

Склифасовская Анастасия Павловна

РОЛЬ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА В ПАТОГЕНЕЗЕ АЛЬТЕРАЦИИ
МИОКАРДА, ОБУСЛОВЛЕННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ЕЁ
СОЧЕТАНИЕМ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

14.03.03 – патологическая физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2021

Работа выполнена на кафедре общей патологии и патологической физиологии имени В.А. Фролова медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Благонравов Михаил Львович**

Официальные оппоненты:

Кочегура Татьяна Николаевна

доктор медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики и сестринского дела института медицинского образования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Иванов Евгений Викторович

кандидат медицинских наук, преподаватель кафедры физиологии и общей патологии факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Правительства Российской Федерации

Ведущая организация: ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « 22 » декабря 2021 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.006 ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6 и на сайте: <http://dissovet.rudn.ru>.

Автореферат разослан « _____ » _____ 2021 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ПДС 0300.006

кандидат медицинских наук

Горячев Вячеслав Александрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. По данным ВОЗ, от сахарного диабета (СД) страдает около 422 млн. человек во всём мире [ВОЗ, 2021]. В 2019 г. причиной 1,5 млн. смертельных исходов явился СД, а за период с 2000 по 2019 г. смертность от данного заболевания в мире выросла на 70%, при этом 80% прироста приходится на долю мужчин [ВОЗ, 2021]. От сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в 2016 г. умерло 17,9 млн. человек, что составило 31% всех случаев смерти в мире [ВОЗ, 2017]. При этом сочетание артериальной гипертензии (АГ) с СД повышает риск неблагоприятных сердечно-сосудистых событий даже в случае маскированной гипертензии по сравнению с клиническими ситуациями отсутствия подобного сочетания, что было показано в исследовании HONEST [Kushiro T. et al., 2017]. Согласно результатам анализа, выполненного по 11 регистрам ишемического инсульта стран Европы и США, его предиктором в 59,3 % является АГ, а в 19,8 % — СД [Ntaios G. et al., 2016].

Сочетание АГ и СД оказывает крайне негативное влияние на сердечно-сосудистую систему, приводя, в частности, к возникновению и быстрому прогрессированию хронической сердечной недостаточности [Честикова А.И. и соавт., 2016]. Несмотря на уже достигнутый прогресс в лечении как АГ, так и СД, в последнее время принципиально новых подходов к решению данной проблемы предложено не было. В этой связи остаётся актуальным вопрос дальнейшего поиска потенциальных мишеней для разработки новых методов фармакотерапии. Необходимы данные о естественных молекулярных механизмах защиты кардиомиоцитов (КМЦ) от воздействия повреждающих факторов. В настоящее время активно изучается возможность воздействия на системы контроля качества белка в клетках миокарда при сердечной недостаточности [Wang X. et al., 2006]. Данные молекулярные факторы имеют выраженное структурное и функциональное сходство с белками, которые участвуют в патогенезе болезни Альцгеймера и других нейродегенеративных заболеваний [Lackie R.E. et al., 2017].

Поддержание постоянства белкового состава клеток имеет важное значение для надлежащей клеточной функции в различных тканях, особенно в миокарде, поскольку КМЦ являются терминально дифференцированными клетками и имеют весьма ограниченный регенераторный потенциал. При этом метаболические потребности сердца требуют жесткого контроля над качеством белка [Campos J.C. et al., 2012]. Клеточный стресс в миокарде, возникающий при ишемии, АГ и метаболических расстройствах, включая СД, могут нарушать белковый гомеостаз и вызывать неправильное свертывание клеточных белков. Внутриклеточное накопление токсичных, неправильно свернутых белков и их агрегатов может способствовать развитию сердечной недостаточности [Tarone G. et al., 2014]. Клетки обладают врожденным механизмом детекции неправильного свертывания белков, с помощью которого они могут восстанавливать или удалять эти белки. Данный механизм называется “Protein quality control (PQC)” и состоит из 3 основных путей. Неправильно свернутые белки сначала подвергаются воздействию белков теплового шока (БТШ), которые являются молекулярными шаперонами. Когда система

шаперона не может осуществить рефолдинг денатурированных белков, задействуется второй путь, по которому эти белки убиквитинируются и направляются в протеосомный механизм для последующей деградации. В условиях, при которых эти системы нарушены или перегружены, такие убиквитинированные белки накапливаются в околядерных структурах, так называемых «агресомах», которые в конечном итоге утилизируются посредством третьего механизма – аутофагии [Wang X. et al., 2006].

БТШ представляют собой семейство консервативных белков, которые могут способствовать правильному сворачиванию белка, поддерживать его стабильность и регулировать клеточный метаболизм, постоянство клеточного состава тканей и другие процессы в качестве молекулярных шаперонов. БТШ также называют стресс-индуцируемыми белками, поскольку они способны в условиях воздействия на клетку неблагоприятных факторов стабилизировать и репарировать белки в процессе их синтеза в клетке [Haslbeck M. et al., 2015]. Однако они также принимают участие в модуляции воспалительной реакции, оксидативного стресса, метаболического повреждения КМЦ [Schroder K. et al., 2010; Gomez-Pastor R. et al., 2017; Dowell J. et al., 2019].

Значительный интерес представляет влияние БТШ на процессы регулируемой клеточной гибели КМЦ, так как они вносят значительный вклад в реализацию компенсаторно-приспособительных процессов при повреждении сердца. В ряде исследований изучалась роль апоптоза и аутофагии в патогенезе ишемического повреждения сердца [Zhang H. et al., 2008; Xie M. et al., 2014; Vlagonravov M.L. et al., 2016]. БТШ опосредуют многие механизмы активации апоптотического каскада, играя как про- так и антиапоптотическую роль в зависимости от их местоположения в клетке [Xu C. et al., 2011; Shan R. et al., 2020]. Такой вид клеточной гибели как аутофагия в одних случаях может приводить к гибели клеток, а в других – выступает в качестве механизма их выживания [Ковалева О.В. и соавт., 2014].

Несмотря на наличие многочисленных данных, касающихся роли БТШ и факторов, участвующих в программированной клеточной гибели, в ответных реакциях клеток на воздействие патологических факторов, в настоящее время отсутствует однозначное представление об их месте в патогенезе повреждения миокарда, обусловленного хронической гемодинамической перегрузкой и метаболическими нарушениями.

Степень разработанности темы. На сегодняшний день накоплен значительный объём данных о роли БТШ в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Особый интерес представляет их роль в механизмах поддержания тканевого гомеостаза, особенно в условиях гипоксии КМЦ на фоне ИБС. В последнее время появились исследования, касающиеся генетических основ регуляции системы БТШ и их участия в патогенезе некоторых сердечно-сосудистых заболеваний.

Установлена роль БТШ в процессах модуляции регулируемой (программированной) клеточной гибели, их функции в изменении аутофагического потока при адаптации к клеточному стрессу. Также рассматривается их влияние на процесс перехода физиологического уровня аутофагии на каскад активации

апоптотического процесса клеточной гибели в условиях гипоксии.

Цель исследования. Изучить в эксперименте особенности экспрессии БТШ с различной молекулярной массой в КМЦ, особенности реализации отдельных видов регулируемой клеточной гибели КМЦ, а также патоморфологические изменения миокарда при генетически обусловленной АГ, инсулинозависимом СД и их сочетании.

Задачи исследования:

1. Дать качественную и количественную оценку морфологического состояния миокарда при стрептозотоцин-индуцированном СД у крыс линии Wistar-Kyoto и SHR.
2. Оценить активность экспрессии БТШ HSP60, HSPB1 (HSP27) и HSP10 в КМЦ ЛЖ крыс при АГ разных сроков, изолированном СД, а также при сочетании АГ и СД.
3. Провести анализ активности процессов инициации Beclin-1-опосредованной аутофагии в КМЦ ЛЖ крыс при СД у крыс линии Wistar-Kyoto и SHR.
4. Исследовать особенности инициации апоптотического процесса посредством оценки экспрессии уровня Вах и Bcl-2 в КМЦ ЛЖ при стрептозотоцин-индуцированном СД у крыс линии Wistar-Kyoto и SHR.
5. Изучить возможную роль БТШ в инициации аутофагии, апоптотической и антиапоптотической программ в КМЦ ЛЖ крыс при АГ разных сроков, изолированном СД, а также при сочетании АГ и СД.

Научная новизна. Впервые проведено исследование роли БТШ с различной молекулярной массой в процессе повреждения КМЦ ЛЖ, вызванного гемодинамической перегрузкой, метаболическими нарушениями при инсулинозависимом СД, а также в условиях сочетания АГ и инсулинозависимого СД.

