

# ОСОБЕННОСТЬ ВЛИЯНИЯ ПРИ ПОСТИНФАРКТНОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ АНГИОТЕНЗИНА II И ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 НА ЭКСПРЕССИЮ БЕЛКА $CCN_1$ И АКТИВНОСТЬ ЕГО ГЕНА В МИОКАРДЕ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА СЕРДЦА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

С.Н. Литвинович

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

*На 8-недельных лабораторных мышах изучено влияние при постинфарктной сердечной недостаточности ангиотензина II (АГ-II) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) на экспрессию белка  $CCN_1$  и активность его гена в миокарде левого желудочка сердца в эксперименте. Установлено, что при постинфарктной сердечной недостаточности ангиотензин II в 2,7 раза ( $p < 0,005$ ) увеличивает экспрессию белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах экспериментальных животных, не влияя на активность гена белка  $CCN_1$ . В то же время, интерлейкин-6 не оказывает своего влияния как на экспрессию белка  $CCN_1$ , так и на активность гена белка  $CCN_1$ . При постинфарктной сердечной недостаточности антагонист рецептора  $AT_1$  – телмисартан – приводит к уменьшению экспрессии белка  $CCN_1$  в 2,7 раза ( $p < 0,005$ ), не влияя на активность гена белка  $CCN_1$  в миокарде левого желудочка и увеличивает сократительную способность миокарда левого желудочка сердца на 26,3% ( $p < 0,05$ ) у экспериментальных животных.*

**Ключевые слова:** постинфарктная сердечная недостаточность, эксперимент, ангиотензин II, интерлейкин-6, телмисартан, белок  $CCN_1$ , ген белка  $CCN_1$ , кардиомиоцит.

*The experimental effect of angiotensin II and interleukin-6 on protein  $CCN_1$  expression and its gene activity in the myocardium of the left cardiac ventricle was studied on 8-week laboratory mice. It has been established that in post infarction cardiac insufficiency angiotensin II increases protein  $CCN_1$  expression in cardiomyocytes 2,7-fold ( $p < 0,005$ ) and does not affect the activity of its gene. At the same time interleukin-6 does not affect either protein  $CCN_1$  expression or the activity of gene in the protein under discussion. In post infarction cardiac insufficiency telmisartan leads to the decrease in protein  $CCN_1$  expression 2,7-fold ( $p < 0,005$ ) without any effect on the gene activity of  $CCN_1$  protein and increases the contractile capacity of the myocardium of the left ventricle of the heart by 26.3% ( $p < 0,05$ ) in the experimental animals.*

**Key words:** post infarction cardiac insufficiency, experiment, angiotensin II, interleukin-6, telmisartan, protein  $CCN_1$ , protein  $CCN_1$  gene, cardiomyocyte.

## Введение

Одной из важных проблем здравоохранения Республики Беларусь является профилактика факторов риска, вызывающих ишемию тканей. Данной патологии подвержены любые органы, в том числе мозг и сердце, и её развитие приводит к острой ишемии с гибелью тканей или к длительной гипоксии с дегенеративными изменениями. В последние годы учёными всё больше внимания уделяется профилактике подобных осложнений путём индукции роста сосудов, доставляющих кровь к поражённому участку [4]. В связи с этим остается весьма актуальной разработкой альтернативных методов улучшения кровоснабжения ишемизированных тканей.

Терапевтический ангиогенез, который нередко называют биологическим шунтированием, представляет собой новую тактику улучшения перфузии ишемизированных тканей путём усиления естественных, но недостаточных процессов неоваскуляризации. Разработке данной лечебной тактики способствовало развитие современных представлений о молекулярных и клеточных механизмах регуляции роста и ремоделирования кровеносных сосудов. Толчок к интенсивному исследованию этих механизмов был дан Джоном Фолкманом, предложившим гипотезу о том, что прогрессирующее развитие злокачественных опухолей зависит от их васкуляризации [6]. Рост и образование сосудов в постнатальном периоде развития организма осуществляется через ангиогенез, артериогенез и васкулогенез.

Причастность иммунной системы к патогенезу хронической сердечной недостаточности (ХСН) лишь на первый взгляд может показаться сомнительной. Однако иммунная защита организма активируется не только при

взаимодействии с инфекционными агентами, но и при ишемии, гемодинамической перегрузке и других воздействиях на сердце, являющихся причиной развития диастолической и (или) систолической дисфункции. Патогенетическая роль провоспалительных цитокинов при ХСН в настоящее время является предметом специальных исследований [1]. Молекулярные механизмы, лежащие в основе цитокининдуцируемого нарушения сократительной способности и ремоделирования миокарда, до конца не определены [2].

