

ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ МЕХАНИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА, LPS И ИХ СОЧЕТАНИЯ НА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ИЗ ПУПОЧНОЙ ВЕНЫ ЧЕЛОВЕКА

Матвеева В.Г.¹, Головкин А.С.¹, Антонова Л.В.¹, Кудрявцев И.В.², Иванов С.В.¹, Григорьев Е.В.¹, Артымук Н.В.³, Тришкин А.Г.³, Бикметова Е.С.³

¹ ФГБУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, г. Кемерово, Россия

² НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

³ ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Кемерово, Россия

Резюме. Развитие осложненных форм системного воспалительного ответа (СВО) у кардиохирургических пациентов зачастую определяет исход оперативного вмешательства. При этом генерализованной активации эндотелия отводится определяющая роль в патогенезе СВО.

Мы исследовали влияния продуктов механического повреждения миокарда, LPS и их сочетания на эндотелиальные клетки вены человека (HUVEC).

Выяснено, что в ответ на цитозольную фракцию кардиомиоцитов (ЦФК), моделирующую механическое повреждение миокарда, эндотелиальные клетки HUVEC увеличивают продукцию провоспалительных цитокинов. При этом 2% ЦФК, содержащая Hsp70 - 0,204 нг/мл, для эндотелиальных клеток явилась более сильным стимулом к продукции IL-6 и IL-8 по сравнению с умеренными концентрациями эндотоксина.

Ключевые слова: эндотелиоциты, патогены, продукты повреждения клеток, цитокины

Авторы:

Матвеева Вера Геннадьевна – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, г. Кемерово, Россия

Головкин Алексей Сергеевич – к.м.н., заведующий отделом экспериментальной и клинической кардиологии, заведующий лабораторией клеточных технологий ФГБУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, г. Кемерово, Россия

Антонова Лариса Валерьевна – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, г. Кемерово, Россия

Кудрявцев Игорь Владимирович – к.б.н., старший научный сотрудник НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург

Иванов Сергей Васильевич – д.м.н., зав. лабораторией реконструктивной хирургии мультифокального атеросклероза ФГБУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, г. Кемерово, Россия

Григорьев Евгений Валерьевич – д.м.н., профессор, зам. Директора НИИ ФГБУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, г. Кемерово, Россия

Артымук Наталья Владимировна – профессор, д.м.н., заведующая кафедрой акушерства и гинекологии №2 ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, кафедра акушерства и гинекологии №2, Кемерово, Россия

Тришкин Алексей Геннадьевич – д.м.н., ассистент кафедры акушерства и гинекологии №2 ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, кафедра акушерства и гинекологии №2, Кемерово, Россия

Бикметова Екатерина Сергеевна – аспирант кафедры акушерства и гинекологии №2 ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, кафедра акушерства и гинекологии №2, Кемерово, Россия

Адрес для переписки:

Матвеева Вера Геннадьевна
научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН
650002, Россия, г. Кемерово, Сосновый бульвар 6
Тел.: 8 (908) 947-49-16.
E-mail: matveeva_vg@mail.ru

Поступила 05.12.2013

Принята к печати 23.12.2013

© Матвеева В.Г. и соавт., 2014

Введение

Развитие системного воспалительного ответа (СВО) у кардиохирургических пациентов осложняет течение раннего послеоперационного периода и зачастую определяет исход операции. При этом СВО изначально протекает по типу «стерильного воспаления», но в ряде случаев может происходить присоединение инфекционного компонента.

Большое значение в формировании воспалительного ответа в раннем послеоперационном периоде играет высвобождение из тканей эндогенных ассоциированных с повреждением молекулярных паттернов (DAMPs) [4, 6]. TLRs способны распознавать как патогены микроорганизмов, так и DAMPs. Так HMGB-1 или амфотерин является лигандом для TLR2 и TLR4, белок теплового шока 60 (Hsp 60) и Hsp 70 – для TLR2, TLR4 и CD14 [8, 12]. Результатом их взаимодействия с TLRs является активация синтеза воспалительных регуляторных субстанций, включая провоспалительные цитокины.