Получены принципиально новые данные об активности молекулярных процессов, опосредующих два типа регулируемой клеточной гибели – апоптоз и аутофагию в КМЦ при сочетании АГ и СД. Впервые исследована Beclin-1-зависимая аутофагия КМЦ, а также экспрессия про- и антиапоптотических факторов Вах и Bcl-2 при изолированном СД 1 типа и сочетании инсулинозависимого СД с АГ.

Теоретическая и практическая значимость работы. На основе проведенного исследования получены данные о роли БТШ и ряда молекулярных механизмов, опосредующих отдельные виды регулируемой клеточной гибели, в патогенезе альтерации миокарда, обусловленной АГ и инсулинозависимым СД. Результаты проведенного эксперимента расширяют теоретическую базу, необходимую для поиска новых подходов к лечению сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с управлением процессами регулируемой клеточной гибели КМЦ с целью восстановления морфофункционального состояния поврежденного миокарда. Полученные результаты открывают новые перспективы для понимания молекулярных механизмов патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний. На основе

представленных в работе данных могут быть проведены дальнейшие исследования, в частности, по разработке методов фармакотерапии, направленной на защиту КМЦ путём воздействия на синтез БТШ.

Методология и методы исследования. При проведении исследования проводилось моделирование инсулинозависимого СД путём введения стрептозотоцина нормотензивным крысам линии Wistar-Kyoto и спонтанно-гипертензивным крысам линии SHR. Опытные исследования проводились в соответствии с положениями Европейской конвенции о защите животных (Директива 86/609/ЕЕС). Оценка морфологических изменений, а также результатов иммуногистохимической реакции в миокарде ЛЖ во всех группах исследования проводилась методом световой микроскопии гистологических срезов. Исследование про- и антиапоптотических процессов, аутофагии и продукции БТШ в миокарде выполнялось методом иммуногистохимии с использованием первичных кроличьих поликлональных антител (“SigmaAldrich”, США) к белкам-маркерам БТШ (HSPB1 (HSP27), HSP10 и HSP60), аутофагии (Beclin-1) и апоптоза (Bcl-2, Вах) и системы детекции “Rabbit specific HRP/DAB (ABC) Detection IHC Kit” (“Abcam”, Великобритания). Световая микроскопия гистологических срезов проводилась с помощью микроскопа “Nikon Eclipse E400” и видеосистемы “TauVideo” с программой “Tau Морфология” на основе видеокамеры “Watec 221s”.

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедре общей патологии и патологической физиологии имени В.А. Фролова медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования РФ.

Положения, выносимые на защиту:

1. Одним из механизмов патогенеза альтерации миокарда ЛЖ, обусловленного хронической перегрузкой ЛЖ на фоне первичной АГ и (или) метаболическими нарушениями при инсулинозависимом СД, можно считать снижение интенсивности продукции БТШ HSP60 в КМЦ.

2. Малые БТШ HSP10 и HSP27 показали разнонаправленный характер изменения экспрессии в КМЦ при АГ различных сроков, инсулинозависимом СД и при сочетании данных видов патологии. Белок HSP27 способен играть более значимую роль в кардиопротекции при АГ длительного срока, а белок HSP10 – при сочетании АГ и СД.

3. Снижение интенсивности Beclin-1-зависимой аутофагии КМЦ как механизма, направленного на выживание поврежденных клеток, а также повышение апоптотического каскада реакций играет дезадаптивную роль в процессе повреждения КМЦ, вызванного АГ, на что указывает повышение экспрессии белка Вах и снижение уровня соотношения Bcl-2/Вах. При сочетании СД и АГ наблюдается увеличение базального уровня Beclin-1-зависимой аутофагии, что можно рассматривать в качестве механизма выживания поврежденных клеток в условиях снижения апоптотического каскада реакции.

Степень достоверности. Исследование проводилось на крысах линий Wistar-Kyoto (нормотензивные крысы) и SHR (животные с генетически обусловленной АГ), полученных из Питомника лабораторных животных «Пушино» (филиал Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН), при достаточном объёме выборки. Качество животных подтверждено сертификатом качества и сертификатом здоровья, выданными поставщиком. Морфологическое и иммуногистохимическое исследование проводили на оборудовании, сертифицированном для данного вида работ. Также применялись методы статистической обработки, полностью соответствующие поставленным задачам.

Апробация результатов работы. Результаты работы доложены и обсуждены на международном конгрессе “The 44-th FEBS Congress” (Краков, 2019), на Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы патофизиологии: теоретические и клинические аспекты», г. Уфа, 2021 г.; на XXVII Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2021», г. Санкт-Петербург, 2021 г.; на XVI Международной (XXV Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых, г. Москва, 2021 г.; на международном конгрессе “The 45-th FEBS Congress” (Любляна, 2021), на совместном заседании кафедры общей патологии и патологической физиологии имени В.А. Фролова и кафедры патологической анатомии медицинского института РУДН, 2021 г.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 работ, в числе которых 1 статья в издании из Перечня, рекомендованного Учёным советом РУДН, и 7 публикаций в журналах, индексируемых в МЦБ WoS и Scopus.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материала и методов исследования, 2-х глав, в которых изложены результаты собственного исследования, главы с обсуждением полученных результатов, заключения и списка литературы. Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста, содержит 2 таблицы и 25 рисунков. Библиография содержит 208 источников российской и зарубежной литературы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 25 взрослых крысах-самцах линий Wistar-Kyoto (нормотензивные крысы) и SHR (спонтанно-гипертензивные крысы) массой тела 290-400 г, которые были разделены на 5 групп:

1 группа (контроль) – интактные нормотензивные крысы линии Wistar-Kyoto в возрасте 38 недель;

2 группа – гипертензивные крысы линии SHR в возрасте 38 недель;

3 группа – гипертензивные крысы линии SHR в возрасте 57 недель;

4 группа – нормотензивные крысы линии Wistar-Kyoto в возрасте 38 недель с инсулинозависимым СД длительностью 30 суток;

5 группа – гипертензивные крысы линии SHR в возрасте 38 недель с инсулинозависимым СД длительностью 30 суток.

Каждая группа включала в себя 5 животных. Все животные, использованные в исследовании, были получены из питомника лабораторных животных «Пушино» (филиал Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН). У 15 крыс линии SHR из этой же партии в возрасте 38 недель измерялось АД методом телеметрического мониторинга с использованием оборудования DSI. У всех животных систолическое АД было выше 190 мм рт. ст., диастолическое — выше 140 мм рт. ст.

В условиях эксперимента содержание животных и все манипуляции с ними проводились в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.). Исследование одобрено Комитетом по этике медицинского института РУДН (протокол № 26 от 18.02.2021).

Моделирование инсулинозависимого СД у животных линий Wistar-Kyoto и SHR в возрасте 38 недель проводилось путём однократного интраперитонеального введения Стрептозотоцина (“Alfa Aesar”, США) в дозе 65 мг/кг массы тела животного. Раствор Стрептозотоцина для инъекций приготавливался на цитратном буфере при температуре +4° С непосредственно перед введением. Через 3 суток измеряли уровень глюкозы в крови, взятой из хвостовой вены животных, с использованием глюкометра “AccuChek Active” (“Roche Diabetes Care GmbH”, Германия). Для дальнейшего эксперимента отбирались животные с гликемией выше 16 ммоль/л на 3 сутки с момента введения Стрептозотоцина. Животные с меньшим уровнем гликемии в эксперимент не включались. Длительность развития СД у животных обеих групп составила 30 суток с момента верификации гипергликемии. Крысы с развившимся СД получали низкоуглеводную диету в виде Pro Plan® Veterinary Diets DM ST/OX Diabetes Management или Royal Canin Vet Diet Diabetic DS46e, а также фрукты и овощи (морковь, кислые яблоки) 3-4 раза в неделю.

В группе животных линии SHR с инсулинозависимым СД на 25 сутки после введения Стрептозотоцина также проводили оценку уровня кетоновых тел и глюкозы в моче. Для этого животных помещали в камеру на 4-5 часов для получения дневной порции мочи. Затем в каждую свежесобранную (не более чем за 2 часа до анализа) порцию мочи опускали индикаторную тест полоску Кетоглюк-1 (ООО «Биосенсор АН») для качественного и полуколичественного определения глюкозы и кетоновых тел в моче согласно инструкции. Через 2 минуты с момента погружения сенсорных элементов в мочу сравнивали окраску сенсорного элемента с соответствующей цветной шкалой на этикетке упаковки комплекта при хорошем освещении. Изменение окраски сенсорных элементов свидетельствовало о наличии кетоновых тел и глюкозы в моче (качественное определение).