CYR 61 (ангиогенный протеин, богатый цистеином) представляет собой белок, выделяемый во внеклеточное пространство, и посредством интегринов влияющий на процессы ангиогенеза и заживления [9]. CYR 61 принадлежит к группе белков  $CCN$ , название его происходит от первых букв сокращенных названий трёх ранее открытых представителей этих белков: CYR 61, CTGF (Connective Tissue Growth Factor), NOV (Nephroblastoma Overexpressed). В его состав входят также белки WISP 1, 2, 3. Характеризуются они близким строением (за исключением WISP 2, который состоит из 4 модулей), а также большим содержанием цистеина (до 10% молекулярной массы). С учётом многочисленных исследований и разнообразия названий, в 2003 году были опубликованы новые данные, касающиеся номенклатуры белков этого семейства [8]. Упорядочены названия в порядке открытия, определены номера от 1 до 6 под общим названием –  $CCN$ . Таким образом, белок CYR 61 получил название  $CCN_1$ .

Цепь про- $CCN_1$  состоит из 421 аминокислоты. После принятия третичной структуры и удаления сигнального пептида остаточная длина цепи  $CCN_1$  составляет 381 ос-

таток аминокислот (в том числе 38) – цистеина, с общей массой 42026,5 Дальтона. Изоэлектрическая точка этого белка составляет 8,0.

Таким образом, CCN<sub>1</sub> является белком, выделяемым во внеклеточное пространство, связывающим белки, протеоглики матрикса и действующим на клетки посредством интегринов [9]. Его секреция происходит в течение 15-20 минут от начала трансляции [5].

Ген CCN<sub>1</sub> был открыт в 1985 году в качестве «immediate early gene», который подвергается экспрессии во время перехода мышшиных фибробластов с фазы G0 к G1 под влиянием ростовых факторов [7]. Ген CCN<sub>1</sub> имеет длину около 3 тысяч пар оснований, состоит из 5 экзонов, отделённых 4 короткими интронами. У человека он находится на коротком плече первой хромосомы, а его локус обозначен как 1p22.3-p31 [3]. Мышиный аналог этого гена находится на 3 хромосоме, в области, аналогичной короткому плечу 1 хромосомы человека. У взрослых особей наибольшая экспрессия CCN<sub>1</sub> наблюдается в лёгких, потом в селезёнке, сердце и печени [5].

Особенность гена CCN<sub>1</sub> свидетельствует о существенной его роли в ключевых процессах выживания, таких как эмбриогенез или межклеточная передача сигналов. Ген CCN<sub>1</sub> содержит последовательности, близкие, к двум генам плодовой мухи (short gastrulation and twisted gastrulation), эти два гена необходимы для процессов эмбриогенеза, обуславливающих правильное вентрально-дорзальное ориентирование зародыша.

Существуют доказательства, что CCN<sub>1</sub> является белком, индуцированным в результате реакции на повреждение ткани или стрессовый раздражитель. Однако пути внутриклеточной передачи, связанные с данным процессом, зависят от типа клеток или типа действующего раздражителя. Глубокое изучение такой регуляции дает возможность для разработки вещества, выборочно тормозящего или стимулирующего экспрессию CCN<sub>1</sub> в определённых тканях. Однако всё ещё остаётся много неизвестного в протекании данных процессов, что исключает возможность безопасного в них вмешательства.

**Целью** нашего исследования явилось изучение при постинфарктной сердечной недостаточности особенностей влияния ангиотензина II и интерлейкина-6 на экспрессию белка CCN<sub>1</sub> и активность его гена в миокарде левого желудочка сердца в эксперименте.

### Материалы и методы

Экспериментальные исследования проводились на чёрных 8-недельных лабораторных мышках, которые были разделены на следующие группы:

1 группа – 12 самцов мышей C57BL6/J, у которых выполнена операция без перевязки передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии (КОНТРОЛЬ C57BL6/J);

2 группа – 9 самцов мышей C57BL6/J, у которых произведена перевязка передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии (ИМ C57BL6/J);

3 группа – 10 самцов мышей, с отсутствующим у них геном ИЛ-6 C57BL6 IL-6<sup>-/-</sup><sub>TMKopf</sub> и выполненной операцией без перевязки передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии (КОНТРОЛЬ C57BL6 IL-6<sup>-/-</sup><sub>TMKopf</sub>);

4 группа – 14 самцов мышей с отсутствием гена ИЛ-6 C57BL6 IL-6<sup>-/-</sup><sub>TMKopf</sub> и произведенной перевязкой передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии (ИМ C57BL6 IL-6<sup>-/-</sup><sub>TMKopf</sub>);

5 группа – 15 самцов мышей C57BL6/J, у которых была перевязана передняя межжелудочковая ветвь левой венечной артерии и в течение последующих 8 недель получавшие антагонист рецептора AT<sub>1</sub> – телмисартан,

растворённый в воде для питья в дозе 1 мг/кг массы тела (ИМ C57BL6/J+TEL).

Экспериментальные исследования проводились со строгим соблюдением требований Европейской конвенции (Страсбург, 1986) по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными, а также выводу их из эксперимента и последующей утилизацией.