TLRs экспрессируются как на клетках иммунной системы, так и на эндотелиальных клетках различного типа (эндотелий венозных и артериальных сосудов) [11]. Согласно современным представлениям, эндотелий выполняет не только барьерную функцию, но и является активным эндокринным, аутокринным и паракринным органом. Способность синтезировать провоспалительные цитокины (IL-8, IL-1 β и IL-6) и экспрессировать адгезионные молекулы позволяет эндотелиальным клеткам участвовать в реакциях врожденного иммунитета [5]. К уникальным характеристикам, определяющим быстрое и выраженное влияние эндотелия на многие процессы в организме, является большая площадь эндотелиальной выстилки и диффузная рассеянность по всем органам и тканям. Поэтому не случайно многие ведущие ученые указывают на ключевую и определяющую роль генерализованной активации эндотелия в патогенезе СВО [1, 2, 3]. По определению И.Н. Лейдермана СВО – это симптомокомплекс, характеризующий выраженность воспалительной реакции в системе эндотелиоцитов [3].

Во время кардиохирургической операции в условиях искусственного кровообращения на организм действует множество повреждающих факторов, таких как ишемия/реперфузия, механическое повреждение, токсическое действие лекарственных препаратов и т.д. Некоторые специфические операции на сердце сопровождаются выраженным механическим повреждением тканей миокарда на отдельных этапах оперативного вмешательства.

Известны интересные особенности влияния LPS на различные типы эндотелиальных клеток [10, 11]. Однако остается не изученным вопрос

воздействия на эндотелий продуктов механически поврежденных тканей столь актуальный в хирургии и травматологии.

Поэтому целью нашего исследования стало изучение влияния продуктов механического повреждения миокарда, LPS и их сочетания на эндотелиальные клетки человека (HUVEC).

Материалы и методы

Моделью механически поврежденных тканей миокарда стала цитозольная фракция кардиомиоцитов человека, приготовленная без применения химических реагентов и ферментов. В сравнении и для оценки комбинированного влияния эндотоксина мы использовали липополисахарид (LPS) – основной компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий.

Получение гомогената ушка передсердия

Работа была одобрена Локальным этическим комитетом с оформлением информированного согласия пациентов. Резекция ушка левого предсердия была выполнена по медицинским показаниям и являлась необходимым этапом оперативного вмешательства. Полученный биоптат непосредственно в операционной помещали в жидкий азот и в дальнейшем хранили при –140 °С.

Гомогенат клеток готовили в асептических условиях при помощи механического растирания биоптата ткани ушка левого предсердия в гомогенизаторе Потера с добавлением стерильного PBS. Полученную взвесь центрифугировали при 4 °С со скоростью 1000 g в течение 15 мин, супернатант аликвотировали и замораживали при –70 °С до использования.

Непосредственно перед использованием супернатант размораживали, доводили до нужной концентрации культуральной средой, фильтровали через стерильный мембранный фильтр с размером пор 0,2 мкм, таким образом, получая цитозольную фракцию поврежденных кардиомиоцитов человека (ЦФК). В экспериментах использована 1% ЦФК в 1 мл которой содержится 61,5 мкг ткани ушка предсердия; 2% ЦФК – 123 мкг ткани предсердия/мл, соответственно в 5% – 307,5 мкг ткани/мл.

Определение содержания Hsp70 в ЦФК

Для определения концентрации Hsp70 в приготовленной ЦФК использовали набор для твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) Hsp70 High Sensitivity EIA Kit (Assay Disigns, USA).

Процедуру выполнения ИФА проводили по инструкции предлагаемой производителем. Для измерения оптической плотности использовали ридер «Униплан» (Россия).

