R.D. Adenoviral-directed expression of the type 1A angiotensin receptor promotes cardiomyocyte hypertrophy via transactivation of the epidermal growth factor receptor // *Circ. Res.* — 2002. — Vol. 90. — N 2. — P. 135–142.
853. Thornborrow E.C., Patel S., Mastropietri A.E., Schwartzfarb E.M., Manfredi J.J. A conserved intronic response element mediates direct p53-dependent transcriptional activation of both the human and murine bax genes // *Oncogene.* — 2002. — Vol. 21. — P. 990–999.
854. Tingleff J., Munch M. Prevalence of left ventricular hypertrophy in hypertensive population // *Eur. Heart. J.* — 1996. — Vol. 17. — P. 143–149.
855. Tittel J.N., Steller H. A comparison of programmed cell death between species // *Genome Biol.* — 2000. — Vol. 1. — N 3. — REVIEWS0003.
856. Toth A., Jeffers J.R., Nickson P., Min J.Y., Morgan J.P., Zambetti G.P., Erhardt P. Targeted deletion of Puma attenuates cardiomyocyte death and improves cardiac function during ischemiareperfusion // *Am. J. Physiol.* — 2006. — Vol. 291. — P. H52–H60.
857. Touyz R.M. Reactive oxygen species as mediators of calcium signaling by angiotensin II: implications in vascular physiology and pathophysiology // *Antioxid. Redox. Signal.* — 2005. — N 7. — P. 1302–1314.
858. Touyz R.M. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? // *Hypertension.* — 2004. — Vol. 44. — P. 248–252.
859. Touyz R.M., Briones A.M. Reactive oxygen species and vascular biology: implications in human hypertension // *Hypertens. Res.* — 2011. — Vol. 34. — P. 5–14.
860. Touyz R.M., Chen X., Tabet F., Yao G., He G., Quinn M.T., Pagano P.J., Schiffrin E.L. Expression of a functionally active gp91phox-containing neutrophil-type NAD(P)H oxidase in smooth muscle cells from human resistance arteries: regulation by angiotensin II // *Circ. Res.* — 2002. — Vol. 90. — P. 1205–1213.
861. Trouvé P., Legot S., Bélikova I., Marotte F., Bénévolsky D., Russo-Marie F., Samuel J.L., Charlemagne D. Localization and quantitation of cardiac annexins II, V, and VI in hypertensive guinea pigs // *Am. J. Physiol.* — 1999. — Vol. 276. — N 4 Pt 2. — P. 1159–1166.
862. Tsujimoto Y., Shimizu S. Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death // *Apoptosis.* — 2007. — Vol. 12. — N 5. — P. 835–840.
863. Tsujimoto Y., Shimizu S. VDAC regulation by the Bcl-2 family of proteins // *Cell Death Differ.* — 2000. — Vol. 7. — N 12. — P. 1174–1181.