Операции проводились под 1,5% изофлюрановым наркозом. Животное фиксировалось на спине с ротацией вправо, что предназначалось для лучшей экспозиции сердца и левого желудочка. Операция выполнялась на операционном столе при температуре 37°C. Торакотомия проводилась в 5 левом межреберье. После вскрытия грудной клетки и перикарда осуществлялась перевязка передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии под микроскопом проленом № 6.0 атравматической иглой. Шов проходил под артерией на расстоянии 1-3 мм от верхушки нормально расположенного ушка левого предсердия. Факт перевязки данной артерии подтверждался изменением интенсивности окраски миокарда ниже места перевязки, а также видимым нарушением сократимости миокарда левого желудочка. Сердечная венозная сеть сердца определялась и не наблюдалось закупорки вен при указанных манипуляциях. Грудную клетку зашивали проленом с репозицией мышц, а кожу – при помощи кетгута. В последующем экспериментальное животное помещалось в клетки со столиком-инкубатором, который поддерживал постоянную температуру 37°C, на 2 часа. Антибиотики в процессе эксперимента не назначались. Раны заживали без явно выраженной инфекции, что подтверждалось в последующем при аутопсии. Животные выводились из опыта путем декапитации через 8 недель.

Проведено генотипирование, которое позволило подтвердить наличие или отсутствие функционального гена интерлейкина-6 у экспериментальных животных. Для определения экспрессии белка CCN<sub>1</sub> в сердце применялись методы Вестерн Блоттинга и иммуногистохимический. Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени оценена активность гена белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах левого желудочка. Для статистической обработки результатов исследования была создана база данных в программе Microsoft Office Excel 2010. Данные обрабатывались непараметрическими методами с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 8.0. Количественные данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (между 25 и 75 процентилем). Для оценки значимости различий количественных параметров между двумя независимыми выборками использован критерий Манна-Уитни. Уровень  $p < 0,05$  принимался за статистически значимый.

### Результаты исследования

Непосредственно перед выведением животных из эксперимента была произведена эхокардиография из левого парастерального доступа в М-режиме у животных во всех группах с перевязанной межжелудочковой ветвью левой венечной артерии при помощи ультразвукового сканера Medical Systems Vivid 7 и датчика 12 МГц фирмы General Electric, США под перитонеальным наркозом с применением растворов кетамина и ксилазина в дозах, соответственно, 120 мг/кг и 3 мг/кг массы тела. Оценена в см<sup>2</sup> площадь рубцовой ткани на участке инфаркта. Результаты представлены на рисунке 1.

Как следует из рисунка 1, в трёх группах экспериментальных животных (ИМ C57BL6/J), (ИМ C57BL6/J+TEL), а также в группе (ИМ C57BL6 IL-6<sup>-/-</sup><sub>TMKopf</sub>) с произведенной перевязкой передней межжелудочковой ветвью ле-

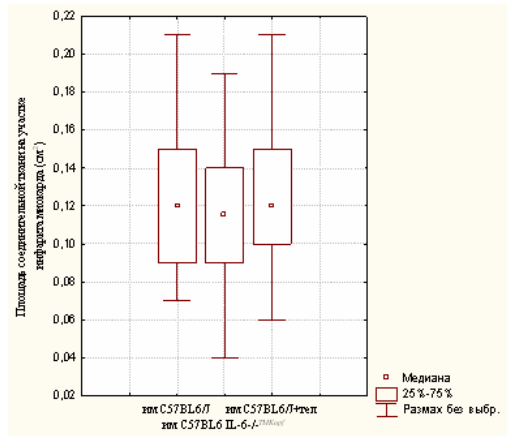
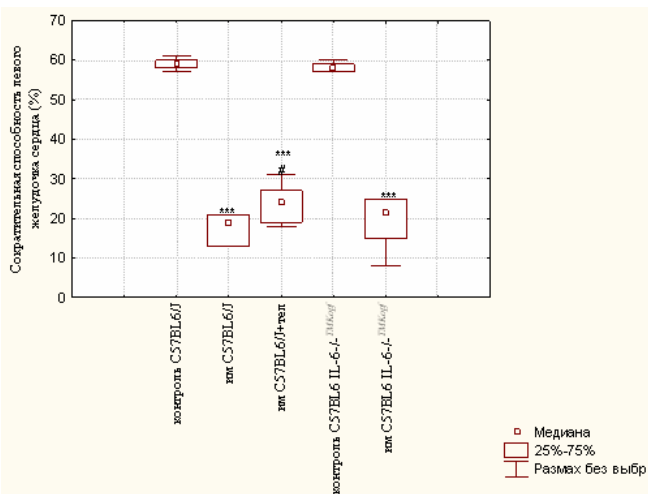