Определение относительного количества погибших клеток методом проточной цитометрии с использованием пропидия йодида (PI)

Культуру 2 пассажа HUVEC инкубировали в питательной среде при 37° и 5% CO₂, а также с добавлением стимуляторов: ЦФК 1%, 2% и 5% и LPS 1 нг/мл, 2 нг/мл и 5 нг/мл. Через 6, 12 и 24 часов культивации клетки снимали с поверхности пластика трипсином, который после отделения клеток связывали фетальной бычьей сывороткой. Далее клетки отмывали избытком PBS и окрашивали PI. Исследование проводили на проточном лазерном цитометре FACS Calibure.

Определяли относительное количество PI-позитивных клеток среди всей популяции. PI-позитивные клетки расценивались, как погибшие некрозом или находящиеся в стадии позднего апоптоза.

Получение и культивирование HUVEC

Пуповины для выделения эндотелиальных клеток HUVEC забирали после благополучного родоразрешения от неосложненной беременности. От рожениц было получено информированное согласие на участие в исследовании. Эндотелиальные клетки из пупочной вены человека (HUVEC) выделяли согласно адаптированному протоколу Jaffe et al. (1973). Последующее культивирование клеток проводили с использованием наборов Endothelial Cell Culture medium Kit (BD Bioscience, USA). В экспериментах со стимуляцией использовали культуру HUVEC второго пассажа. Количество CD146⁺CD45⁻ клеток в культуре HUVEC составило 84,9%.

В качестве источника липополисахарид-связывающего белка (LBP) и sCD14 в среду было до-

бавлено 2% термоинактивированной сыворотки человека АВ(IV)Rh- [9].

Определение содержания цитокинов в культивационной среде

Для изучения цитокинпродуцирующей функции клеток объем культивационной среды был забран через 6, 12, и 24 часов инкубации без- и с добавлением стимуляторов, заморожен и хранился при - 40 °С до исследования.

Определение уровня цитокинов в среде выполнено с использованием набора CBA Inflammation Kit, позволяющем в 50 мкл среды определять одновременно 6 различных цитокинов (IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, TNFα, IL-12). Пробоподготовку и настройку прибора FACS Calibure осуществляли по протоколу фирмы производителя.

Для этого готовили предлагаемые концентрации стандартов цитокинов. Смешивали равные объемы бус с адсорбированными на их поверхности антителами к цитокинам. В пробирки вносили по 50 мкл подготовленных бус, исследуемых проб либо стандартов и реагента для детекции (Human PE detection reagent). Пробирки инкубировали 3 часа при комнатной температуре в защищенном от света месте. После инкубации пробы однократно отмывали промывочным буфером (Wash buffer) с последующим центрифугированием. Супернатант осторожно аспирировали и вносили 300 мкл промывочного буфера для дальнейшего исследования на проточном цитометре. По калибровочному графику проведен расчет концентраций исследуемых цитокинов в культивационной среде.

Проведено 5 независимых экспериментов

Статистический анализ выполнен в программе Statistica 6.0 с использованием критерия

