Регенерация миокарда у больных с сердечной недостаточностью и механической поддержкой

Малышев Д.Р., Дементьева И.И.

Научный руководитель: Халепо О.В.—к.м.н., доцент, заведующая кафедры патологической физиологии

Смоленский государственный медицинский университет

Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28.

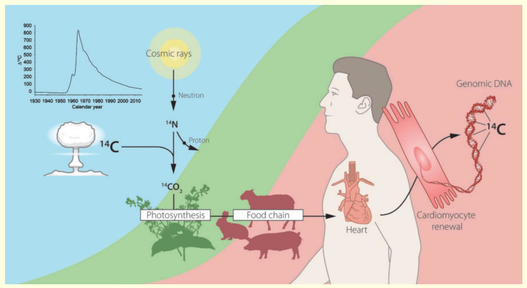
Повышение обновления клеток миокарда при сердечной недостаточности.

Кардиомиоциты в сердце взрослого человека характеризуются очень низкой скоростью обновления и повышенным уровнем плоидности, поэтому сердце взрослого человека обладает незначительной способностью к регенерации в отличие от сердец новорожденных. Метаболические потребности сердца взрослого человека удовлетворяются за счет высокой численности и активности митохондрий, что, как предполагается, является пусковым механизмом для полиплоидии кардиомиоцитов и выхода их из клеточного цикла. В больном сердце происходит постепенная гибель клеток, что увеличивает нагрузку на оставшиеся кардиомиоциты. Механическая разгрузка больного сердца путем имплантации вспомогательного устройства левого желудочка (LVAD) может облегчить эту нагрузку. Предыдущие исследования показали снижение полиплоидии кардиомиоцитов и увеличение их пролиферации при использовании LVAD, но степень этих процессов остается спорной.

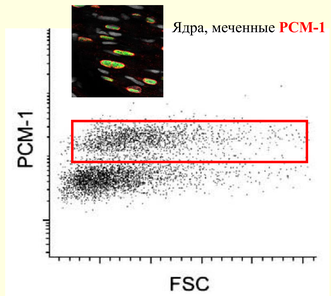
Цель: Определить степень обновления кардиомиоцитов в больном и механически поддерживаемом сердце человека с использованием радиоуглеродного анализа.

Методика: Ретроспективное радиоуглеродное (^{14}C) датирование кардиомиоцитов

A.

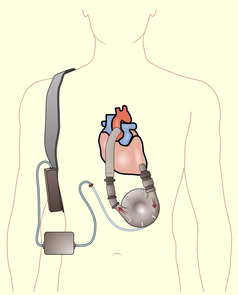


B.



A. Ретроспективное радиоуглеродное (14C) датирование человеческих клеток в сердце. Хотя 14C естественным образом образуется в атмосфере, надземные ядерные испытания внесли значительный вклад в его уровень в окружающей среде. В атмосфере 14C реагирует с кислородом, образуя CO2, который затем попадает в растения в процессе фотосинтеза. Углерод, содержащийся в растениях, поступает в организм человека через пищу таким образом, что уровень 14C в тканях отражает концентрацию 14C в атмосфере. При каждом делении клетки 14C встраивается во вновь синтезированную ДНК в количестве, пропорциональном атмосферному уровню в любой момент времени. Благодаря стабильности ядерной ДНК, геномная концентрация 14C может быть использована для определения возраста кардиомиоцитов человека.

B. Данная стратегия анализа кардиомиоцитов основана на выделении ядер из образцов сердца, из которых ядра КМ сортируются с использованием специфического для КМ маркера (PCM1).



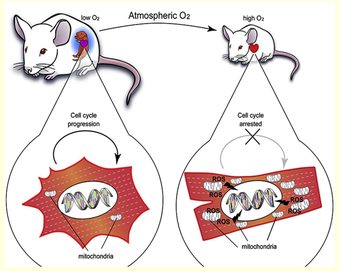
Left Ventricular Assist Device (LVAD)

- Для лечения конечной стадии сердечной недостаточности
- Поддерживающая терапия до пересадки сердца
- Облегчает нагрузку на сердце
- Иногда приводит к клиническому улучшению
- Может ли терапия LVAD увеличить обновление кардиомиоцитов?