Рисунок 1 – Площадь соединительной ткани на участке инфаркта миокарда

вой венечной артерии, размер площади соединительной ткани на участке инфаркта миокарда был схожим. Так, в группе экспериментальных животных с наличием гена ИЛ-6 и произведенной перевязкой передней межжелудочковой ветвью левой венечной артерии (ИМ C57BL6/J) площадь рубцовой ткани на участке инфаркта миокарда составила 0,12 [0,09-0,15] см<sup>2</sup>. Аналогичные данные наблюдались и в группе экспериментальных животных с отсутствием гена ИЛ-6 (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>) – 0,115 [0,09-0,14] см<sup>2</sup>. В группе экспериментальных животных с перевязанной передней межжелудочковой ветвью левой венечной артерии, которые в течение последующих 8 недель получали антагонист рецептора АТ<sub>1</sub> – телмисартан, тем самым ограничивая воздействие на клетку АГ-II (ИМ C57BL6/J + ТЕЛ), площадь рубцовой ткани на участке инфаркта миокарда составила 0,12 [0,10-0,15] см<sup>2</sup>. Достоверных различий в площади рубцовой ткани на участке инфаркта миокарда в группах экспериментальных животных не выявлено.

Для установления нарушения сократительной способности левого желудочка сердца по короткой оси определялся показатель соотношения между конечной систолической и конечной диастолической площадью левого желудочка сердца. Данные исследования представлены на рисунке 2.



\*\*\* отличие от группы контроля C57BL6/J  $p < 0,0005$ ;  
+++ отличие от группы контроля C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>  $p < 0,0005$ ;

# отличие от группы ИМ C57BL6/J  $p < 0,05$ .

Рисунок 2 – Показатель сократительной способности левого желудочка сердца

Как видно из рисунка 2, показатель соотношения между конечной систолической и конечной диастолической площадью левого желудочка сердца у трёх групп экспериментальных животных, которым произведена перевязка передней межжелудочковой ветви левой венечной артерии, был схожим и составлял: в группе экспериментальных животных с наличием у них гена ИЛ-6 (ИМ C57BL6/J) – 19,0 [13,0-21,0]%, в группе экспериментальных животных, которые после перевязки вышеназванной артерии в течение последующих 8 недель получали антагонист рецептора АТ<sub>1</sub> – телмисартан (ИМ C57BL6/J+ТЕЛ) – 24,0 [19,0-27,0]%, а в группе экспериментальных животных с отсутствием гена ИЛ-6 (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>) – 21,5 [15,0-25,0]%

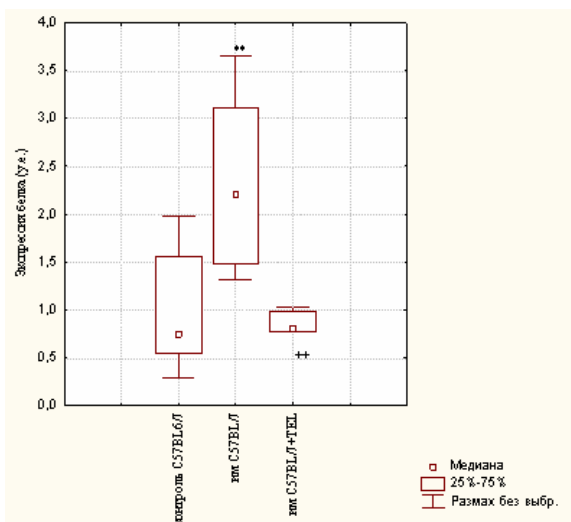
При сравнении группы животных с постинфарктной сердечной недостаточностью, которые в течение 8 недель получали антагонист рецептора АТ<sub>1</sub> – телмисартан (ИМ C57BL6/J+ТЕЛ), произошло увеличение показателя сократительной способности левого желудочка сердца на 26,3% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с аналогичной экспериментальной группой животных, не получавших препарат. Достоверных различий в показателе сократительной способности левого желудочка сердца между группами экспериментальных животных как с наличием (ИМ C57BL6/J), так и с отсутствием гена ИЛ-6 (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>) не наблюдалось.

При сравнении экспериментальной (ИМ C57BL6/J) группы животных с контрольной (КОНТРОЛЬ C57BL6/J) отмечено снижение показателя соотношения между конечной систолической и конечной диастолической площадью левого желудочка сердца в 3,1 раза ( $p < 0,0005$ ). В группе экспериментальных животных, получавших телмисартан (ИМ C57BL6/J+ТЕЛ), искомый показатель снизился в 2,4 раза ( $p < 0,0005$ ) по сравнению с контрольной (КОНТРОЛЬ C57BL6/J) группой. Кроме того, в 2,7 раза ( $p < 0,0005$ ) произошло снижение вышеназванного показателя в группе экспериментальных животных с отсутствием гена ИЛ-6 (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>) по сравнению с контрольной группой животных аналогичного генотипа (КОНТРОЛЬ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>). При сравнении контрольных групп животных достоверных различий не наблюдалось, поскольку искомый показатель составлял: с наличием гена ИЛ-6 (КОНТРОЛЬ C57BL6/J) – 59,0 [58,0-60,0]%, а с отсутствием гена ИЛ-6 (КОНТРОЛЬ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>) – 58,0 [57,0-59,0]%

В результате сравнения экспериментальных групп животных с произведенной у них перевязкой передней межжелудочковой ветвью левой венечной артерии и контрольных, наблюдались значительные различия в показателе сократительной способности левого желудочка сердца ( $p < 0,0005$ ), что указывает на развитие сердечной недостаточности в экспериментальных группах животных.