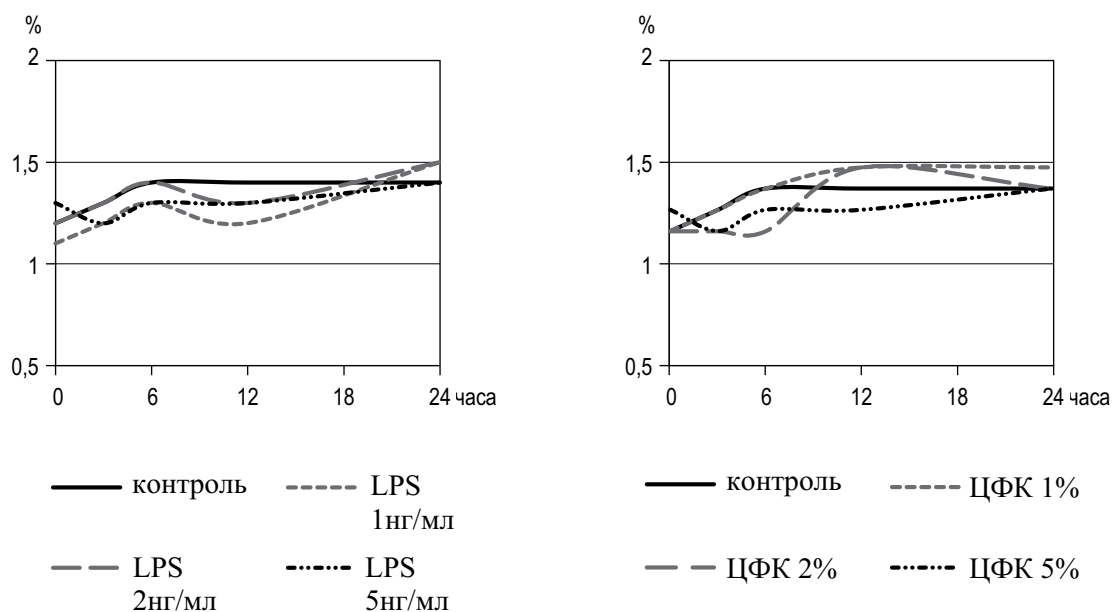


Рисунок 1. Динамика относительного количества PI⁺ HUVEC в процессе инкубации с различными концентрациями стимуляторов

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СРЕДЕ В ТЕЧЕНИЕ 24-ЧАСОВОЙ ИНКУБАЦИИ HUVES СО СТИМУЛЯТОРАМИ (Me (Q₂₅-Q₇₅))

Группы	IL-8 (пг/мл)			IL-6 (пг/мл)			IL-1β (пг/мл)		
	6 ч	12 ч	24 ч	6 ч	12 ч	24 ч	6 ч	12 ч	24 ч
контроль	332,4 (321,7-343,0)	612,6 (55,5-630,2)	1149,4 (1143,2-1158,2)	14,5 (12,6-16,37)	30,1 (29,1-31,1)	56,2 (52,4-65,5)	1,65 (1,54-1,78)	1,76 (1,47-2,24)	1,83 (1,76-2,41)
LPS 1 нг/мл	484,0* (431,3-498,1)	827,0*.* (635-832,1)	1353,7* (1247,4-1431)	15,4** (13,1-18,3)	31,7*.* (30,3-32,5)	49,5 (40,5-59,9)	1,71 (1,33-2,05)	1,70 (1,54-1,83)	2,12 (1,47-4,49)
ЦФК 2%	619,5* (425,4-734,4)	931,8* (668,6-1152,6)	1405,9* (1217,1-1807,4)	17,7* (13,5-19,1)	33,7* (31,4-33,7)	51,8 (41,4-57,8)	1,54 (1,47-1,95)	1,54 (1,44-1,69)	1,69 (1,62-2,27)
Совместно ЦФК 2% и LPS 1 нг/мл	542,3*.* (519,1-543,7)	878,4*.* (836,8-902,3)	1575,6*.* (1509,7-1756,4)	17,7* (12,8-21,5)	34,2*.* (32,4-37,9)	59,8 (46,2-85,2)	1,75 (1,62-1,90)	1,69 (1,69-1,70)	1,85 (1,83-2,05)

Примечание. * – p < 0,03 по сравнению с контролем; ** – p < 0,03 по сравнению с ЦФК; # – p < 0,03 по сравнению с LPS.

Wilcoxon для парного сравнения. Данные представлены в виде медианы (Me), 25% и 75% квартилей (Q₂₅-Q₇₅) выборок показателей.

Результаты

Изучение цитотоксичности ЦФК по отношению к эндотелиоцитам

В состав цитозольной фракции гомогената кардиомиоцитов входит большое количество компонентов, которые, в зависимости от концентрации, могут обладать различными цитотоксическими свойствами. На данном этапе предварительного определения цитотоксичности ЦФК на HUVES, был выполнен один эксперимент.