Морфологическое исследование миокарда при АГ, инсулинозависимом СД и сочетании АГ и СД 1 типа проводилось следующим образом. У животных в стерильных условиях под общим обезболиванием вскрывалась грудная клетка, выполнялась экстирпация сердца и перфузия его через восходящую аорту 0,9% раствором NaCl. Из свободной стенки ЛЖ иссекали фрагменты миокарда размером 5x5 мм и фиксировали в течение 72 часов в 4% нейтральном параформальдегиде. Затем материал обрабатывали и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы толщиной 5 мкм изготавливали на микротоме “Slidt 2003” (Германия) и наносили на предметные стекла для морфологического анализа.

Гистологические срезы исследовались с помощью светового микроскопа «Nikon Eclipse E400» при увеличении 400x и видеосистемы «TauVideo» с программой «Tau Морфология» на основе камеры «Watec 221s». При этом анализировали 30 полей зрения в каждом препарате миокарда. Морфометрический анализ проводили в каждом поле зрения: определяли в объемных процентах (об.%) относительное содержание в миокарде КМЦ, ядер, сосудов, участков деструкции и межклеточных пространств с помощью сетки Автандилова [Автандилов Г.Г., 1990]. Также рассчитывали «ядерно-цитоплазматическое отношение» (ЯЦО): процентное отношение площади ядер к площади цитоплазмы КМЦ.

Морфологический анализ гистологических срезов миокарда проводили при окрашивании гематоксилином и эозином. Методом световой микроскопии при увеличении 400x в 30 полях зрения оценивали содержание миофибрилл, ядер кардиомиоцитов, участков деструкции и инфильтрации, объем внеклеточного пространства.

Иммуногистохимическое исследование. Используя блоки препаратов миокарда ЛЖ, изготавливали гистологические срезы толщиной 5 мкм на микротоме «Slidt-2003» (Германия) и наносили на стекла с поли-L-лизинным адгезивным покрытием Polysine («Thermo Fisher Scientific», Великобритания). Срезы депарафинировали ксилолом и проводили по спиртам нисходящей концентрации. Для оценки экспрессии в миокарде БТШ HSP60, HSP10, HSPB1 (HSP27), фактора аутофагии Beclin-1, проапоптотического белка Вах и антиапоптотического белка Bcl-2 проводили реакции с первичными кроличьими поликлональными антителами (“SigmaAldrich”, США):

1. Anti-HSP60 antibody produced in rabbit;
2. Anti-HSPB1 antibody produced in rabbit;
3. Anti-HSPB10 antibody produced in rabbit;
4. Anti-Beclin-1 antibody produced in rabbit;
5. Anti-Wax antibody produced in rabbit;
6. Anti-Bcl-2 antibody produced in rabbit.

Демаскирование антигенов проводилось на водяной бане при температуре 95 — 97 ° С. Время инкубации с первичными антителами составляло 30 минут. Время инкубации со вторичными антителами — 30 минут.

Результаты иммуногистохимической реакции визуализировали с использованием набора реагентов «Rabbit specific HRP/DAB (ABC) Detection IHC Kit» («Abcam», Великобритания). Время инкубации с системой визуализации ДАБ составляло 5-10 минут. Препараты докрашивали гематоксилином Майера. Реакция считалась положительной при появлении коричневого окрашивания цитоплазмы КМЦ. Проводили световую микроскопию в 30 полях зрения в каждом препарате миокарда при 400-кратном увеличении на микроскопе «Nikon Eclipse E-400» с видеосистемой на основе камеры «Watec 221S». Количественный анализ позитивно окрашенных КМЦ проводился с использованием сетки Автандилова [Автандилов Г.Г., 1990]: определяли отношение количества равноудаленных точек, приходящихся на позитивно окрашенную цитоплазму КМЦ, к общему количеству точек, занимаемых цитоплазмой.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы «STATISTICA 6.0» (StatSoftInc., США). Для каждого показателя вычисляли среднее значение и ошибку среднего. Для определения достоверности отличий полученных данных применяли *U*-критерий Манна-Уитни (за достоверную принималась разность средних значений при $p \leq 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Морфологическая характеристика миокарда ЛЖ при АГ разных сроков, инсулинозависимом СД и сочетании АГ с инсулинозависимым СД.

При световой микроскопии гистологических срезов миокарда ЛЖ наблюдались следующие структурные особенности. В контрольной группе у интактных животных миокард не имеет признаков патологических изменений. Мышечные волокна четко контурируются, лежат в основном плотно и параллельно друг другу. Тканевые, клеточные и внутриклеточные структуры просматриваются отчётливо. Коллагена мало, он располагается между миофибриллами в виде тонких прослоек, а также вокруг микрососудов. Участки деструкции встречаются крайне редко и имеют небольшую площадь. Сосуды встречаются редко.

В группе гипертензивных крыс в возрасте 38 недель в миокарде наблюдается гипертрофия КМЦ, встречаются локальные участки нарушения их пространственной ориентации, наблюдается тенденция к уменьшению количества ядер, вероятно, за счет апоптотических процессов (экструзия ядер). Объём межклеточного пространства и количество стромальных элементов незначительно уменьшается по сравнению с контролем. Участки деструкции встречаются чаще. Отмечается тенденция к увеличению количества сосудов микроциркуляторного русла. По данным морфометрического анализа, по сравнению с контрольной группой, выявлено достоверное увеличение объемной площади миофибрилл и снижение количества ядер. Также на гипертрофию мышечных волокон указывает снижение ЯЦО по сравнению с контролем (Таблица 1).

В группе гипертензивных животных в возрасте 57 недель наблюдается значительная гипертрофия КМЦ за счет увеличения количества, существенно

увеличивается количество участков нарушения их пространственной ориентации, сохраняется тенденция к уменьшению количества ядер на единицу площади срезов. Количество стромальных элементов незначительно увеличивается по сравнению с группой АГ 38 недель, площадь межклеточного пространства значительно уменьшается по сравнению с контролем. Количество микрососудов сохраняет тенденцию к росту. ЯЦО снижено относительно контроля, что говорит о гипертрофии мышечных волокон, однако незначительно увеличивается относительно группы АГ 38 недель.

Таблица 1. Данные морфометрии гистологических срезов ЛЖ в контроле, при АГ 38 недель, АГ 57 недель, СД 1 типа и сочетании АГ 38 недель и СД 1 типа ($M \pm m$).

Показатель	Контроль	АГ 38 недель	АГ 57 недель	СД	АГ 38 недель + СД
КМЦ, об. %	83.81±0,7	87.2±0.87*	89.06±1.01*	79.00±0.82*	83.50±0.93
Ядра, об. %	5.19±0.19	4.3±0.24*	4.5±0.24*	5.89±0.36*	2.85±0.22*
ЯЦО	0.06±0.003	0.04±0.008	0.05±0.001	0.07±0.001	0.03±0.004
Межклеточное пространство, об. %	5.61±0.41	4.28±0.44*	2.66±0.44*	5.81±0.50	2.07±0.30*
Стромальные элементы, об.%	4.81±0.24	3.44±0.27*	2.81±0.44*	7.18±0.47*	9.43±0.52*
Сосуды, об. %	0.43±0.26	0.52±0.34	0.62±0.24	1.61±0.62*	1.84±0.74*
Участки деструкции, об. %	0.09±0.07	0.22±0.17*	0.30±0.24*	0.44±0.08*	0.28±0.15*

Примечание: * – $p \leq 0.05$ по сравнению с контролем.

При СД 30 суток мышечные волокна лежат в основном параллельно друг другу, отмечается выраженная гипотрофия КМЦ, а также утолщение стенки микрососудов, редко встречаются участки нарушения пространственной ориентации, значительно увеличивается количество коллагена между КМЦ, а также вокруг сосудов. Количество ядер незначительно увеличивается относительно контрольной группы, а количество мышечных волокон значительно уменьшается ввиду гипотрофии по сравнению с контролем, при этом ЯЦО увеличивается относительно контроля, что также свидетельствует о гипотрофии. Количество стромальных элементов значительно увеличивается по сравнению с контролем, что указывает на

прогрессирующий фиброз. Объем межклеточного пространства не изменяется относительно контрольной группы.