Методом Вестерн-Блоттинга было изучено при постинфарктной сердечной недостаточности воздействие АГ-II на экспрессию белка  $CCN_1$  в левом желудочке сердца у экспериментальных животных. Результаты исследования представлены на рисунке 3.

Как следует из рисунка 3, максимальное увеличение экспрессии белка  $CCN_1$  наблюдалось в группе экспериментальных животных с постинфарктной сердечной недостаточностью (ИМ C57BL6/J). В данной группе экспериментальных животных экспрессия белка  $CCN_1$  составила 2,21 [1,47-3,1] у.е. Так, по сравнению с контрольной группой животных (КОНТРОЛЬ C57BL6/J), где показатель экспрессии белка  $CCN_1$  был 0,75 [0,54-1,55] у.е., произошло увеличение показателя экспрессии белка  $CCN_1$  в вышеназванной экспериментальной группе животных в 2,9



\*\* отличие от группы контроль C57BL6/J  $p < 0,005$ ;  
 ++ отличие от группы ИМ C57BL6/J  $p < 0,005$ .

Рисунок 3 – Экспрессия белка CCN<sub>1</sub> в исследуемых группах

раза ( $p < 0,005$ ). Доказательством этого утверждения могут служить рисунки 4 и 5, на которых показана экспрессия белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах, определённая иммуногистохимическим методом (специфический продукт реакции имел коричневый цвет разной степени интенсивности).

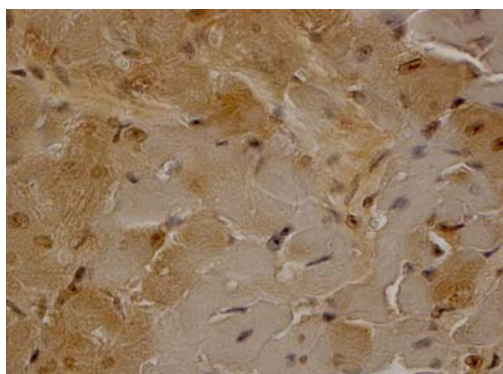


Рисунок 4 – Экспрессия белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах. Группа животных ИМ C57BL6/J. Иммунопероксидазная реакция.  $\times 400$

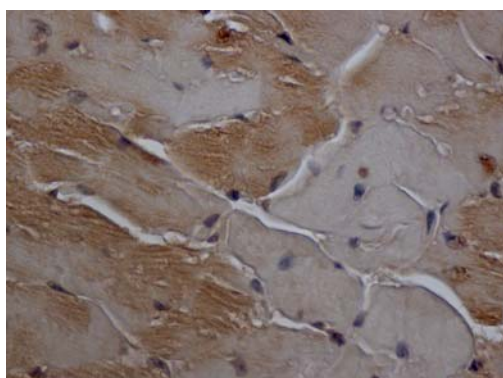


Рисунок 5 – Экспрессия белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах. Контрольная группа животных C57BL6/J. Иммунопероксидазная реакция.  $\times 400$

Анализ рисунков 4 и 5 подтверждает, что наибольшая интенсивность коричневой окраски наблюдается в груп-

пе экспериментальных животных с постинфарктной сердечной недостаточностью (ИМ C57BL6/J), что свидетельствует об увеличенной экспрессии белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах по сравнению с контрольной (КОНТРОЛЬ C57BL6/J) группой животных.

В группе экспериментальных животных с постинфарктной сердечной недостаточностью, которые в течение 8 недель получали антагонист рецептора АГ<sub>1</sub>-телмисартан (ИМ C57BL6/J+ТЕЛ), тем самым было ограничено воздействие на клетку АГ-II, экспрессия белка CCN<sub>1</sub> составила 0,81 [0,77-0,98] у.е. При сравнении вышеназванной группы с аналогичной экспериментальной группой, животные в которой не получали данный препарат (ИМ C57BL6/J), отмечалось уменьшение у них экспрессии белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах в 2,7 раза ( $p < 0,005$ ), а при сравнении с контрольной группой (КОНТРОЛЬ C57BL6/J) – искомый показатель увеличился на 8% ( $p > 0,05$ ), подтверждением чему служат рисунки 6, 4 и 5.