Количество клеток погибших некрозом или находящихся в поздней стадии апоптоза мы оценивали по относительному содержанию PI⁺ клеток.

На культуру эндотелиальных клеток из пуповины вены человека (HUVES) стимуляторы не оказывали цитотоксического действия. Содержания PI⁺ клеток в культуре HUVES на протяжении 24 часов культивации в присутствии различных концентраций стимуляторов оставалось стабильным (1,1-1,5%) и не отличалось от контроля (рис. 1).

Содержание Hsp70 в ЦФК

Концентрация Hsp70 в ЦФК составила 10,2 нг/мл, что превышало содержание этого анализа в сыворотке крови пациентов перед операцией* более чем в 100 раз.

Для эксперимента нами выбрана 2% ЦФК с концентрацией Hsp70 0,204 нг/мл, что в 3,4 раза выше среднего содержания в сыворотке крови пациентов до оперативного вмешательства.

Влияние LPS, ЦФК и их комбинации на продукцию IL-8, IL-1β и IL-6 эндотелиальными клетками HUVES

На протяжении всего периода наблюдения эндотелиальные клетки HUVES в ответ на умень-

шенные концентрации LPS и 2%ЦФК, а так же их совместное воздействие реагировали достоверным увеличением концентрации IL-8 в среде по сравнению с контрольными пробами (табл. 1). Усиление продукции IL-6 под влиянием изолированной ЦФК и ее комбинации с LPS зарегистрировано через 6 и 12 часов инкубации, а в ответ на LPS через 12 часов. На протяжении изучаемого периода содержания IL-1β достоверно не различалось между стимуляторами и контролем.

Воздействие на HUVES ЦФК приводило к более высокому синтезу IL-6 (на 6 и 12 часу стимуляции) и IL-8 (через 12 часов) по сравнению с LPS.

Продукция цитокинов в ответ на совместное воздействие LPS и ЦФК не отличалась от стимуляции одной ЦФК, но была достоверно выше изолированного влияния LPS на синтез IL-8 и IL-6.

Обсуждение

Под воздействием различных неблагоприятных факторов достаточной силы (механическое повреждение, инфекционные патогены, иммунные комплексы, обменные нарушения и т.д.) может происходить повреждение эндотелия с развитием его дисфункции. Поэтому было проведено исследование цитотоксических свойств ЦФК в отношении HUVES, которое не зарегистрировало цитотоксичности 1%, 2% и 5% ЦФК. Следовательно, данные концентрации ЦФК не вызывают повреждения эндотелиальных клеток.

Поскольку вовлечение эндотелия в СВО является ключевым моментом перехода защитной реакции в патологическую [1], было исследовано влияние продуктов механического повреждения миокарда на цитокинпродуцирующую функцию эндотелиальных клеток. Воспалительный ответ эндотелиоцитов на LPS тесно связан острофазным липополисахарид-связывающим белком (LBP) и sCD14 [9], поэтому изначально в культивационную среду была добавлена термоинак-

* По результатам ранее проведенных нами исследований содержание Hsp70 в сыворотке крови 18 пациентов до операции АКШ соответствовало 0,060 (0,029-0,087) нг/мл (неопубликованные данные).

тивированная человеческая сыворотка, которая включает в себя эти компоненты.

В ЦФК была определена концентрация внеклеточного Hsp70, который является эндогенным сигналом тревоги и активатором иммунной системы [4]. По данным литературы, немедленно после операции АКШ в сыворотке крови пациентов регистрируется значительное увеличение содержания Hsp70 с его последующим резким снижением практически до исходных значений. Кинетика Hsp 70 хорошо коррелирует с концентрацией IL-6 и манифестацией воспалительного ответа в послеоперационном периоде [7].

Механически поврежденная ткань миокарда может являться источником внеклеточного Hsp70 и об этом свидетельствует его высокое содержание в приготовленной ЦФК.