В группе животных с АГ сроком 38 недель в сочетании с СД 1 типа КМЦ гипертрофированы, встречаются участки нарушения их пространственной ориентации, а также поперечные разрывы миофибрилл. Ядер КМЦ становится в 2 раза меньше по сравнению с контрольной группой. ЯЦО снижается в 2 раза относительно контрольной группы, что, вероятно, говорит о состоявшемся частичном апоптозе КМЦ. Количество стромальных элементов значительно увеличивается по сравнению с контролем, площадь межклеточного пространства значительно уменьшается. Наблюдается также значительное увеличение по сравнению с контролем количества сосудов микроциркуляторного русла, стенка которых утолщена.

Экспрессия БТШ HSP60 в миокарде ЛЖ при АГ разных сроков, инсулинозависимом СД и сочетании АГ и инсулинозависимого СД. Согласно полученным результатам, в миокарде ЛЖ во всех экспериментальных группах достоверно уменьшается по сравнению с контролем содержание БТШ HSP60 в цитоплазме КМЦ левого желудочка сердца (Рисунок 1, Рисунок 2).

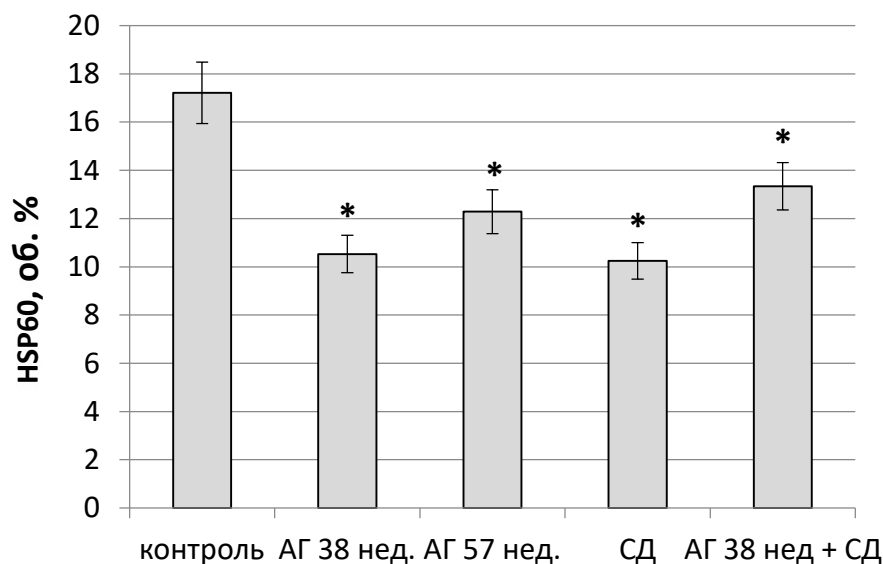


Рисунок 1. Содержание БТШ HSP60 в КМЦ миокарда ЛЖ крыс при АГ (SHR 38 недель, SHR 57 недель), инсулинозависимом СД и сочетании АГ 38 недель с СД.

* – $p \leq 0.05$ по сравнению с контролем.

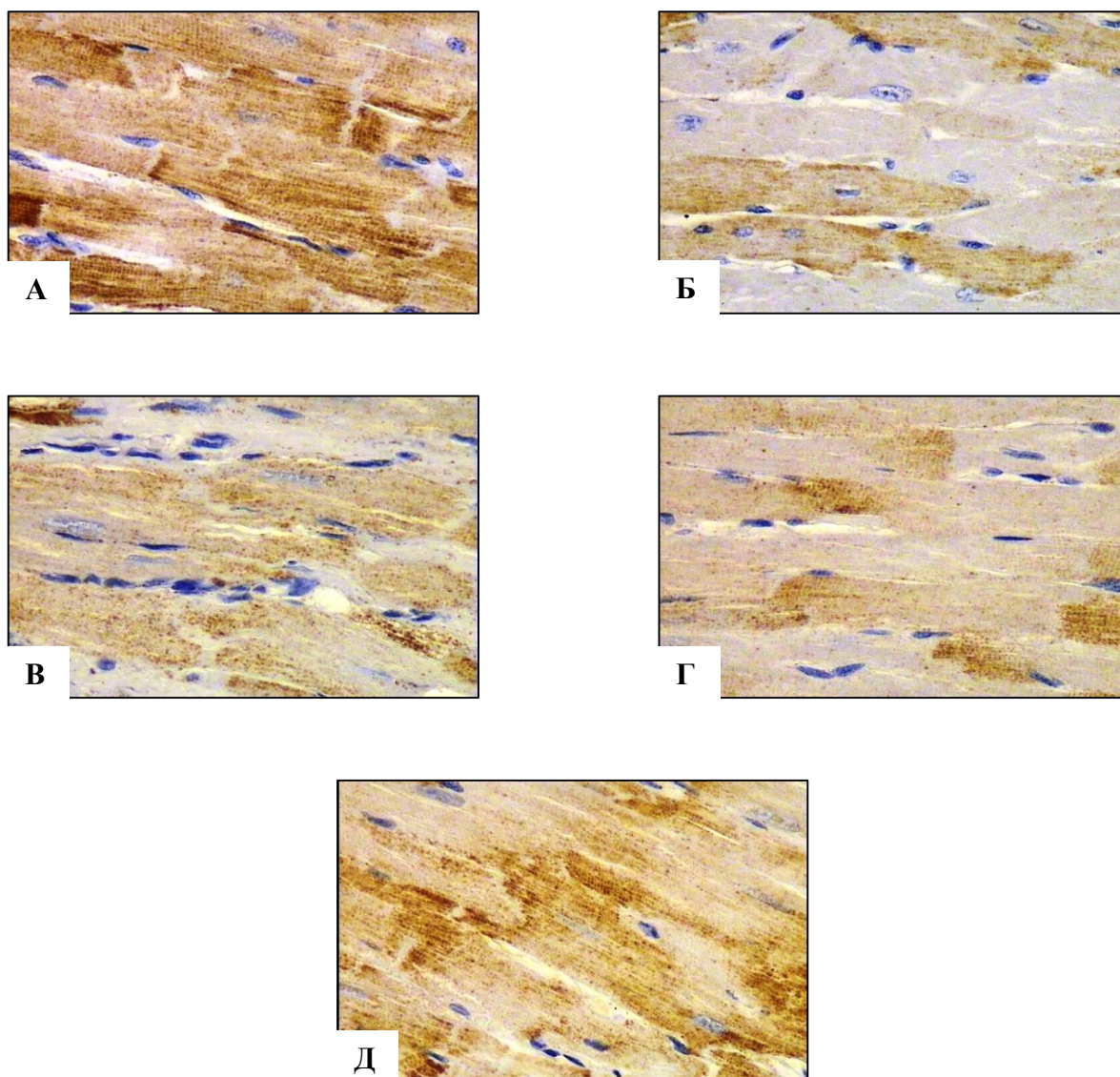


Рисунок 2. Экспрессия БТШ HSP60 в миокарде ЛЖ крыс. Иммуногистохимическая окраска. Ув. $\times 400$. А – контроль; Б – АГ 38 недель; В – 57 недель; Г – СД; Д – АГ 38 недель + СД.

В результате проведенного эксперимента было обнаружено снижение по сравнению с контролем интенсивности экспрессии БТШ HSP60 в КМЦ ЛЖ как при гемодинамической перегрузке ЛЖ, обусловленной АГ, так и при метаболических нарушениях в миокарде, связанных с СД. Более того, их сочетание не сопровождается развитием синергетического отрицательного эффекта в отношении данного процесса. Напротив, в данном случае отмечается даже несколько менее выраженное угнетение продукции HSP60.

Экспрессия БТШ HSP10 в миокарде ЛЖ при АГ разных сроков, инсулинозависимом СД и сочетании АГ инсулинозависимого СД. При анализе уровня экспрессии БТШ HSP10 были получены следующие данные: в группе изолированного СД отмечается достоверное снижение по сравнению с контролем экспрессии БТШ HSP10 в цитоплазме КМЦ ЛЖ сердца. В группе животных, имеющих сочетание АГ и СД, напротив, наблюдается статистически значимое увеличение содержания HSP10 в миокарде ЛЖ относительно контрольной группы. В группах животных с АГ 38 и 57 недель содержание HSP10 не изменилось по сравнению с контрольной группой (Рисунок 3).