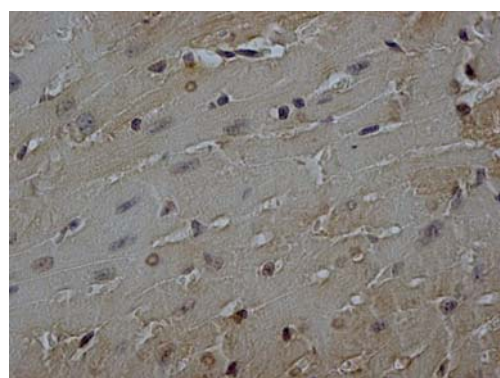


Рисунок 6 – Экспрессия белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах. Группа животных ИМ C57BL6/J+ТЕЛ. Иммунопероксидазная реакция.  $\times 400$

Анализируя приведенные выше рисунки, можно утверждать, что наибольшая интенсивность коричневой окраски, наблюдаемая в группе экспериментальных животных с постинфарктной сердечной недостаточностью (ИМ C57BL6/J), характеризует повышенную экспрессию белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах у животных данной экспериментальной группы.

Результаты исследования по экспериментальной группе животных (ИМ C57BL6/J+ТЕЛ) свидетельствуют о том, что АГ-II увеличивает в 2,7 раза ( $p < 0,005$ ) экспрессию белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах у экспериментальных животных при постинфарктной сердечной недостаточности.

Результат воздействия ИЛ-6 на экспрессию белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах при постинфарктной сердечной недостаточности представлен на рисунке 7.

В группе экспериментальных животных с отсутствием гена ИЛ-6 и развившейся постинфарктной сердечной недостаточностью (ИМ C57BL6 IL-6<sup>-/-</sup>TMKопf) экспрессия белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах составила 1,4 [1,21-2,8] у.е и практически не отличалась от контрольной группы животных (КОНТРОЛЬ C57BL6 IL-6<sup>-/-</sup>TMKопf) с аналогичным генотипом 1,27 [0,85 - 2,56] у.е.

На 36,6% ( $p > 0,05$ ) произошло снижение экспрессии белка CCN<sub>1</sub> в группе экспериментальных животных с отсутствием гена ИЛ-6 и развившейся постинфарктной сердечной недостаточностью (ИМ C57BL6 IL-6<sup>-/-</sup>TMKопf) по сравнению с аналогичной группой экспериментальных животных с наличием гена ИЛ-6 (ИМ C57BL6/J), где показатель экспрессии белка CCN<sub>1</sub> в кардиомиоцитах со-

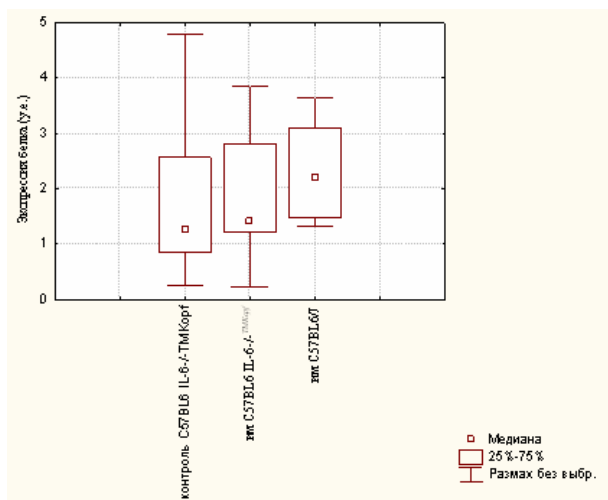


Рисунок 7 – Экспрессия белка  $CCN_1$  в исследуемых группах

ставил 2,21 [1,47-3,1] у.е. Подтверждением данному утверждению служат рисунки 8, 9 и 4, на которых показана экспрессия белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах, определённая иммуногистохимическим методом (специфический продукт реакции имеет коричневый цвет разной степени интенсивности).

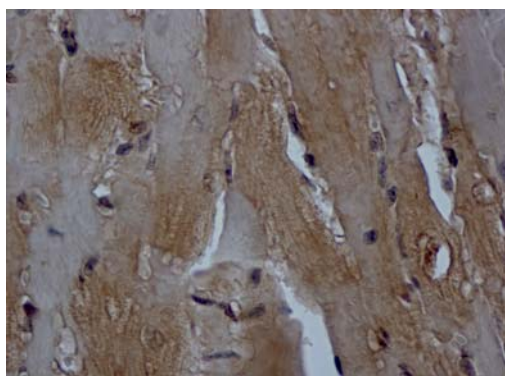


Рисунок 8 – Экспрессия белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах. Группа животных (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>). Иммунопероксидазная реакция.  $\times 400$

