Лукьянова Марина Евгеньевна [1], Ермола Юлианна Аркадьевна [2]
[1] ФГАОУ ВО "Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского", Медицинская академия им. С.И. Георгиевского (Симферополь)
[2] ФГАОУ ВО "Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского", Медицинская академия им. С.И. Георгиевского (Симферополь), кафедра патологической анатомии с секционным курсом, доцент, к.м.н.
Эл. почта: varryet@gmail.com

Современные представления о роли апоптоза в гибели кардиомиоцитов при ишемической болезни сердца

Аннотация. При рассмотрении вопроса повреждения кардиомиоцитов в процессе ишемической болезни сердца (ИБС) традиционно основное внимание уделяется дистрофии и некрозу клеток. Тем не менее, существуют признаки, указывающие на наличие процессов программированной клеточной смерти в сердце в условиях недостаточности кровообращения миокарда. В данной статье рассмотрен вопрос возможности протекания апоптоза в мышечных клетках сердца, его характерные особенности и способы выявления, а также роли запрограммированной клеточной смерти в повреждении миокарда в условиях ишемии и при последующих осложнениях.
Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, кардиомиоциты, апоптоз.

Процесс запрограммированной клеточной гибели принято связывать со способностью клетки вступать в митотический цикл, а, следовательно, следует считать апоптоз нехарактерным для клеток в терминальной дифференцировке, которыми являются и кардиомиоциты, клетки высокой степени специализации. Данное утверждение оспаривается признаками апоптоза, которые можно выявить в миокарде в условиях дефицита кровоснабжения. К таким показателям можно отнести морфологические признаки, выявляемые на ультраструктурном уровне в клетки, явление «исчезновения клеток без воспаления» в фокусе некроза ткани и воспаления, и активность генов и их белковых продуктов, принимающих участие в развитии апоптоза[15].

Ведущим механизмом деструкции кардиомиоцитов при воздействии гипоксии является их дистрофия, некроз, сопровождающийся реакцией воспаления. На сегодняшний день существует широкий диапазон методов, позволяющих идентифицировать ишемические изменения в миокарде как на ранних стадиях (к примеру, определение смещения баланса окислительно-восстановительных реакций и контрактурных изменения миофибрилл), так и непосредственно маркировать участки некроза ткани. Определение апоптоза в миокарде вызывает трудности, что объясняет сравнительно недавнее первое упоминание о возможности программированной гибели кардиомиоцитов – 1995 г. Описанный процесс («кардиомиоциты с апоптической дегенерацией») отражал атипизм морфологических признаков апоптоза в миокарде, впоследствии более четко установленных на ультраструктурном уровне при помощи электронной микроскопии. В частности, для морфологических признаков апоптоза в мышечных клетках сердца характерна дезинтеграция и неравномерное распределение хроматина без маргинации на полулунные участки нуклеиновых кислот, протекающие при воздействии эндонуклеаз. Определяется конденсация митохондрий по периферии,

но отсутствует пузырчатость ядра как показатель апоптоза. В миокарде происходит образование и отшнуровка апоптических тел, но впоследствии тельца преимущественно захватываться соседними кардиомиоцитами без привлечения в зону гибели макрофагов [1].

Такой атипизм позволяет определять апоптоз в миокарде только на ультраструктурном уровне и требует другого, более специфического, метода оценки нежели простое морфологическое исследование гистологического препарата. В практике применимы электрофоретическое разделение полидезоксирибонуклеотидных фрагментов и изучение их участков, TUNEL-метод, основанный на встраивание искусственно синтезированных олигонуклеотидов в ДНК в участках разрывов нуклеиновых кислот для их маркировки, цитофлюорометрические методы определения гипоплоидный клеток [2].