864. Tsutsui H., Ide T., Kinugawa S. Mitochondrial oxidative stress, DNA damage, and heart failure // *Antioxid. Redox. Signal.* — 2006. — N 8. — P. 1737–1744.
865. Turrens J.F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species // *J. Physiol.* — 2003. — Vol. 552. — P. 335–344.
866. Tyner S.D., Venkatachalam S., Choi J., Jones S., Ghebranious N., Igelmann H., Lu X., Soron G., Cooper B., Brayton C., Hee Park S., Thompson T., Karsenty G., Bradley A., Donehower L.A. p53 mutant mice that display early ageing associated phenotypes // *Nature.* — 2002. — Vol. 415. — P. 45–53.
867. Vakhrusheva O., Smolka C., Gajawada P., Kostin S., Boettger T., Kubin T., Braun T., Bober E. Sirt7 increases stress resistance of cardiomyocytes and prevents apoptosis and inflammatory cardiomyopathy in mice // *Circ. Res.* — 2008. — Vol. 102. — N 6. — P. 703–710.
868. Valencia-Sanchez M.A., Liu J., Hannon G.J., Parker R. Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs // *Genes Dev.* — 2006. — Vol. 20. — N 5. — P. 515–524.
869. Van den Bosch B.J., Lindsey P.J., van den Burg C.M., van der Vlies S.A., Lips D.J., van der Vusse G.J., Ayoubi T.A., Doevendans P.A., Smeets H.J. Early and transient gene expression changes in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in mice // *Genomics.* — 2006. — Vol. 88. — N 4. — P. 480–488.
870. van Empel V.P., Bertrand A.T., Hofstra L., Crijns H.J., Doevendans P.A., de Windt L.J. Myocyte apoptosis in heart failure // *Cardiovasc. Res.* — 2005. — Vol. 67. — N 1. — P. 21–29.
871. van Heerde W., Robert-Offerman L., Dumont E. Markers of apoptosis in cardiovascular tissues: focus on Annexin V // *Cardiovascular Research.* — 2000. — Vol. 45. — P. 549–559.
872. van Loo G., Saelens X., Van Gurp M., MacFarlane M., Martin S.J., Vandenameele P. The role of mitochondrial factors in apoptosis: a Russian roulette with more than one bullet // *Cell Death Differ.* — 2002b. — N 9. — P. 1031–1042.
873. Vangestel C., Van de Wiele C., Mees G., Peeters M. Forcing cancer cells to commit suicide // *Cancer Biother Radiopharm.* — 2009. — Vol. 24. — N 4 — P. 395–407.
874. Vaseva A.V., Moll U.M. The mitochondrial p53 pathway // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2009. — Vol. 1787. — N 5. — P. 414–420.
875. Vatner S.F. FGF induces hypertrophy and angiogenesis in hibernating myocardium // *Circ. Res.* — 2005. — Vol. 96. — N 7. — P. 705–707.
876. Vaux D.L. Apoptogenic factors released from mitochondria // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2011. — Vol. 1813. — P. 546–550.
877. Vaux D.L., Korsmeyer S.J. Cell death in development // *Cell.* — 1999. — Vol. 96. — N 2. — P. 245–254.
878. Viel E.C., Benkirane K., Javeshghani D., Touyz R.M., Schiffrin E.L. Xanthine oxidase and mitochondria contribute to vascular superoxide anion generation in DOCA-salt hypertensive rats // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2008. — Vol. 295. — P. 281–288.



879. Villar A.V., Cobo M., Llano M., Montalvo C., González-Vílchez F., Martín-Durán R., Hurlé M.A., Nistal J.F. Plasma levels of transforming growth factor-beta1 reflect left ventricular remodeling in aortic stenosis // PLoS One. — 2009. — Vol. 4. — N 12. — e8476. — P. 1–8.
880. Virdis A., Neves M.F., Amiri F., Touyz R.M., Schiffrin EL. Role of NADPH oxidase on vascular alterations in angiotensin II-infused mice // J. Hypertens. — 2004. — Vol. 22. — P. 535–542.
881. Vogelstein B., Lane D., Levine A.J. Surfing the p53 network // Nature. — 2000. — Vol. 408. — P. 307–310.
882. Vogt Sionov R.V., Haupt Y. The cellular response to p53: the decision between life and death // Oncogene. — 1999. — Vol. 18. — P. 6145–6157.
883. Vousden K.H., Lu X. Live or let die: the cell's response to p53 // Nat. Rev. Cancer. — 2002. — Vol. 2. — N 8. — P. 594–604.
884. Wallach D., Kang T.B., Kovalenko A. The extrinsic cell death pathway and the élan mortel // Cell Death Differ. — 2008. — Vol. 15. — N 10. — P. 1533–1541.
885. Wallimann T., Dolder M., Schlattner U., Eder M., Hornemann T., O'Gorman E., Ruck A., Brdiczka D. Some new aspects of creatine kinase (CK): compartmentation, structure, function and regulation for cellular and mitochondrial bioenergetics and physiology // Biofactors. — 1998. — N 8. — P. 229–234.
886. Wallimann T., Tokarska-Schlattner M., Neumann D., Epand R.M., Epand R.F., Andres R.H., Widmer H.R., Hornemann T., Saks V., Agarkova I., Schlattner U. The phospho-creatine circuit: molecular and cellular physiology of creatine kinases, sensitivity to free radicals and enhancement by creatine supplementation // Saks VA (ed) Molecular systems bioenergetics: energy for life. — Wiley, Weinheim. — 2007. — P. 195–264.
887. Wallimann T., Tokarska-Schlattner M., Schlattner U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine // Amino Acids. — 2011. — Vol. 40. — P. 1271–1296.
888. Walsh S., Ponten A., Fleischmann B.K., Jovinge, S. Cardiomyocyte cell cycle control and growth estimation *in vivo*: an analysis based on cardiomyocyte nuclei // Cardiovasc. Res. — 2010. — Vol. 86. — P. 365–373.
889. Wang C.W., Klionsky D.J. The molecular mechanism of autophagy // Mol. Med. — 2003. — Vol. 9. — N 3–4. — P. 65–76.
890. Wang G., Burczynski F., Hasinoff B., Zhong G. Infection of myocytes with chlamydiae // Microbiology. — 2002. — Vol. 148. — N Pt 12. — P. 3955–3959.
891. Wang W., Xu J., Kirsch T. Annexin-mediated  $\text{Ca}^{2+}$  influx regulates growth plate chondrocyte maturation and apoptosis // J. Biol. Chem. — 2003. — Vol. 278. — N 6. — P. 3762–3769.
892. Wang X., Yang C., Chai J., Shi Y., Xue D. Mechanisms of AIF-mediated apoptotic DNA degradation in *Caenorhabditis elegans* // Science. — 2002. — Vol. 298. — N 5598. — P. 1587–1592.
893. Wang X.Q., Xiao A.Y., Sheline Ch., Hyrc K., Yang A., Goldberg M.P., Choi D.W., Yu Sh. P. Apoptotic insults impair  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity as a

