

---

# АКТИВНОСТЬ КАСПАЗЫ 3 И КАСПАЗЫ 8 В КЛЕТКАХ МИОКАРДА ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ\*

**М.М. Азова**

Кафедра биологии и общей генетики  
Российский университет дружбы народов  
*ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198*

**М.Л. Благонравов, В.А. Фролов**

Кафедра общей патологии и патологической физиологии  
Российский университет дружбы народов  
*ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198*

Исследована активность каспазы 3 и каспазы 8 в клетках миокарда правого желудочка сердца кроликов с экспериментальной артериальной гипертензией (АГ). Обнаружено достоверное повышение активности каспазы 3 через 2 и 4 недели после моделирования АГ. Полученные результаты свидетельствуют об усилении апоптотической гибели клеток миокарда правого желудочка при экспериментальной артериальной гипертензии. Статистически незначимое повышение активности каспазы 8 указывает на преобладание внутриклеточного апоптотического сигнала.

**Ключевые слова:** апоптоз, каспаза, миокард, артериальная гипертензия.

Артериальная гипертензия (АГ) является одним из наиболее распространенных патологических процессов сердечно-сосудистой системы. Будучи органом-мишенью, поражаемым при стойком повышении артериального давления, сердце подвергается настолько выраженным морфологическим и функциональным изменениям, что в научной литературе прочно закрепился термин «гипертоническое сердце». В формировании хронической сердечной недостаточности участвует ряд механизмов, одним из которых является апоптотическая гибель кардиомиоцитов, чем обусловлен существенно возросший в последнее время интерес к изучению программированной гибели клеток миокарда при артериальной гипертензии [1, 5, 7, 8]. Однако в большинстве работ, посвященных изучению сердца при гипертонической болезни, делается акцент на исследование левого желудочка, хотя в эксперименте было показано, что при перегрузке левого желудочка правый желудочек вовлекается в процесс немедленно и в дальнейшем определяет динамику функции сердца [2, 3]. Таким образом, вопрос об интенсивности и механизмах апоптоза кардиомиоцитов правого желудочка сердца в динамике АГ остается малоизученным, в связи с чем целью данной работы стало исследование активности проапоптотических ферментов (каспазы 3 и каспазы 8) в миокарде правого желудочка при экспериментальной артериальной гипертензии.

**Материал и методы исследования.** Эксперименты проводились на 25 самцах кроликов породы шиншилла массой 2,4—2,7 кг. Животные были разделены

---

\* Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 гг.

на 4 группы — контрольную ( $n = 6$ ), с 1-недельной АГ ( $n = 6$ ), с 2-недельной АГ ( $n = 6$ ), с 4-недельной АГ ( $n = 7$ ). Кроликам опытных групп моделировали вазоренальную АГ по Голдблатт путем сужения брюшной аорты на  $\frac{1}{3}$  от исходного диаметра над местом отхождения от нее почечных артерий. В соответствующие сроки исследования животным вскрывали грудную клетку и производили экстирпацию сердца. Все описанные манипуляции проводились под общим обезболиванием.

Ткань желудочков сердца кроликов измельчали в гомогенизаторе WiseTis серии HG-15 с ротором 8 мм при скорости 4500 об/мин. Для этого использовали среду выделения (20 мМ HEPES, pH 7,5, 10 мМ KCl, 1,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ ДТТ), к которой добавляли коктейль ингибиторов протеаз (10<sup>4</sup> мМ AEBSF, 0,08 мМ апротинин, 1,5 мМ пепстатин А, 2 мМ лейпептин, 4 мМ бестатин, 1,4 мМ E-64) в соотношении 100 : 1 (все реактивы были произведены фирмой «Sigma», США). Гомогенаты центрифугировали при 15 000 g в течение 30 мин. при 4 °C и полученные супернатанты использовали для оценки активности каспазы 3 и каспазы 8. Активность ферментов определяли колориметрическим методом по скорости расщепления синтетического субстрата с помощью наборов «Caspase 3 Assay Kit, Colorimetric» и «Caspase 8 Assay Kit, Colorimetric» фирмы «Sigma». Оптическую плотность регистрировали на ИФА-ридере Sunrise (Tecan) при длине волны 405 нм. Исследования проводились на оборудовании Центра коллективного пользования (НОЦ) РУДН.

**Результаты и обсуждение.** В нижеприведенной таблице представлены данные, полученные при исследовании активности каспазы 3 и каспазы 8 в миокарде правого желудочка (ПЖ) сердца кроликов контрольной и опытных групп.

Таблица

**Активность каспаз в миокарде правого желудочка сердца кроликов при вазоренальной артериальной гипертензии (M ± m)**

Показатель	Контроль	1-недельная АГ	2-недельная АГ	4-недельная АГ
Каспаза 3, нмоль/мин./мл	0,16 ± 0,02	0,18 ± 0,03	0,21 ± 0,01*	0,26 ± 0,04*
Каспаза 8, нмоль/мин./мл	0,73 ± 0,07	—	—	0,90 ± 0,07

Примечание: \* — показатель достоверно отличается от контроля при  $p \leq 0,05$ .