Развитие запрограммированной клеточной смерти в кардиомиоцитах протекает по двум возможным путем: внутреннему и внешнему. Пусковым механизмом к развитию внутреннего пути активации апоптоза являются нарушения метаболизма клетки, возникающие в ответ на гипоксию ткани. На сегодняшний день дистрофические процессы в миокарде, протекающие на фоне ИБС, хорошо изучены, и рассматриваться, как и преднекротические повреждения, впоследствии переходящими в необратимые повреждения, некроз и воспаление. Дефицит кислорода в клетки приводит к переходу кардиомиоцита на анаэробный тип обмена, сдвигу баланса окислительно-восстановительных реакций, ацидозу вследствие накопления продуктов неполного обмена. Внутриклеточный подъем концентрации свободных радикалов отягощается увеличением содержания таких окислителей и в кровотоке в условиях ишемии [3]. В случае истощения клеточных механизмов компенсации, первыми под повреждающие действие нарушения состава внутриклеточных компонентов попадают митохондрии. Угнетение окислительного фосфорилирования сопровождается снижением количества макроэргов и, как следствие, энергодефицитным падением мембранного потенциала митохондриальной мембраны. Повреждение мембраны митохондрии, протекающее по типу перекисного окисления липидов, завершается массированным выходом дополнительных свободных радикалов и ряда биологически активных веществ, непосредственных активаторов и участников апоптоза, из внутримитохондриального сектора в матрикс клетки [4, 5].

Важную роль в данном процессе играют ионы Ca^{2+}, во-первых, как ионы, вызывающие фосфорилирование, а значит активацию специфических ферментов апоптоза, цистеиновых каспаз и эндонуклеаз, и неспецифических протеаз, фосфатаз, фосфорилаз, ламиназ. Во-вторых, ионы Ca^{2+} – причина изменений миофибрилл в виде контрактур, наиболее частого пути развития некробиоза в клетки миокарда. Это повреждает общность и тесную связь двух возможных способов смерти кардиомиоцитов при ИБС: некроза и апоптоза. Кроме того, внутри митохондрии так же локализованы сигнальные и пусковые белки программированной клеточной смерти: цитохром C, Smac/Diablo, Omi/HtrA2, AIF, Puma, эндонуклеаза G. Внешний путь развития апоптоза кардиомиоцитов сходен с таким же в других тканях организма. Клетка миокарда несет на своей цитоплазматической мембране «рецепторы смерти», представляющие собой мембранные рецепторы FAS/APO-1 и TNFR1 для восприятия белков-активаторов апоптоза, синтезированных вне повреждённой клетки. Такими специфическими активаторами являются лиганды данных рецепторов FAS/APO-1-L и TNFα/FasL [6].

Кроме того, неспецифически стимулировать апоптоз в миокарде могут катехоламины, ангиотензин II, антрациклины, воспалительные цитокины, воздействующие на ангиотензин-2-рецептор, α-1-адренорецептор. Так же возможно развитие апоптоза в случае снижения уровня ингибиторов клеточной смерти, поддерживающих жизнедеятельность клетки: действие норадреналина и бета-2-адренорецепторы, эндотелин, провоспалительные цитокины, эритропоэтин, эндогенные опиоиды, эстрогены, гормон роста [7, 8].

Для подтверждения развития апоптоза в миокарде при ИБС применяются методы, основанные на связывание антител с регуляторами апоптоза и определение степени экспрессии данных регуляторов при помощи серологических реакций, иммунофлюоресценции и иммуноферментного анализа. В клетке миокарда установлено в условиях гипоксии повышение экспрессии продукта гена p53 белка BAX, последний является одним из основных фактор развития программированной клеточной смерти, в частности нарушает процессы репарации ДНК и восстановления электростабильности мембраны митохондрии, подавляет активность ингибиторов апоптоза. Исполнительными белками апоптоза является семейство сериновых протеаз, каспазы, имеющих каскадный принцип активации и обеспечивающих нарушение функции внутриклеточных белков путем отщепления их регуляторных и катаболических субъединиц, непосредственное повреждение структур клетки и ингибирование белков-защитников. Активность данных сериновых ферментов так же показатель апоптоза [9, 10].