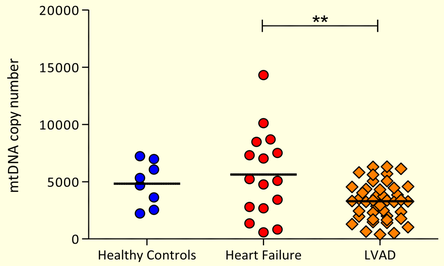
Образцы

	Здоровый контроль	Сердечная недостаточность	LVAD
Количество	**38**	**42**	**45**
Возраст (средний)	**47.3**	**49.6**	**54.3**
Длительность болезни	**-**	**2 – 276 месяцев (среднее 94,4)**	**1 – 384 месяцев**

A.



B.



A. Количество митохондрий в кардиомиоцитах и последующая продукция АФК связаны с активностью клеточного цикла кардиомиоцитов.

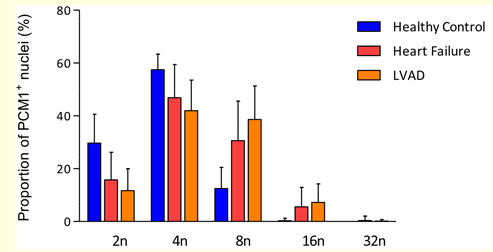
B. Мы определили уровень мтДНК - маркер количества митохондрий и обнаружили значительное снижение в группе, получавшей лечение LVAD.

Литература

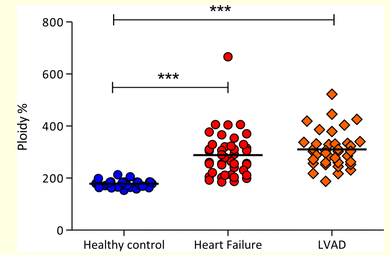
1. Bergmann O, Zdunek S, Felker A, Salehpour M, Alkass K, Bernard S, Sjostrom SL, Szewczykowska M, JackowskaT, Dos Remedios C, Malm T, Andra M, Jashari R, Nyengaard JR, Possnert G, Jovinge S, Druid H and Frisen J. Dynamics of Cell Generation and Turnover in the Human Heart. Cell. 2015;161:1566-75.
2. Lázár E, Sadek HA and Bergmann O. Cardiomyocyte renewal in the human heart: insights from the fall-out. European Heart Journal. 2017;38:2333-2342.
3. Derks W and Bergmann O. Polyploidy in Cardiomyocytes: Roadblock to Heart Regeneration? Circ Res. 2020;126:552-565.
4. Puente BN, Kimura W, Muralidhar SA, Moon J, Amatruda JF, Phelps KL, Grinsfelder D, Rothermel BA, Chen R, Garcia JA, Santos CX, Thet S, Mori E, Kinter MT, Rindler PM, Zacchigna S, Mukherjee S, Chen DJ, Mahmoud AI, Giacca M, Rabinovitch PS, Aroumougame A, Shah AM, Szweda LI and Sadek HA. The oxygen-rich postnatal environment induces cardiomyocyte cell-cycle arrest through DNA damage response. Cell. 2014;157:565-79

Увеличение плоидности и многоядерности в кардиомиоцитах при сердечной недостаточности

A.

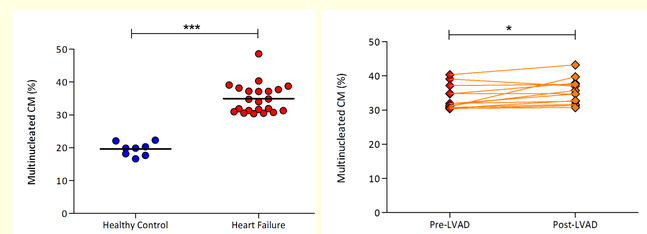


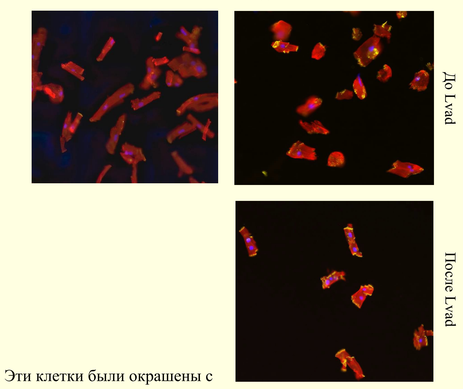
B.