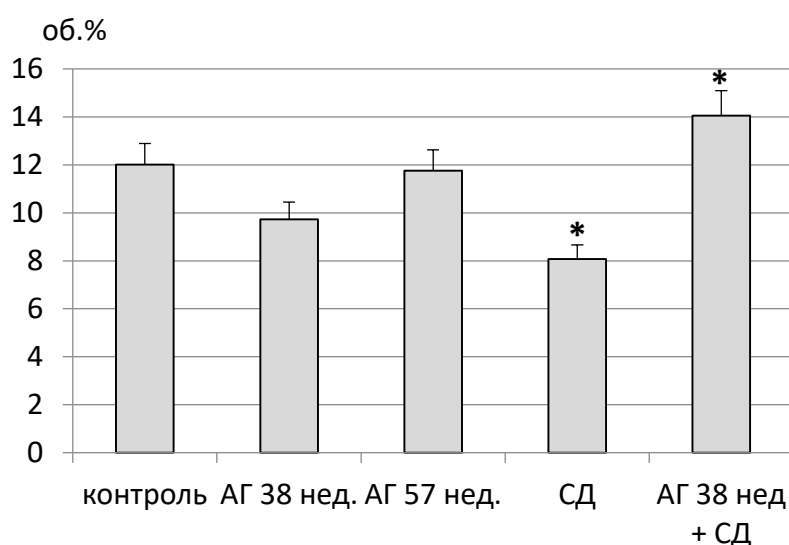


Рисунок 3. Содержание БТШ HSP10 в КМЦ ЛЖ при АГ (крысы линии SHR 38 и 57 недель), инсулинозависимом СД (крысы линии Wistar-Kyoto в возрасте 38 недель) и при сочетании АГ и СД (крысы линии SHR в возрасте 38 недель).

* – $p \leq 0.05$ по сравнению с контролем.

При СД отмечается уменьшение по сравнению с группой интактных животных количества положительно окрашенных КМЦ. Окрашивание преимущественно сосредоточено в толще миокарда. По направлению к эпикарду и эндокарду снижается его интенсивность. Для групп животных с АГ сроком 38 недель в сочетании с СД характерно повышение плотности появления КМЦ с позитивной реакцией на HSP10. При этом окраска более интенсивная по сравнению с группой гипертензивных крыс в возрасте 57 недель и с группой животных с изолированным СД, а также с группой контроля (Рисунок 4).

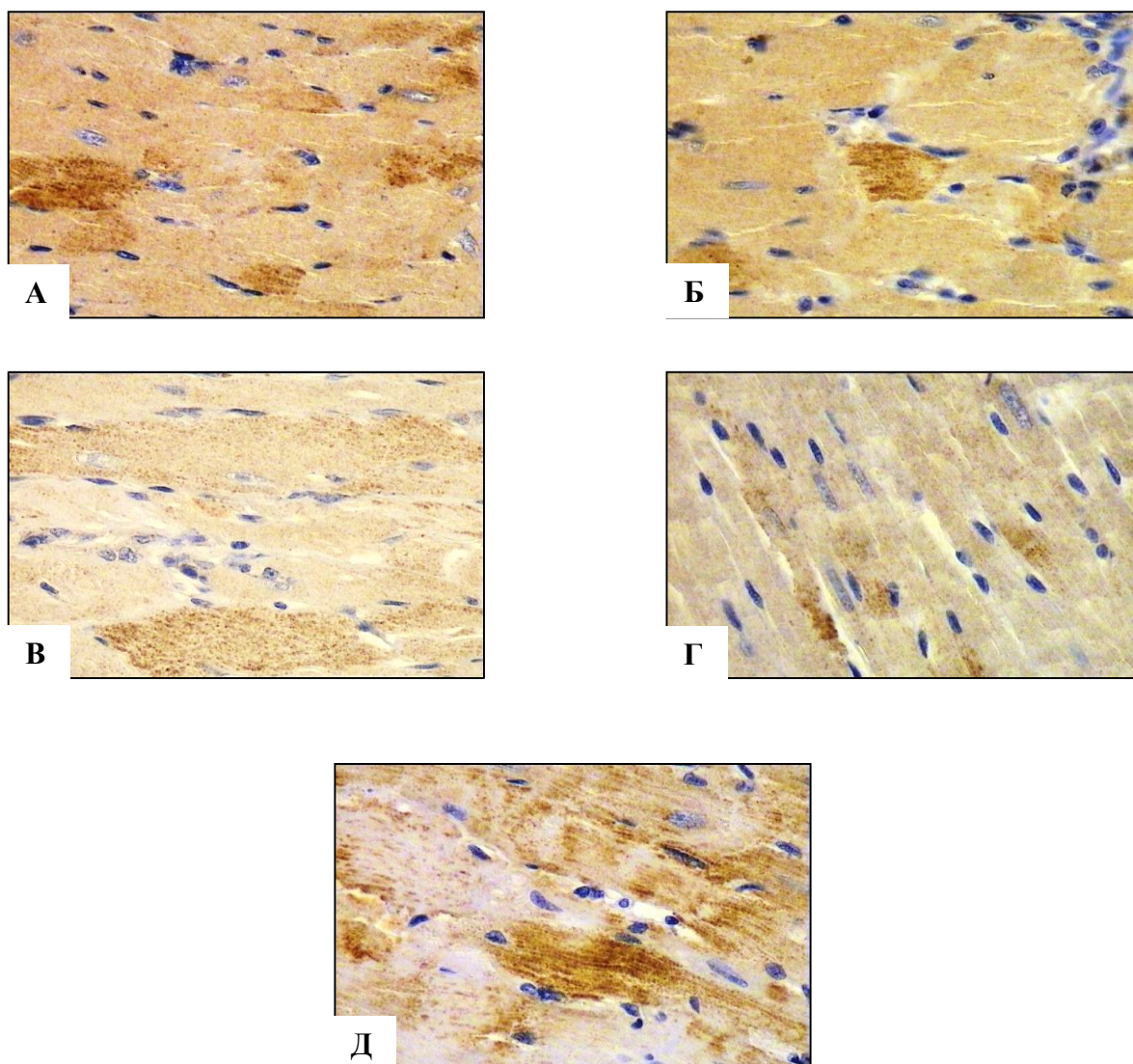


Рисунок 4. Экспрессия БТШ HSP10 в КМЦ в миокарде ЛЖ крыс. Иммуногистохимическая окраска. Ув. $\times 400$. А – контроль; Б – АГ 38 недель; В – 57 недель; Г – СД; Д – АГ 38 недель + СД.

Экспрессия белка БТШ HSP27 в миокарде ЛЖ при артериальной гипертензии разных сроков, инсулинозависимом СД и сочетании АГ и инсулинозависимого СД. Согласно результатам количественного анализа, содержание БТШ HSP27 в цитоплазме КМЦ ЛЖ достоверно уменьшается по сравнению с контролем в группах животных с АГ длительностью 38 недель и сочетанием АГ с СД. В группах животных с АГ длительностью 57 недель уровень экспрессии БТШ HSP27, напротив, достоверно увеличивается. В группе животных с изолированным СД экспрессия БТШ HSP27 сохранилась на уровне контрольной группы (Рисунок 5).

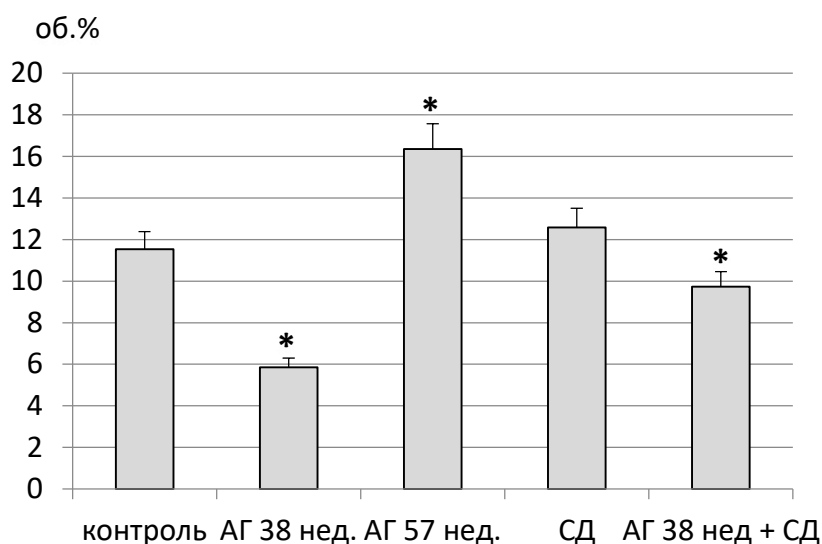


Рисунок 5. Содержание БТШ HSP27 (HSPB1) в КМЦ ЛЖ при АГ (крысы линии SHR 38 и 57 недель), инсулинозависимом СД (крысы линии Wistar-Kyoto в возрасте 38 недель) и при сочетании АГ и СД (крысы линии SHR в возрасте 38 недель).