mechanism of neuronal death mediated by concurrent ATP deficiency and oxidant stress // *J. of Cell Science.* — 2003. — Vol. 116. — P. 2099–2110.

894. Wang Y., Huang S., Sah V.P., Ross J., Brown J.H., Han J., Chien K.R. Cardiac muscle cell hypertrophy and apoptosis induced by distinct members of the p38 mitogen-activated protein kinase family // *J. Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 273. — N 4. — P. 2161–2168.

895. Wang Z.V., Rothermel B.A., Hill J.A. Autophagy in hypertensive heart disease // *J. Biol. Chem.* — 2010. — Vol. 285. — N 12. — P. 8509–8514.

896. Wang, Y. Mitogen-activated protein kinases in heart development and diseases // *Circulation.* — 2007. — Vol. 116. — N 12. — P. 1413–1423.

897. Watanabe M., Hitomi M., Van der Wee K., Rothenberg F., Fisher S.A., Zucker R., Svoboda K.K., Goldsmith E.C., Heiskanen K.M., Nieminen A.L. The pros and cons of apoptosis assays for use in the study of cells, tissues, and organs // *Microsc. Microanal.* — 2002. — N 8. — P. 375–391.

898. Watkins S.C., Samuel J.L., Marotte F., Bertier-Savalle B., Rappaport L. Microtubules and desmin filaments during onset of heart hypertrophy in rat: a double immunoelectron microscope study // *Circ. Res.* — 1987. — Vol. 60. — N 3. — P. 327–336.

899. Wedgwood S., Dettman R.W., Black S.M. ET-1 stimulates pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation via induction of reactive oxygen species // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* — 2001. — Vol. 281. — P. L1058–L1067.

900. Weidemann F., Herrmann S., Störk S., Niemann M., Frantz S., Lange V., Beer M., Gattenlöhner S., Voelker W., Ertl G., Strotmann J.M. Impact of myocardial fibrosis in patients with symptomatic severe aortic stenosis // *Circulation.* — 2009. — Vol. 120. — N 7. — P. 577–584.

901. Welshe-Soldato D.E., Chung C.S., Lomas-Neira J.L., Doughty L.A., Gregory S.H., Ayala A. *In vivo* delivery of caspase-8 or Fas siRNA improves the survival of septic mice // *Blood.* — 2005. — Vol. 106. — P. 2295–2301.

902. Westphal D., Dewson G., Czabotar P.E., Kluck R.M. Molecular biology of Bax and Bak activation and action // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2011. — Vol. 1813. — N 4. — P. 521–531.

903. Whelan R.S., Kaplinskiy V., Kitsis R.N. Cell death in the pathogenesis of heart disease: mechanisms and significance // *Annu Rev. Physiol.* — 2010. — Vol. 72. — P. 19–44.

904. WHO. The world health report 2004: changing history. Geneva, 2004.

905. Wilcox C.S. Oxidative stress and nitric oxide deficiency in the kidney: a critical link to hypertension? // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 2005. — Vol. 289. — P. 913–935.

906. Willey K.E., Davenport A.P. Nitric oxide-medulation of the endothelin-1 signaling pathway in the human cardiovascular system // *Brit. J. Pharmacology.* — 2001. — Vol. 132. — P. 213–220.