A. Пропорция ядерной плоидности для группы контроля, сердечной недостаточности и LVAD.

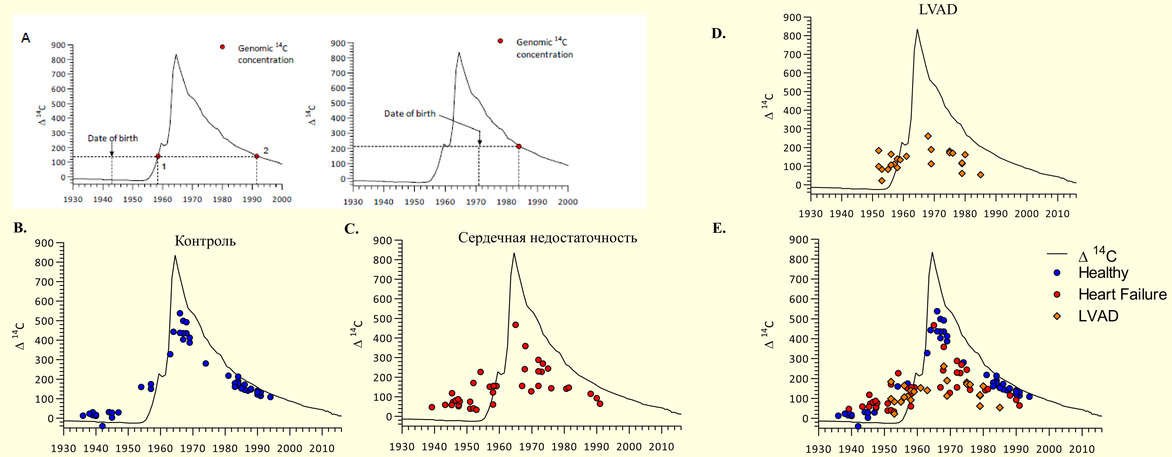
B. На основании ядерной плоидности каждому образцу может быть присвоен балл плоидности, в котором 100% плоидности отражает нормальную диплоидную клетку. Наблюдается значительное увеличение плоидности образцов с сердечной недостаточностью.





Мы ферментативно обрабатывали образцы сердца для получения интактных кардиомиоциты. Эти клетки были окрашены с помощью антител против маркеров кардиомиоцитов: маркеры саркомер (α-актинин) и интеркаляционного диска (коннексин-43). Используя окрашенные кардиомиоциты, мы показали, что количество многоядерных клеток значительно выше при сердечной недостаточности по сравнению с контролем. Мы также проанализировали образцы, взятые при им-

Уровни радиоуглерода (14C) в группах с сердечной недостаточностью и LVAD



Концентрации 14C в ДНК кардиомиоцитов отдельных людей, построенные с учетом атмосферных уровней радиоуглерода. **A**. Стратегия радиоуглеродного (14C) датирования отдельных клеточных популяций. Содержание 14C в геномной ДНК клеточной популяции сравнивается с зарегистрированными атмосферными уровнями 14C. Дата рождения исследуемой особи обозначена вертикальной пунктирной полосой, а горизонтальная пунктирная линия соответствует значению 14C, измеренному в образцах ДНК. Возраст отобранной популяции клеток можно определить по пересечению горизонтальной линии и кривой атмосферного 14C. Геномные значения 14C, полученные от людей, родившихся до испытаний ядерных бомб, соответствуют двум различным временным точкам (точки 1 и 2). Поскольку включение 14C из окружающей среды могло произойти во время подъема и/или спада кривой, точный возраст клеточной популяции не может быть определен с уверенностью, основываясь только на этих результатах. Однако у людей, родившихся после ядерных испытаний, измеренные уровни 14C однозначно определяют возраст клеточной популяции. **B**. Контрольные данные предыдущих исследований, здоровые случаи близки к кривой радиоуглерода. **C**. Значения, полученные при анализе 14C в группе сердечной недостаточности, больше отклоняются от атмосферной кривой 14C. **D.** Значения, полученные от пациентов с сердечной недостаточностью, получающих лечение с помощью LVAD. **E**. сочетание всех трех групп.

Выводы

1. При сердечной недостаточность наблюдается повышение плоидности и многоядерности КМ
2. Плоидность и многоядерность не уменьшаются при лечении с помощью LVAD.
3. Датировка КМ по 14C указывает на увеличение синтеза ДНК кардиомиоцитов в группе сердечной недостаточности и LVAD.