* – $p \leq 0.05$ по сравнению с контролем.

В группе гипертензивных крыс в возрасте 38 недель отмечается значительное снижение по сравнению с контролем плотности появления положительно окрашенных КМЦ (Рисунок 6). Характерен мозаичный тип распределения окрашивания отдельных клеток низкой интенсивности.

В группе гипертензивных животных в возрасте 57 недель, напротив, наблюдается значительное повышение плотности появления КМЦ с позитивной реакцией на HSP27. Положительное плотное и интенсивное на значительном протяжении окрашивание преимущественно сосредоточено по направлению к эндокарду.

При СД по сравнению с группой интактных животных количество положительно окрашенных КМЦ существенно не изменяется.

Для группы животных с АГ сроком 38 недель в сочетании с СД характерно снижение плотности появления КМЦ с позитивной реакцией на HSP27. При этом наблюдаются интенсивно окрашенные как группы КМЦ, так и отдельные клетки. Встречаются участки окрашивания мозаичного типа на значительном протяжении, но меньшей интенсивности по сравнению с группой АГ 57 недель. Окрашивание сосредоточено как в толще миокарда, так и по направлению к эпикарду. Большее количество клеток с позитивной реакцией встречается в области миокарда, прилегающей к эпикарду. Ближе к эндокарду, напротив, выявляются лишь единичные участки положительного окрашивания, в основном лишь вокруг микрососудов.

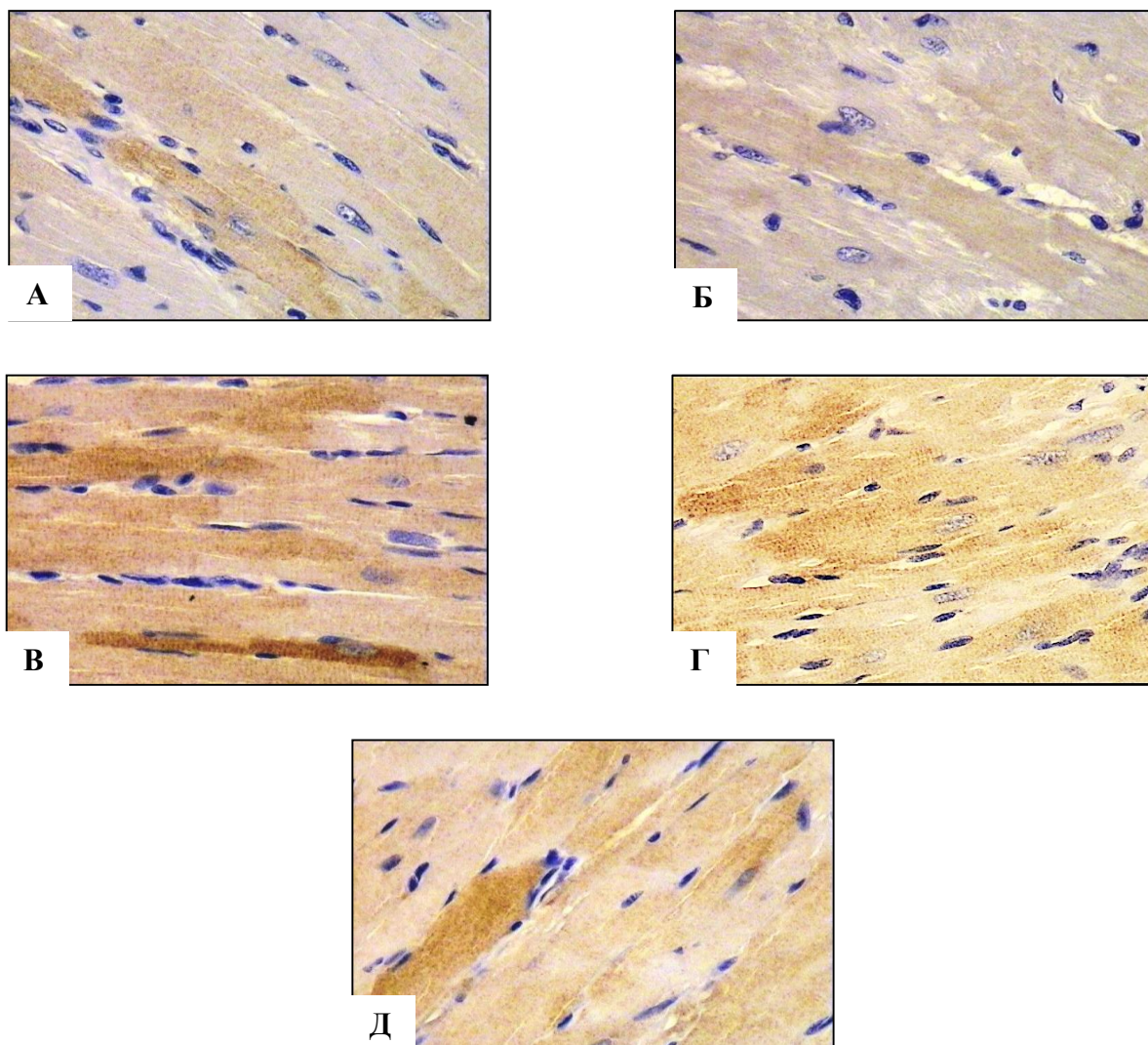


Рисунок 6. Экспрессия БТШ HSP27 (HSPB1) в миокарде ЛЖ крыс. Иммуногистохимическая окраска. Ув. $\times 400$.
 А – контроль; Б – АГ 38 недель; В – 57 недель; Г – СД; Д – АГ 38 недель + СД.

Экспрессия белка Veslin-1 в миокарде ЛЖ при АГ разных сроков, инсулинозависимом СД и сочетании АГ и СД1 типа. При количественном анализе уровня экспрессии Veslin-1 были получены следующие данные. В группе изолированного СД, а также при сочетании АГ и СД отмечается достоверное увеличение по сравнению с контролем экспрессии Veslin-1 в цитоплазме КМЦ ЛЖ сердца. В группах гипертензивных крыс линии SHR как в возрасте 38, так и 57 недель, напротив, наблюдается статистически значимое прогрессирующее снижение содержания Veslin-1 в миокарде ЛЖ относительно контрольной группы (Рисунок 7).

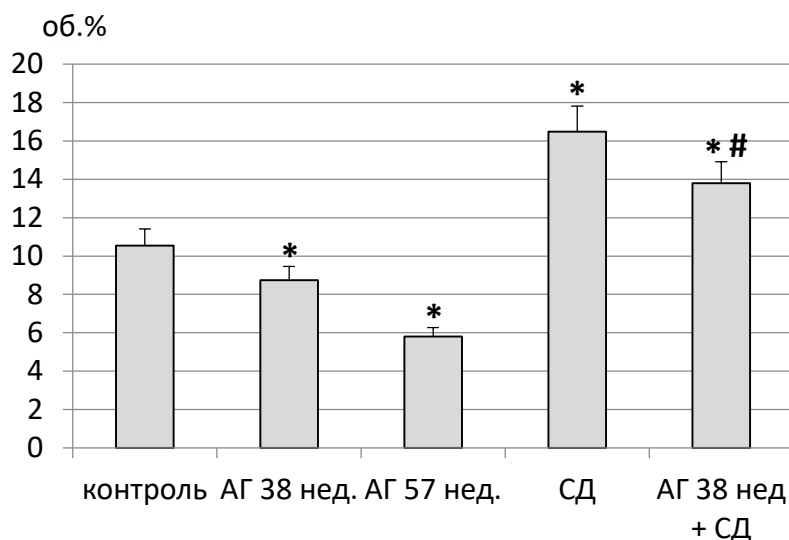


Рисунок 7. Содержание Beclin-1 в КМЦ ЛЖ при АГ (крысы линии SHR 38 и 57 недель), инсулинозависимом СД (крысы линии Wistar-Kyoto в возрасте 38 недель) и при сочетании АГ и СД (крысы линии SHR в возрасте 38 недель). $p \leq 0.05$ по сравнению * – с контролем, # – с группой СД.