Методом серологического анализа можно определить наличие в клетке гена, обеспечивающего поддержание жизнедеятельности в клетки при апоптозе. Наибольшее значение для диагностики имеет проонкоген bcl 2, эффектами которого является подавление оксидативного стресса, поддерживание электрического потенциала мембраны митохондрии, препятствование выходу цитохрома С и оттоку кальция из митохондрий [2]. Меньшее значение имеют FLIP, ARC, IAPs, Hsp, Smac/Diablo и повышение продукции внутриклеточных белков теплового шока. Последний показатель может быть интересен с точки зрения установления роли апоптоза при длительной гипоксии и адаптации миокарда к данным условиям, так как постепенное повышение синтеза белков теплового шока при хронической ИБС может непосредственно предотвращать повреждение белков клетки, а значит снижать риск ее гибели [11].

Определение экспрессии регуляторов апоптоза – это не только способ подтверждения наличия в миокарде как таковой запрограммированной клеточной смерти, но и метод оценки ее динамики и характера течения. Наиболее максимальные показатели процесса апоптоза соответствуют 6-12 часам болевого синдрома стенокардии при острой форме ИБС. При этом в отдельных клетках миокарда значительно повышена экспрессия p53 [12].

Такие клетки располагаются в ткани миокарда диффузно (возможно морфологическое определение картины участков апоптоза с применение TUNEL-метода). Учитывая, что статичная ткань миокарда является функциональным синцитием, можно предполагать, что такое диффузное повреждение кардиомиоцитов путем апоптоза может являться морфологической основой электрической нестабильности сердца и быть причиной внезапной сердечной смерти [13].

К 24 часам болевого синдрома преобладающей формой гибели кардиомиоцитов является некроз, сопровождающийся воспалением. В

кардиомиоцитах с ранее высокими показателями p53 повышается активность bcl 2. Выход клетки из состояния гибели на ранних стадиях ишемии может являться одним из факторов развития гибернации – «оглушённого сердца», явление, при котором снижение кровенаполнения ткани миокарда приводит к снижению метаболизма клетки и предотвращает ее некроз. Располагаются такие клетки очагами возле зон некроза. Предположительно такие очаги апоптоза могут способствовать расширению зоны некроза от 5 до 33%. Отдаленные осложнения острой ИБС - это ремоделирование в клетках, подвергшихся в стадии ишемического криза апоптозу, но вышедших из данного состояния [14, 15].

В таких клетках часто определяются признаки декомпенсации, гипертрофии в сочетании с дистрофиями. При реперфузии и в более поздний постинфарктный период повышаются показатели каспазы 8 и t-Bid, способные повторно вызвать апоптоз клетки. Подобные осложнения впоследствии приводят к развитию сердечной недостаточности [16]. При хронической ИБС в зоне риска возникновения апоптоза находятся также гипертрофированные кардиомиоциты. При исследовании степени активности про-апоптической системы на фоне хронической ИБС наибольшие показатели соответствовали снижением конечного диастолического объема ниже 120 мл [17].

Применение в практике лечения ИБС лекарственных препаратов, мишенью которых является апоптотическая система, подтверждает роль апоптоза в развитии повреждения миокарда при его гипоксии. Экспериментально применяются лекарственные средства, способные ингибировать каспазы. На сегодняшний день последние еще не получили клинического распространения в связи со сложностями проникновения вещества в клетку. Разрабатываются специфические белки-регуляторы, способные ингибировать апоптоз через "рецепторы смерти".

Заключение. Гибель кардиомиоцитов при ишемии миокарда обусловлена не только процессами дистрофии с последующим некрозом, но и апоптозом. На ранних стадиях ишемии апоптоз является преобладающей формой гибели кардиомиоцитов, достигая максимальной интенсивности к 6-ти часам от клинического проявления болевого синдрома. Апоптоз кардиомиоцитов выявляется преимущественно в зоне контрактурных повреждений кардиомиоцитов. Апоптоз сопровождается и подтверждается специфическими морфологическими изменениями и увеличением активности цистеиновых протеиназ. Наличие апоптоза кардиомиоцитов в периинфарктной области способствует расширению зоны повреждения. Мозаичность апоптоза в сердечной мышце в первые часы болевого приступа может являться основой электрической нестабильности миокарда и приводить к внезапной сердечной смерти, а в постинфарктный период приводит к осложнениям – ремоделированию с развитием хронической сердечной недостаточности.