Культура HUVEC под влиянием ЦФК, LPS и их комбинации увеличивала продукцию IL-8 и IL-6. Однако 2% ЦФК стимулировала более высокую выработку этих цитокинов по сравнению с LPS 1 нг/мл. Следовательно, для эндотелиальных клеток продукты механического повреждения миокарда могут служить достаточным

стимулом к синтезу провоспалительных цитокинов, который по силе превосходит умеренные концентрации эндотоксина.

Не зарегистрировано потенцирования эффектов совместного воздействия ЦФК и LPS на эндотелиальные клетки.

Таким образом, механически поврежденный миокард может являться источником Hsp70 и достаточным стимулом для активации эндотелиальных клеток. Большая площадь эндотелиальной поверхности, активно включаясь в воспалительный процесс, синтезирует ряд биологически активных веществ и цитокинов IL-8 и IL-6, привлекая и активируя лейкоциты, что способствует усилению воспалительного ответа.

Заключение

Продукты механического повреждения миокарда могут являться активирующим фактором для эндотелиоцитов, сравнимым с воздействием умеренных концентраций эндотоксина.

Список литературы / References

1. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Юрченко Л.Н. Системное воспаление с позиции теории типового патологического процесса // Цитокины и воспаление. 2007. Т. 6, № 4. С. 9-21. [Gusev E.Yu., Chereshevnev V.A., Yurchenko L.N. Sistemnoe vospalenie s pozitsii teorii tipovogo patologicheskogo protsessa [Systemic inflammation with position of theory of the pathological process]. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2007, Vol. 6, no. 4, pp. 9-21.]
2. Кирсанова А.К. Механизмы нарушения функции эндотелия сосудов при септических состояниях // Анестезиология и реаниматология. 2003. № 6. С. 72-75. [Kirsanova A.K. Mekhanizmy narusheniya funktsii endoteliya sosudov pri septicheskikh sostoyaniyakh [Mechanisms of endothelial dysfunction in septic conditions]. *Anesteziologiya i reanimatologiya = Anesthesiology and Intensive Care*, 2003, Vol. 6, pp. 72-75.]
3. Лейдерман И.Н. Синдром полиорганной недостаточности (ПОН). Метаболические основы // Вестник интенсивной терапии. 1999. № 2. С. 3. [Leyderman I.N. Sindrom poliorgannoy nedostatochnosti (PON). Metabolicheskie osnovy [Multiple organ dysfunction syndrome (MODS). Metabolic basis]. *Vestnik intensivnoy terapii = Bulletin of Intensive Therapy*, 1999, Vol. 2, p. 3.]
4. Пинегин Б.В., Карсонова М.И. Алармины – эндогенные активаторы воспаления и врожденного иммунитета // Иммунология. 2010. № 5. С. 246-255. [Pinegin B.V., Karsonova M.I. Alarminy – endogennye aktivatory vospaleniya i vrozhdennoogo immuniteta [Alarminy - endogenous activators of inflammation and innate immunity]. *Immunologiya = Immunology*, 2010, Vol. 5, pp. 246-255.]
5. Фрейдлин И.С., Старикова Э.А. Эндотелиальная клетка как мишень действия бактерий и их компонентов // Медицинский академический журнал. 2010. Т. 10, № 4. С. 95-106. [Freydlin I.S., Starikova E.A. Endotelial'naya kletka kak mishaen' deystviya bakteriy i ikh komponentov [Endothelial cell as a target of bacteria and their components]. *Meditinskiy akademicheskij zhurnal = Medical Academic Journal*, 2010, Vol. 10, no. 4, pp. 95-106.]
6. Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *Leukoc Biol.* 2007, Vol. 81, no. 1, pp. 1-5.
7. Dybdahl B., Wahba A., Lien E., Flo T., Waage A., Qureshi N., Sellevold O., Espevik T., Sundan A. Inflammatory response after open heart surgery : release of heat-shock protein 70 and signaling through toll-like receptor-4. *Circul.*, 2002, Vol. 105, pp. 685-690.
8. Kono H., Rock K.L. How dying cells alert the immune system to danger. *Nat Rev Immunol.*, 2008, Vol. 8, no. 4, pp. 279-289.
9. Pugin J., Cornelia-C., Maly S., Leturco D., Moriarty A., Ulevitch R., Tobias P. Lipopolysaccharide activation of human endothelial and epithelial cells is mediated by lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14. *Immunol.*, 1993, Vol. 90, pp. 2744-2748.
10. Wang W., Deng M., X. Liu, Wen Ai, Qizhu Tang, Jinyue Hu. TLR4 activation induces nontolerant inflammatory response in endothelial cells. *Inflammation*, 2011, Vol. 34, Issue 6, pp. 509-518.