Экспрессия белка Вах в миокарде ЛЖ при АГ разных сроков, инсулинозависимом СД и сочетании АГ и СД типа. При анализе уровня экспрессии Вах были получены следующие данные: во всех группах животных было обнаружено достоверное увеличение по сравнению с контролем содержания белка Вах в цитоплазме КМЦ ЛЖ. При этом в группе животных, имеющих изолированный СД, а также при сочетании АГ с СД отмечается увеличение уровня экспрессии Вах более чем в 2 раза по сравнению с контролем (Рисунок 8).

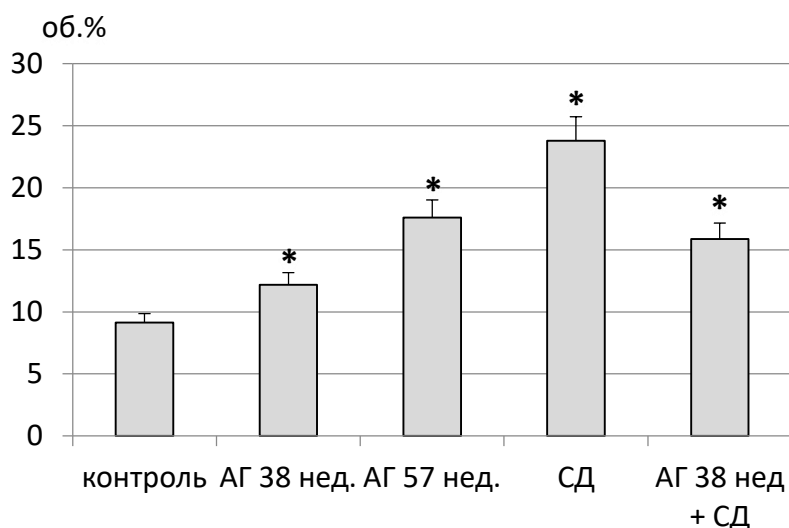


Рисунок 8. Содержание Вах в КМЦ ЛЖ при АГ (крысы линии SHR 38 и 57 недель), инсулинозависимом СД (крысы линии Wistar-Kyoto в возрасте 38 недель) и при сочетании АГ и СД (крысы линии SHR в возрасте 38 недель). * – $p \leq 0.05$ по сравнению с контролем.

Экспрессия белка Bcl-2 в миокарде ЛЖ при АГ разных сроков, инсулинозависимом СД и сочетании АГ и СД 1 типа. Согласно результатам количественного анализа, содержание Bcl-2 в цитоплазме КМЦ ЛЖ достоверно уменьшается по сравнению с контролем в группах животных с АГ длительностью 38 недель, АГ длительностью 57 недель, а также в группе животных с изолированным СД. В группе животных, имеющих сочетание АГ и СД, уровень экспрессии Bcl-2 статистически значимо не отличается от контрольной группы (Рисунок 9).

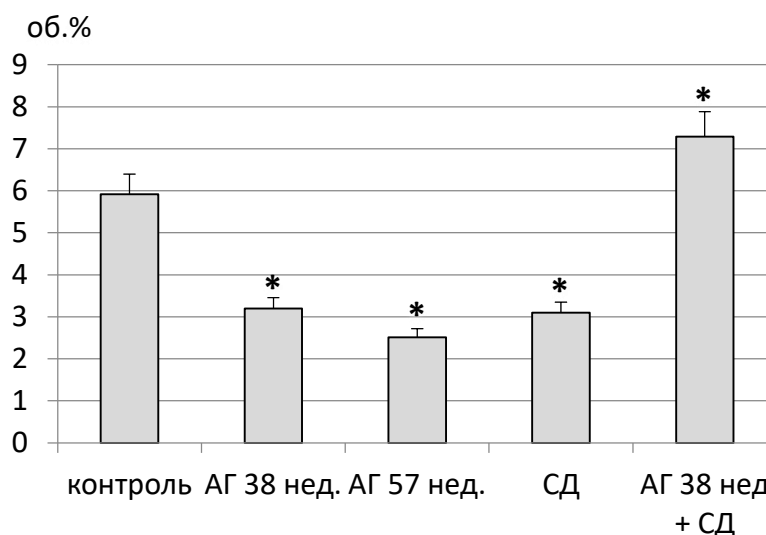


Рисунок 9. Содержание Bcl-2 в КМЦ ЛЖ при АГ (крысы линии SHR 38 и 57 недель), инсулинозависимом СД (крысы линии Wistar-Kyoto в возрасте 38 недель) и при сочетании АГ и СД (крысы линии SHR в возрасте 38 недель). * – $p \leq 0.05$ по сравнению с контролем.

Проведенные исследования продемонстрировали несомненную роль БТШ в реализации протеостатического контроля при альтерации миокарда в условиях гемодинамической перегрузки, метаболических нарушений и при сочетании данных видов патологии. Необходимо отметить особое значение БТШ в реализации механизмов программированной клеточной гибели и аутофагии в патогенезе реактивных изменений альтерированного миокарда.

В настоящем исследовании было обнаружено, что при воздействии различных стрессовых факторов продукция БТШ может как повышаться, так и снижаться. Так, экспрессия БТШ HSP60 снижалась в КМЦ ЛЖ как при гемодинамической перегрузке ЛЖ, обусловленной АГ, так и при метаболических нарушениях в миокарде, связанных с СД. Более того, их сочетание не сопровождалось развитием синергетического отрицательного эффекта в отношении данного процесса. Напротив, в данном случае отмечалось даже несколько менее выраженное угнетение продукции HSP60. Подавление синтеза БТШ HSP60, вероятнее всего, связано с энергодефицитом, развивающимся на фоне перегрузки ЛЖ и/или инсулинозависимого СД, поскольку, как было указано ранее, данный белок является АТФ-зависимым.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоги выполненного исследования

1. При гемодинамической перегрузке ЛЖ, обусловленной АГ и при его повреждении, связанном с СД 1 типа в КМЦ ЛЖ крыс происходит снижение по сравнению с контролем интенсивности экспрессии БТШ HSP60. Сочетание АГ и СД не сопровождается развитием синергетического отрицательного эффекта в отношении данного процесса; напротив, в данном случае отмечается несколько менее выраженное угнетение продукции HSP60.
2. При инсулинозависимом СД происходит достоверное снижение экспрессии малого БТШ HSP10 в КМЦ ЛЖ, что указывает на ослабление механизмов кардиопротекции, реализуемых АТФ-независимым белком. В группе коморбидной патологии, напротив, происходит усиление защитных механизмов в миокарде, реализуемых малым БТШ HSP10, о чем свидетельствует достоверное увеличение его экспрессии.
3. Для малого БТШ HSP27 характерно снижение уровня экспрессии при сочетании АГ с СД относительно контрольной группы, что говорит об уменьшении его участия в механизмах кардиопротекции на фоне выраженного энергодефицита. При АГ большего срока (57 недель), напротив, защитная роль HSP27 возрастает, на что указывает высокий уровень его экспрессии в КМЦ ЛЖ.
4. При хронической перегрузке ЛЖ, обусловленной АГ, происходит снижение интенсивности Beclin-1-зависимой аутофагии КМЦ. При изолированном СД, а также при его сочетании с АГ наблюдается противоположный эффект, проявляющийся в достоверном увеличении базального уровня Beclin-1-зависимой аутофагии, что в свете представлений о системе контроля качества белка позволяет рассматривать данное явление как механизм выживания поврежденных клеток.
5. При АГ и изолированном СД происходит усиление апоптотического каскада реакций в КМЦ ЛЖ, на что указывает повышение экспрессии белка Вах и снижение соотношения Bcl-2/Вах. В то же время, при сочетанной патологии содержание Вах увеличивается не столь существенно относительно других групп, однако, остается выше контрольной группы. При этом также достоверно повышается содержание Bcl-2, а соотношение Bcl-2/Вах приобретает тенденцию к увеличению, но остается ниже контроля, что свидетельствует о снижении апоптотического каскада реакции при коморбидной патологии, в отличие от изолированных АГ и СД.
6. В зависимости от характера альтерации миокарда, участие БТШ с различной молекулярной массой в механизмах кардиопротекции может как увеличиваться, так и уменьшаться. Снижение экспрессии HSP60 в КМЦ ЛЖ можно рассматривать в качестве механизма ослабления кардиопротекции при альтерации миокарда ЛЖ, обусловленного АГ и (или) СД. Для малых БТШ HSP10 и HSP27 характерны разнонаправленные изменения их продукции при АГ, СД и их сочетании.