Ссылки на источники

1. Бескровнова, Н.Н., Вихерт А.М., Цыпленкова В.Г., Шаров В.Г. О возможности определения типа клеточной смерти кардиомиоцитов при помощи ультраструктурного анализа / Н.Н. Бескровнова, А.М. Вихерт, В.Г. Цыпленкова, В.Г. Шаров // Архив патологии. – 1980. – №3. – С.34-39.
2. Кузнецова И.А. Апоптоз кардиомиоцитов при ишемии миокарда : автореф. дис. … канд. мед. наук. – Санкт-Петербург, 2005.

3. Эфендиев, А.М. Биохимические основы апоптоза при сердечной недостаточности / А.М. Эфендиев, Ф.И. Мамедова // Universum: медицина и фармакология. – 2014. – №12(13).
4. Судаков, Н.П. Механизмы участия митохондрий в развитии патологических процессов, сопровождающихся ишемией и реперфузией / Н.П. Судаков, С.Б. Никифоров, Ю.М. Константинов // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2006. – № 51. – С.332-336.
5. Клочкова Г.Р. Ремоделирование миокарда и перекисное окисление липидов при ишемической болезни сердца : автореф. дис. … канд. мед. наук. — Оренбург, 2011
6. Березикова Е.Н. Клинико-генетические и нейрогормональные механизмы развития ишемического ремоделирования, апоптоза миокарда и сердечной недостаточности: инновационная стратегия персонализированной диагностики, профилактики и лечения : автореф. дис.… д-ра мед. наук. — Томск, 2014.
7. Драпкина, О.М. Апоптоз кардиомиоцитов и роль ингибиторов АПФ / О.М. Драпкина, А.В. Клименков, В.Т. Ивашкин // Российский кардиологический журнал. – 2003. – №1. – С.81-86.
8. Швед, И.А. Апоптоз кардиомиоцитов при экспериментальной ишемии миокарда и влияние на его развитие креатинмоногидрата / И.А. Швед, Т.Э. Владимирская // Здравоохранение. – 2009. – №2. – С. 18–20.
9. Майборода, А.А. Апоптоз — гены и белки / А.А. Майборода // Сибирский Медицинский журнал. – 2013. – №3. – С.130-135.
10. Азова, М.М. Активность каспазы 3 и каспазы 8 в клетках миокарда правого желудочка при экспериментальной артериальной гипертензии / М.М. Азова // Вестник Российского университета дружбы народов. – 2011. – №4. – С.44-47.
11. Гипоксическое прекондиционирование – феномен, обеспечивающий повышение толерантности кардиомиоцитов к гипоксии/реоксигенации / Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов, Ф.З. Колар и др. // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2010. – №12. – С.212-219.
12. Швед, И.А. Апоптоз кардиомиоцитов как крайнее проявление регенераторно-пластической недостаточности миокарда /И.А. Швед, Т.Э. Владимирская, Д.Е. Семенов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – №9. – С.336-341.
13. Возможная роль апоптоза в возникновении аритмий у больных с пароксизмальными тахикардиями / Л.А. Бокерия, Н.Н. Бескровнова, В.Г. Цыпленкова и др. // Кардиология. – 1995. – №10. – С.52- 56.
14. Хлапов, А.П. Роль апоптоза кардиомиоцитов в механизмах ишемического ремоделирования миокарда / А.П. Хлапов, Ю.Ю. Вечерский, Н.В. Рязанцева // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. – №3. – С. 33-38.
15. Ушаков, А.В. Апоптоз кардиомиоцитов в патогенезе острого инфаркта миокарда и постинфарктного ремоделирования сердца у больных сахарным диабетом / А.В. Ушаков, М.В. Рассел, А.Б. Борисов // Международный медицинский журнал. – 2006. – №1. – С. 6-10.
16. Бершова, Т.В. Патогенетическое значение апоптоза кардиомиоцитов при сердечной недостаточности /Т.В. Бершова, С.В. Монаенкова, А.Г. Гасанов // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2009. – №5. – С. 147-153.

17. Апоптоз кардиомиоцитов в развитии ишемической болезни сердца у кардиохирургических больных / А.П. Хлапов, Ю.Ю. Вечерский, В.М. Шипулин // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2008. – №1. – С. 21-28.