11. Zeuke S., Ulmer A., Kusumoto S., Katus H., Heine H. TLR4-mediated in ammatory activation of human coronary artery endothelial cells by LPS. *Cardiovascular Research*, 2002, Vol. 56, pp. 126-134.
12. Zhou J., An H., Xu H., Liu S., Cao X. Heat shock up-regulates expression of Toll-like receptor-2 and Toll-like receptor-4 in human monocytes via p38 kinase signal pathway. *Immunol.*, 2005, Vol. 114, no. 4, pp. 522-530.

Meditsinskaya Immunologiya/ Medical Immunology
2014, Vol. 16, No 4, pp. 361-366

ORIGINAL ARTICLES

IMPACT OF MECHANICAL MYOCARDIAL INJURY PRODUCTS, LPS AND THEIR COMBINATION ON HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELLS

Matveeva V.G.^a, Golovkin A.S.^a, Antonova L.V.^a, Kudryavtsev I.V.^b, Ivanov S.V.^a, Grigoriev E.V.^a, Artymuk N.V.^c, Trishkin A.G.^c, Bikmetova E.S.^c

^a Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Kemerovo, Russian Federation

^b Research Institute for Experimental Medicine under the NorthWest Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Saint-Petersburg, Russian Federation

^c Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. Complicated systemic inflammatory response (SIR) often determines the outcome in patients after cardiac surgery. Systemic endothelial activation plays the most important role in SIR pathogenesis.

We have studied the impact of mechanical myocardial injury products, LPS and their combination on human umbilical vein endothelial cells (HUVEC).

We have found that HUVEC increase the production of proinflammatory cytokines in response to cardiomyocyte cytosolic fraction responsible for mechanical injury modeling. 2% cytosolic fraction containing 0.204 ng/mL of Hsp70 was a greater stimulus for endothelial cells to produce IL-6 and IL8 than moderate endotoxin concentrations. (*Med. Immunol.*, 2014, vol. 16, N 4, pp 361-366)

Keywords: endothelial cells, pathogens, products of damaged cells, cytokines.

Authors:

Matveeva V.G., Researcher, Cell Technology Laboratory, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Kemerovo, Russia

Golovkin A.S., PhD, MD, Head of department, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Kemerovo, Russia

Antonova L.V., PhD, Research fellow, Cell Technology Laboratory, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Kemerovo, Russia

Kudryavtsev I.V., PhD, Researcher, Research Institute for Experimental Medicine under the NorthWest Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Saint-Petersburg, Russia

Ivanov S.V., PhD, MD, head of laboratory, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Kemerovo, Russia

Grigoriev E.V., PhD, Professor, MD, Deputy Director, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Kemerovo, Russia

Artymuk N.V., PhD, Prof., Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, number 2, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia

Trishkin A.G., PhD, Assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology, number 2, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia

Bikmetova E.S., Postgraduate of the Department of Obstetrics and Gynecology, number 2, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia

Address for correspondence:

Matveeva Vera G.

Researcher, Cell Technology Laboratory, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences

650002, , Kemerovo, Russia, 6 Sosnovy blvd

Phone: 8 (908) 947-49-16.

E-mail: matveeva_vg@mail.ru

Received 05.12.2013

Accepted 23.12.2013