907. Wlodkowic D., Skommer J., Darzynkiewicz Z. Cytometry in Cell Necrobiology Revisited. Recent Advances and New Vistas // *Cytometry A*. — 2010. — Vol. 77. — N 7. — P. 591–606.

908. Worth A., Thrasher A.J., Gaspar H.B. Autoimmune lymphoproliferative syndrome: molecular basis of disease and clinical phenotype // *Br. J. Haematol.* — 2006. — Vol. 133. — P. 124–140.

909. Wyllie A.H. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation // *Nature*. — 1980. — Vol. 284. — P. 555–556.

910. Xiang J., Chao D.T., Korsmeyer S.J. BAX-induced cell death may not require interleukin 1 $\beta$ -converting enzyme-like proteases // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1996. — Vol. 93. — P. 14559–14563.

911. Xiao A.Y., Wei L., Xia S., Rothman S., Yu, S.P. Ionic mechanism of ouabain-induced concurrent apoptosis and necrosis in individual cultured cortical neurons // *J. Neurosci.* — 2002. — Vol. 22. — P. 1350–1362.

912. Xie M.J., Chang H., Wang Y.Y., Zhang L., Song Z., Guo W.G., Wang T., Che H.L., Yu Z.B. Evidence that apoptotic signalling in hypertrophic cardiomyocytes is determined by mitochondrial pathways involving protein kinase C $\delta$  // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* — 2010. — Vol. 37. — N 12. — P. 1120–1128.

913. Xu J., Carretero O.A., Liao T.D., Peng H., Shesely E.G., Xu J., Liu T.S., Yang J.J., Reudelhuber T.L., Yang X.P. Local angiotensin II aggravates cardiac remodeling in hypertension // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2010. — Vol. 299. — N 5. — P. 1328–1338.

914. Xue B., Beltz T.G., Yu Y., Guo F., Gomez-Sanchez C.E., Hay M., Johnson A.K. Central interactions of aldosterone and angiotensin II in aldosterone- and angiotensin II- induced hypertension // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2011. — Vol. 300. — P. 555–564.

915. Yamada T., Horiuchi M., Dzau V.J. Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1996. — Vol. 93. — P. 156–160.

916. Yamazaki T., Komuro I., Kudoh S., Zou Y., Shiojima I., Hiroi Y., Mizuno T., Maemura K., Kurihara H., Aikawa R., Takano H., Yazaki Y. Endothelin-1 is involved in mechanical stress-induced cardiomyocyte hypertrophy // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271. — P. 3221–3228.

917. Yamazaki T., Komuro I., Yazaki Y. Role of the renin–angiotensin system in cardiac hypertrophy // *Am. J. Cardiol.* — 1999. — Vol. 83. — N 12A. — P. 53–57.

918. Yamazaki T., Komuro I., Zou Y., Kudoh S., Shiojima I., Hiroi Y., Mizuno T., Aikawa R., Takano H., Yazaki Y. Norepinephrine induces the raf-1 kinase/mitogen-activated protein kinase cascade through both  $\alpha$ 1- and  $\beta$ -adrenoceptors // *Circulation*. — 1997. — Vol. 95. — P. 1260–1268.

919. Yamazaki T., Yazaki Y. Molecular basis of cardiac hypertrophy // *Z. Kardiol.* — 2000. — V. 89. — P. 1–6.

920. Yamazaki T., Yazaki, Y. Is there major involvement of the renin–angiotensin system in cardiac hypertrophy? // *Circ. Res.* — 1997. — Vol. 81. — N 5. — P. 639–642.

921. Yan L., Tang Q., Shen D., Peng S., Zheng Q., Guo H., Jiang M., Deng W. SOCS-1 inhibits TNF-alpha-induced cardiomyocyte apoptosis via ERK1/2 pathway activation // *Inflammation.* — 2008. — Vol. 31. — N 3. — P. 180–188.

922. Yan P., Chen S., Li Zh., Zhang J., et al. Effect of exogenous phosphocreatine on cardiomyocyte apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax after cardiopulmonary resuscitation in rats // *World J. Emerg. Med.* — 2011. — Vol. 2. — N 4. — P. 291–295.

923. Yang F., Sun X., Beech W., Teter B., Wu S., Sigel J., Vinters H.V., Frautschy S.A., Cole G.M. Antibody to caspase-cleaved actin detects apoptosis in differentiated neuroblastoma and plaque-associated neurons and microglia in Alzheimer's disease // *Am. J. Pathol.* — 1998. — Vol. 152. — P. 379–389.