Активность каспазы 3 достоверно увеличивалась через 2 недели после моделирования артериальной гипертензии и сохранялась на том же уровне с некоторой тенденцией к повышению вплоть до четырехнедельного срока. Полученные результаты свидетельствуют о том, что хроническая перегрузка левого желудочка сердца, вызванная вазоренальной артериальной гипертензией, усиливает апоптотическую гибель клеток миокарда в правом желудочке, что подтверждает данные о раннем вовлечении ПЖ в патологический процесс. Таким образом, определение активности каспазы 3 позволяет нам установить сам факт апоптоза и его интенсивность. Помимо примененного нами биохимического исследования, возможно использование с этой же целью морфологических методов, или TUNEL. Однако

преимуществом биохимического метода является возможность определения путей инициации клеточной гибели. Как известно, механизмы активации капаз, к которым относится и каспаза 3, могут быть различными. Возможны рецепторный (внешний), реализующийся, как правило, с участием каспазы 8, и митохондриальный (внутренний) пути запуска каспазного каскада [4, 6, 9].

С целью выявления способа инициации апоптоза нами была изучена активность каспазы 8 в миокарде кроликов с 4-недельной АГ, так как именно на этом сроке достигала максимальных значений активность каспазы 3. Как видно из таблицы, была выявлена выраженная тенденция к росту активности данного фермента, но отличие от контроля оказалось недостоверным. Полученный результат позволяет предположить, что митохондриальный путь активации каспаз, обусловленный внутриклеточными факторами, выступает доминирующим механизмом запуска запрограммированной гибели клеток миокарда ПЖ при вазоренальной артериальной гипертензии. Однако наблюдавшаяся тенденция к увеличению активности каспазы 8 не позволяет полностью исключить вероятность участия в этом процессе внешнего апоптогенного сигнала.

Полученные нами данные и работы других исследователей [5, 7, 9] указывают на необходимость дальнейшего изучения конкретных факторов, инициирующих апоптоз кардиомиоцитов, и возможностей регуляции этого процесса с целью предотвращения развития хронической сердечной недостаточности при артериальной гипертензии.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Бершова Т.В., Монаенкова С.В., Гасанов А.Г. Патогенетическое значение апоптоза кардиомиоцитов при сердечной недостаточности // Педиатрия. — 2009. — Т. 88. — № 1. — С. 147—154.
- [2] Фролов В.А., Дроздова Г.А., Казанская Т.А. Правый желудочек сердца при гемодинамической перегрузке левого // Пат. физиол. и эксп. тер. — 1995. — № 3. — С. 26—31.
- [3] Фролов В.А., Дроздова Г.А., Мустяца В.Ф., Благодеров М.Л. Гипотензивная терапия и сердце: Монография. — М.: РУДН, 2009. — 292 с.
- [4] Ashkenasi A., Dixit V.M. Death receptors: signaling and modulation // Science. — 1998. — № 281. — P. 1305—1308.
- [5] Diez J., Panizo A., Hernandez M. et al. Cardiomyocyte apoptosis and cardiac angiotensin-converting enzyme in spontaneously hypertensive rats // Hypertension. — 1997. — № 30. — P. 1029—1034.
- [6] Ferri K.F., Kroemer G. Organelle-specific initiation of cell death pathways // Nat. Cell. Biol. — 2001. — № 3. — P. 255—263.
- [7] Fortuno M.A., Ravassa S., Fortuno A. et al. Cardiomyocyte apoptotic cell death in arterial hypertension. Mechanisms and potential management // Hypertension. — 2001. — № 38. — P. 1406—1412.
- [8] Gonzalez A., Fortuno M.A., Ravassa S. et al. Cardiomyocyte apoptosis in hypertensive cardiomyopathy // Cardiovasc. Res. — 2003. — № 59. — P. 549—562.
- [9] Kroemer G., Reed J.C. Mitochondrial control of cell death // Nature Med. — 2000. — № 6. — P. 513—519.

## **CASPASE-3 AND CASPASE-8 ACTIVITY IN RIGHT VENTRICULAR MYOCARDIAL CELLS IN EXPERIMENTAL ARTERIAL HYPERTENSION**

**M.M. Azova**

Department of Biology and General Genetics  
Peoples' Friendship University of Russia  
*Miklukho-Maklay str., 8, Moscow, Russia, 117198*

**M.L. Blagonravov, V.A. Frolov**

Department of General Pathology and Pathological Physiology  
Peoples' Friendship University of Russia  
*Miklukho-Maklay str., 8, Moscow, Russia, 117198*

Caspase-3 and caspase-8 activity in right ventricular myocardial cells of rabbits with experimental arterial hypertension (AH) was investigated. Caspase-3 activity significantly increased at 2 and 4 weeks after modeling of AH. Obtained data demonstrated increased apoptosis in right ventricular myocardial cells in experimental arterial hypertension. Absence of significant increasing of caspase-8 activity indicates the predominance of intrinsic apoptogenic signals.

**Key words:** apoptosis, caspase, myocardium, arterial hypertension.