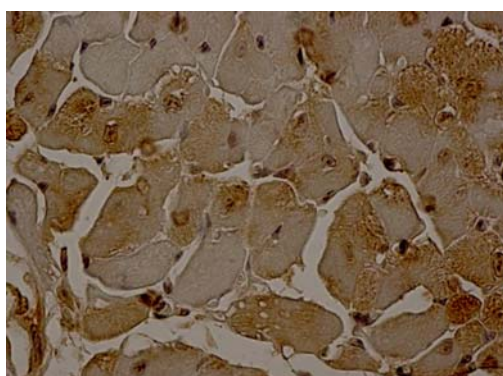


Рисунок 9 – Экспрессия белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах. Группа животных (КОНТРОЛЬ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>). Иммунопероксидазная реакция.  $\times 400$

Как следует из рисунков 8 и 9, отмечается схожая степень интенсивности коричневой окраски как в контрольной группе животных (КОНТРОЛЬ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>), так и в экспериментальной (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>)

группе. Это свидетельствует об одинаковой экспрессии белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах у животных вышеуказанных групп. При анализе рисунков 8 и 4 снижение интенсивности коричневой окраски наблюдается в группе экспериментальных животных с развившейся постинфарктной сердечной недостаточностью и отсутствием гена ИЛ-6 (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>) по сравнению с экспериментальной группой животных, у которых присутствовал ген ИЛ-6 (ИМ C57BL6/J). Это свидетельствует о том, что на основании данных иммуногистохимического метода исследования и Вестерн Блоттинга в группе экспериментальных животных с отсутствием гена ИЛ-6 и развившейся постинфарктной сердечной недостаточностью (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>) отмечается на 36,6% ( $p > 0,05$ ) снижение экспрессии белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах.

Как показали наши исследования, в контрольной группе животных (КОНТРОЛЬ C57BL6/J) активность гена белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах была на уровне 0,61 [0,47-1,36] у.е. У экспериментальных животных с постинфарктной сердечной недостаточностью (ИМ C57BL6/J) показатель активности гена белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах снизился на 9,8% ( $p > 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой животных (КОНТРОЛЬ C57BL6/J) и составил 0,55 [0,37-1,31] у.е. В группе экспериментальных животных с постинфарктной сердечной недостаточностью, которые в течение 8 недель получали антагонист рецептора  $AT_1$  – телмисартан (ИМ C57BL6/J+ТЕЛ), и тем самым ограничивалось воздействие АГ-II на клетку, отмечалось снижение активности гена белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах на 14,5% ( $p > 0,05$ ) по сравнению с аналогичной экспериментальной группой животных, не получавших данный препарат (ИМ C57BL6/J), и на 23% ( $p > 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой животных (КОНТРОЛЬ C57BL6/J). В искомой экспериментальной группе животных (ИМ C57BL6/J+ТЕЛ) показатель активности гена белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах составил 0,47 [0,4-1,29] у.е. Результаты данного исследования отражены на рисунке 10.

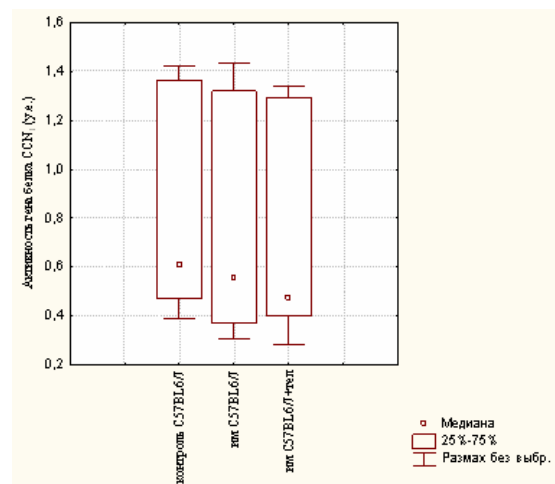


Рисунок 10 – Активность гена белка  $CCN_1$  в исследуемых группах

Результаты исследования по экспериментальной группе животных с постинфарктной сердечной недостаточностью, которые в течение 8 недель получали антагонист рецептора  $AT_1$  – телмисартан (ИМ C57BL6/J+ТЕЛ) – свидетельствуют о том, что АГ-II приводит к увеличению активности гена белка  $CCN_1$  на 14,5% ( $p > 0,05$ ).

В группе экспериментальных животных с отсутствием гена ИЛ-6 и развившейся постинфарктной сердечной недостаточностью (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>) активность

гена белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах составила 0,53 [0,45-1,08] у.е., а в контрольной группе животных (КОНТРОЛЬ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>) с аналогичным генотипом – 0,42 [0,34-0,61] у.е.

В то же время, у экспериментальных животных с постинфарктной сердечной недостаточностью (ИМ C57BL6/J) показатель активности гена белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах имел значение 0,55 [0,37-1,31] у.е.