Практические рекомендации

Результаты проведенного исследования могут быть использованы для разработки новых терапевтических методов, направленных на восстановление морфофункционального состояния миокарда при метаболических и гемодинамических нарушениях. Полученные данные можно учитывать при дальнейших исследованиях БТШ в качестве потенциальной патогенетической мишени, посредством которой возможна коррекция процессов регулируемой клеточной гибели.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Изучение роли БТШ в патогенезе альтерации миокарда открывает новые возможности для поиска и разработки лечебных методов, воздействующих на процессы программированной гибели КМЦ с целью компенсации нарушений, возникающих при заболеваниях сердечно-сосудистой и эндокринной систем, а также при их сочетании. В этой связи разработка новых методов фармакотерапии, направленных на защиту КМЦ посредством управления синтезом БТШ и процессом регулируемой клеточной гибели, является перспективным направлением дальнейших исследований.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Sklifasovskaia, A. P.** Correlation of Beclin 1 dependent cardiomyocyte autophagy with morphological changes of the myocardium under acute ischemic injury / A. P. Sklifasovskaia, A. Y. Korshunova, M. L. Blagonravov, S. P. Syatkin, E. V. Neborak, A. V. Protasov, S. M. Semyatov, E. A. Demurov // **FEBS Open Bio**, Vol. 9 (Suppl. S1) (2019), Abstract number P-03-012, P. 106-107.
2. Blagonravov, M. L. Heat shock protein HSP60 in left ventricular cardiomyocytes of hypertensive rats with and without insulin-dependent diabetes mellitus / M. L. Blagonravov, **A. P. Sklifasovskaya**, A. Yu. Korshunova, M. M. Azova, A. O. Kurlaeva // **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**. – 2020. – Vol. 170. – N1. – P. 10-14.
3. Korshunova, A. Yu. BCL2-regulated apoptotic process in myocardial ischemia-reperfusion injury (review) / A. Yu. Korshunova, M. L. Blagonravov, E. V. Neborak, S. P. Syatkin, **A. P. Sklifasovskaya**, S. M. Semyatov, E. Agostinelli // **International Journal of Molecular Medicine**. – 2021. – Vol. 47. – Issue 1. – P. 23-36.
4. **Sklifasovskaya, A. P.** Small heat shock proteins HSP10 and HSP27 in the left ventricular myocardium in rats with arterial hypertension and insulin-dependent diabetes mellitus / A. P. Sklifasovskaya, M. L. Blagonravov // **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**. – 2021. – Vol. 170. – N 6. – P. 699-705.

5. Blagonravov, M. L. Beclin-1-dependent autophagy of left ventricular cardiomyocytes in SHR and Wistar-Kyoto rats with type 1 diabetes mellitus / M. L. Blagonravov, **A. P. Sklifasovskaya**, E. A. Demurov, A. A. Karimov // **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**. – 2021. – Vol. 171. – N 1. – P. 23-27.
6. **Sklifasovskaia, A. P.** Expression of heat shock protein HSP60 and morphological changes of the myocardium under combination of diabetes mellitus with hypertension / A. P. Sklifasovskaia, M. L. Blagonravov, A. Y. Korshunova, V. A. Goryachev, S. P. Syatkin, E. V. Neborak, A. V. Protasov // **FEBS Open Bio**, Vol. 11 (Suppl. 1) (2021), Abstract number P-07.3-05, P. 377.
7. Korshunova, A. Y. Relationship between intrinsic pathway of cardiomyocyte apoptosis and morphological changes of the myocardium in acute focal ischemia / A. Y. Korshunova, M. L. Blagonravov, M. M. Azova, **A. Sklifasovskaya**, S. P. Syatkin, E. V. Neborak, E. A. Demurov // **FEBS Open Bio**, Vol. 11 (Suppl. 1) (2021), Abstract number P-07.3-04, P. 377.
8. **Склифасовская, А. П.** Экспрессия белков Вах и Bcl-2 в кардиомиоцитах левого желудочка сердца при инсулинозависимом сахарном диабете у крыс линий Wistar-Kyoto и SHR / А. П. Склифасовская, М. Л. Благонравов, А. Ю. Рябина, М. М. Азова, В. А. Горячев // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины**. – 2021. – Том 171. – № 5. – С. 543-549.
9. **Склифасовская, А. П.** Роль ко-шаперонного взаимодействия белков теплового шока HSP60 и HSP10 при альтерации миокарда, вызванной гемодинамической перегрузкой и метаболическими нарушениями / А. П. Склифасовская, М. Л. Благонравов // **Вестник Башкирского государственного медицинского университета**. – 2021. – № 1. – С. 59-62.
10. **Склифасовская, А. П.** Роль белка теплового шока 10 в механизмах апоптоза и аутофагии на модели сахарного диабета и ее сочетании с артериальной гипертензией / А. П. Склифасовская // **Сборник тезисов XVI Международной (XXV Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых**. – г. Москва, 18 марта 2021 г. – С. 96.
11. **Склифасовская, А. П.** Роль белка теплового шока HSP27 в механизмах запрограммированной клеточной гибели при альтерации миокарда, вызванной метаболическими нарушениями и гемодинамической перегрузкой / А. П. Склифасовская // **Материалы XXVII Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2021»**. – г. Санкт-Петербург, 25-26 марта 2021 г. – С. 114-115.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

HSP – heat shock protein (белок теплового шока);
SHR – spontaneously hypertensive rats (спонтанно гипертензивные крысы);
АГ – артериальная гипертензия;
БТШ – белок теплового шока;
КМЦ – кардиомиоцит;
ЛЖ – левый желудочек;
СД – сахарный диабет;
ЯЦО – ядерно-цитоплазматическое отношение;

АННОТАЦИЯ

кандидатской диссертации А.П. Склифасовской «Роль белков теплового шока в патогенезе альтерации миокарда, обусловленной артериальной гипертензией и ее сочетанием с сахарным диабетом»

В представленном диссертационном исследовании было проведено изучение особенностей экспрессии белков теплового шока (БТШ) с различной молекулярной массой на моделях альтерации миокарда, обусловленной гемодинамической перегрузкой разных сроков, сахарным диабетом (СД), а также сочетанием данных видов патологии. Также был проведен сравнительный анализ экспрессии маркеров апоптоза и аутофагии по отношению к БТШ на выбранных моделях. Эксперимент проводился на самцах крысах линии Wistar-Kyoto и SHR, у которых моделировали СД. Для оценки экспрессии БТШ HSP60, HSP10, HSP27 проводилось иммуногистохимическое исследование миокарда ЛЖ. Активность аутофагии кардиомиоцитов (КМЦ) оценивалась по экспрессии белка Beclin-1, апоптотические процессы в КМЦ – по экспрессии проапоптотического белка Вах и антиапоптотического белка Bcl-2. Было установлено, что в условиях гемодинамической перегрузки и метаболических нарушений БТШ могут играть как кардиопротективную роль, так и рассматриваться в качестве звеньев механизмов альтерации миокарда. Малые БТШ демонстрируют разнонаправленный характер экспрессии в КМЦ при альтерации различного генеза. В случае коморбидной патологии и при изолированном СД происходило увеличение базального уровня Beclin-1-зависимой аутофагии, а апоптотический каскад реакции, реализуемый через Вах при сочетании АГ и СД снижался.

SUMMARY

of the thesis «The role of heat shock proteins in the pathogenesis of myocardial alterations caused by arterial hypertension and its combination with diabetes mellitus» by A.P. Sklifasovskaya

In the present work the features of heat shock proteins (HSP) expression with different molecular weights were studied in the models of myocardial alterations caused by hemodynamic overload of different duration, diabetes mellitus (DM), as well as combination of these pathologies. A comparative analysis of the expression of apoptosis and autophagy markers in relation to HSP was also performed. The experiment was carried out on male Wistar-Kyoto and SHR rats, in which DM was modeled. To assess the expression of HSP60, HSP10, and HSP27 an immunohistochemical study was performed. The activity of cardiomyocytes (CMC) autophagy was assessed by the expression of the Beclin-1 protein, and apoptotic processes in CMCs were assessed by analyzing the expression of the pro-apoptotic protein Bax and anti-apoptotic protein Bcl-2. It was found that under hemodynamic overload and metabolic disorders, HSPs can play both a cardioprotective role and be considered as mechanisms of myocardial alteration. Small HSPs showed a multidirectional character of expression in CMCs with alterations of different genesis. In case of comorbid pathology and under isolate DM, there was an increase in the basal level of Beclin-1-dependent autophagy, and the apoptotic cascade of reaction realized through Bax in case of hypertension and DM combination was inhibited.