924. Yaoita H., Ogawa K., Maehara K., Maruyama Y. Apoptosis in relevant clinical situations: contribution of apoptosis in myocardial infarction // *Cardiovasc. Res.* — 2000. — Vol. 45. — N 3. — P. 630–641.

925. Yorimitsu T., Klionsky D.J. Autophagy: molecular machinery for self-eating // *Cell Death Differ.* — 2005. — Suppl 2. — P. 1542–1552.

926. Youle R.J., Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* — 2008. — N 9. — P. 47–59.

927. Yu S.P. Na(+), K(+)-ATPase: the new face of an old player in pathogenesis and apoptotic/hybrid cell death // *Biochem. Pharmacol.* — 2003. — Vol. 66. — N 8. — P. 1601–1609.

928. Yura T., Fukunaga M., Khan R., Nassar G.N., Badr K.F., Montero A. Free radical-generated F2-isoprostane stimulates cell proliferation and endothelin-1 expression on endothelial cells // *Kidney Int.* — 1999. — Vol. 56. — P. 471–478.

929. Yurinskaya V., Goryachaya T., Guzhova I., Moshkov A., Rozanov Y., Sakuta G., Shirokova A., Shumilina E., Vassilieva I., Lang F., Vereninov A. Potassium and sodium balance in U937 cells during apoptosis with and without cell shrinkage // *Cell Physiol. Biochem.* — 2005. — Vol. 16. — N 4–6. — P. 155–162.

930. Yussman M.G., Toyokawa T., Odley A., Lynch R.A., Wu G., Colbert M.C., Aronow B.J., Lorenz J.N., Dorn G.W. 2nd. Mitochondrial death protein Nix is induced in cardiac hypertrophy and triggers apoptotic cardiomyopathy // *Nat. Med.* — 2002. — Vol. 8. — N 7. — P. 725–730.

931. Zeiss C.J. The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice // *Vet. Pathol.* — 2003. — Vol. 40. — P. 481–495.

932. Zhang J.L., Lu J.K., Chen D., Cai Q., Li T.X., Wu L.S., Wu X.S. Myocardial autophagy variation during acute myocardial infarction in rats: the effects of carvedilol // *Chin. Med. J. (Engl.)*. — 2009. — Vol. 122. — N 19. — P. 2372–2379.

933. Zhang L., Summers K.M., West M.J. Cosegregation of genes on chromosome 5 with heart weight and blood pressure in genetic hypertension // *Clin. Exp. Hypertens.* — 1996. — Vol. 18. — P. 1073–1087.
934. Zhang Y., Dong Y., Xu Z., Xie Z. Propofol and magnesium attenuate isoflurane-induced caspase-3 activation via inhibiting mitochondrial permeability transition pore // *Med. Gas. Res.* — 2012. — Vol. 17. — N 2(1). — P. 20.
935. Zhang Y., Köhler K., Xu J., Lu D., Braun T., Schlitt A., Buerke M., Müller-Werdan U., Werdan K., Ebel H. Inhibition of p53 after acute myocardial infarction: reduction of apoptosis is counteracted by disturbed scar formation and cardiac rupture // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 2011. — Vol. 50. — N 3. — P. 471–478.
936. Zhang Y., Peng T., Zhu H., Zheng X., Zhang X., Jiang N., Cheng X., Lai X., Shunnar A., Singh M., Riordan N., Bogin V., Tong N., Min W.P. Prevention of hyperglycemia-induced myocardial apoptosis by gene silencing of Toll-like receptor-4 // *J. Transl. Med.* — 2010. — Vol. 8. — P. 133.
937. Zhang Y.W., Shi J., Li Y.J., Wei L. Cardiomyocyte death in doxorubicin-induced cardiotoxicity // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz).* — 2009. — Vol. 57. — N 6. — P. 435–445.
938. Zhao Z.Q. Oxidative stress-elicited myocardial apoptosis during reperfusion // *Curr. Opin. Pharmacol.* — 2004. — Vol. 4. — N 2. — P. 159–165.
939. Zhao Z.Q., Morris C.D., Budde J.M., Wang N.P., Muraki S., Sun H.Y., Guyton R.A. Inhibition of myocardial apoptosis reduces infarct size and improves regional contractile dysfunction during reperfusion // *Cardiovasc. Res.* — 2003. — Vol. 59. — N 1. — P. 132–142.
940. Zhivotovsky B., Orrenius S. Caspase-2 function in response to DNA damage // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2005. — Vol. 331. — N 3. — P. 859–867.
941. Zhu L., Yu Y., Chua B.H., Ho Y.S., Kuo T.H. Regulation of sodium-calcium exchange and mitochondrial energetics by Bcl-2 in the heart of transgenic mice // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 2001. — Vol. 33. — P. 2135–2144.
942. Zidar N., Jera J., Maja J., Dusan S. Caspases in myocardial infarction // *Adv. Clin. Chem.* — 2007. — Vol. 44. — P. 1–33.
943. Ziegelhoffer A., Kjeldsen K., Bundgaard H., Breier A., Vrbjar N., Dzurba A. Na, K-ATPase in the myocardium: molecular principles, functional and clinical aspects // *Gen. Physiol. Biophys.* — 2000. — Vol. 19. — P. 9–47.
944. Zile M.R., Green G.R., Schuyler G.T., Aurigemma G.P., Miller D.C., Cooper G. 4th. Cardiocyte cytoskeleton in patients with left ventricular pressure overload hypertrophy // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2001. — Vol. 37. — N 4. — P. 1080–1084.
945. Zima A.V., Blatter L.A. Redox regulation of cardiac calcium channels and transporters // *Cardiovasc. Res.* — 2006. — Vol. 71. — N 2. — P. 310–321.
946. Zimmerman B.G., Dunham E.W. Tissue renin–angiotensin system: a site of drug action? // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* — 1997. — Vol. 37. — P. 53–69.