Как видно из рисунка 11, в группе экспериментальных животных с отсутствием гена ИЛ-6 и развившейся постинфарктной сердечной недостаточностью (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>) произошло увеличение активности гена белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах на 26,1% ( $p > 0,05$ ) при сравнении с контрольной группой животных, у которых отсутствовал ген ИЛ-6 (КОНТРОЛЬ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>).

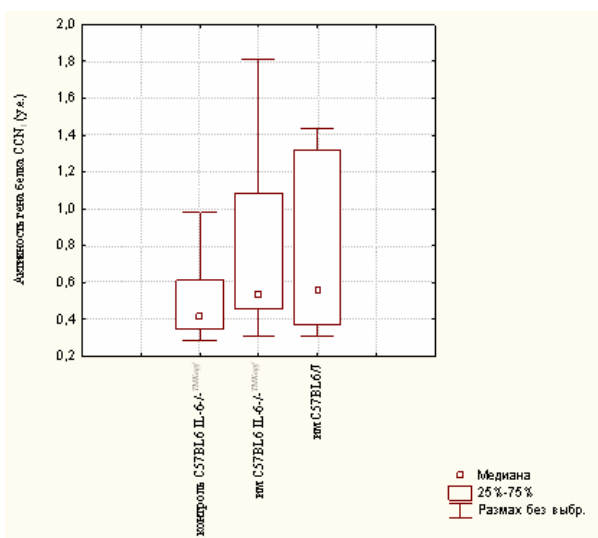


Рисунок 11 – Активность гена белка  $CCN_1$  в исследуемых группах

При сравнении групп экспериментальных животных с развившейся постинфарктной сердечной недостаточностью как с отсутствием гена ИЛ-6 (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>), так и с его наличием (ИМ C57BL6/J) значимых различий в показателе активности гена белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах не наблюдалось. Поскольку значение активности гена белка  $CCN_1$  в экспериментальной группе (ИМ C57BL6 IL-6-/-<sup>TMKorf</sup>) составило 0,53 [0,45-1,08] у.е., а в группе (ИМ C57BL6/J) – 0,55 [0,37-1,31] у.е., очевидно, что ИЛ-

6 не оказывает своего влияния на активность гена белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах у экспериментальных животных при постинфарктной сердечной недостаточности.

### Выводы

При постинфарктной сердечной недостаточности ангиотензин II в 2,7 раза ( $p < 0,005$ ) приводит к увеличению экспрессии белка  $CCN_1$  в кардиомиоцитах, не влияя на активность гена искомого белка у экспериментальных животных.

Интерлейкин-6 при постинфарктной сердечной недостаточности не оказывал своего влияния как на экспрессию белка  $CCN_1$ , так и на активность гена белка  $CCN_1$  в миокарде левого желудочка сердца у экспериментальных животных.

При постинфарктной сердечной недостаточности антагонист рецептора  $AT_1$  – телмисартан – приводит к уменьшению экспрессии белка  $CCN_1$  в 2,7 раза ( $p < 0,005$ ), не влияя на активность гена белка  $CCN_1$  в миокарде левого желудочка и увеличивает сократительную способность миокарда левого желудочка сердца на 26,3% ( $p < 0,05$ ) у экспериментальных животных.

### Литература

1. Беленков, Ю.Н. Нейрогормоны и цитокины при сердечной недостаточности: новая теория старого заболевания? / Ю.Н. Беленков, Ф.Т. Агеев, В.Ю. Мареев // Сердечная недостаточность. – 2000. – № 4. – С. 135–138.
2. Иммунопатология застойной сердечной недостаточности: роль цитокинов / Е.Л. Насонов [и др.] // Кардиология. – 1999. – № 3. – С. 66–73.
3. Chromosomal mapping and expression of the human cyr61 gene in tumour cells from the nervous system / C. Martinierie [et al.] // Mol. Pathol. – 1987. – Vol. 50. – P. 310–316.
4. Clinician guide to angiogenesis / N.P. Fam [et al.] // Circulation. – 2003. – Vol. 108. – P. 2613–2618.
5. Expression of CYR61, a growth factor-inducible immediate-early gene / T.P. O'Brien [et al.] // Mol. Cell. Biol. – 1990. – Vol. 10. – P. 3569–3577.
6. Folkman, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications / J. Folkman // N. Engl. J. Med. – 1971. – Vol. 285 – P. 1182–1186.
7. Lau, L.F. Identification of a set of genes expressed during the G0/G1 transition of cultured mouse cells / L.F. Lau, D. Nathans // Embo. J. – 1985. – Vol. 4. – P. 3145–3151.
8. Proposal for a unified CCN nomenclature / D.R. Brigstock [et al.] // Mol. Pathol. – 2003. – Vol. 56. – P. 127–128.
9. Yang, G.P. Cyr61, product of a growth factor-inducible immediate early gene, is associated with the extracellular matrix and the cell surface / G.P. Yang, L.F. Lau // Cell Growth Differ. – 1991. – Vol. 2. – P. 351–357.

Поступила 26.01.2012