947. Zolk O., Engmann S., Münzel F., Krajcik R. Chronic cardiotrophin-1 stimulation impairs contractile function in reconstituted heart tissue // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2005. — Vol. 288. — N 6. — P. 1214–1221.

948. Zoratti M., Szabo I. The mitochondrial permeability transition // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1995. — Vol. 1241. — P. 139–176.

949. Zorc-Pleskovic R., Alibegović A., Zorc M., Milutinović A., Radovanović N., Petrović D. Apoptosis of cardiomyocytes in myocarditis // *Folia Biol. (Praha).* — 2006. — Vol. 52. — N 1–2. — P. 6–9.

950. Zorov D.B., Filburn C.R., Klotz L.O., Zweier J.L., Sollott S.J. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes // *J. Exp. Med.* — 2000. — Vol. 192. — P. 1001–1014.

951. Zou H., Li Y., Liu X., Wang X. An APAF-1/cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9 // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274. — P. 11549–11556.

952. Zou Y., Komuro I., Yamazaki T., Aikawa R., Kudoh S., Shiojima I., Hiroi Y., Mizuno T., Yazaki Y. Protein kinase C, but not tyrosine kinases or Ras, plays a critical role in angiotensin II-induced activation of Raf-1 kinase and extracellular signal-regulated protein kinases in cardiac myocytes // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271. — P. 33592–33597.

**ДЛЯ ЗАМЕТОК**

---

*Монография*

**Благодаров** Михаил Львович  
**Азова** Мадина Мухамедовна  
**Фролов** Виктор Алексеевич

**ПРОГРАММИРОВАННАЯ КЛЕТОЧНАЯ  
ГИБЕЛЬ В ПАТОЛОГИИ СЕРДЦА**

Зав. редакцией *А.В. Андреева*  
Выпускающий редактор *И.А. Клепикова*  
Корректоры *Е.И. Макеева, В.Н. Калинина*  
Компьютерная верстка *С.И. Евдокимов*



Подписано в печать 04.12.2013. Формат 60х90 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Бумага офсетная. Печать офсетная. Объем 17 усл. печ. л.  
Тираж 300 экз. Заказ №

ООО «Издательство «Литтерра».  
117593, Москва, Соловьиный проезд, д. 18А.  
Тел.: (495) 921-38-56.  
Интернет-адрес издательства: [www.litterra.ru](http://www.litterra.ru),  
e-mail: [info@litterra.ru](mailto:info@litterra.ru).  
Интернет-магазин: [www.medknigaservis.ru](http://www.medknigaservis.ru).

Отпечатано в ООО «Чебоксарская типография № 1».  
428019, г. Чебоксары, пр. И. Яковлева, 15.

ISBN 978-5-4235-0125-9



9 785423 501259 >