

УДК 591.18+ 616.126.52–007.17–089–12:616–001.8

© И. В. Заднипрный, Т. П. Сатаева, 2013

## МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ИХ КОРРЕКЦИИ

**И. В. Заднипрный, Т. П. Сатаева\***

*Кафедра нормальной анатомии человека (зав.– д.мед.н., проф. Пикалюк В. С.), \*кафедра медицинской биологии (зав.– д.мед.н., доц. Кутя С. А.), ДУ «Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского». 95006 Украина, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7. E-mail: tanzcool@online.ua*

### MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN PERINATAL HYPOXIA AND THEIR POSSIBLE CORRECTION

I. V. Zadnipryany, T. P. Sataieva

#### SUMMARY

We revealed that in the hearts of newborn rats during intrauterine hypoxia occur reversible but in severe cases irreversible changes in cardiomyocytes (both conducting and contractile) and the microcapillaries around them. That is manifestation not only of hypoxic damage to the heart muscle but evidence of ischemic evolved myocardial damage. Lipin drug has the ability to provide anti-hypoxic, anti-oxidant effects by stabilizing the cell membrane permeability, calcium channel protection from the action of lipid peroxidation products, i.e. acts on the elimination of dismetabolism in the heart muscle. Its ability to accumulate in ischemic tissues can put this drug into a list of advanced remedies with a cardioprotective effect.

### МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНІ ЗМІНИ ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНІЙ ГІПОКСІЇ ТА МОЖЛИВІ ШЛЯХИ ЇХ КОРЕКЦІЇ

I. В. Задніпрний, Т. П. Сатаєва

#### РЕЗЮМЕ

У серці новонароджених щурят в умовах внутрішньоутробної гіпоксії розвиваються оборотні, а у важких випадках – незворотні зміни як в кардіоміоцитах (провідних і скорочувальних), так і в судинах гемомікроциркуляторного русла, що є проявом не тільки гіпоксичного ушкодження серцевого м'яза, але й свідченням ішемічного характеру, розвинулися ушкодження міокарду. Здатність Ліпіна надавати антигіпоксичний, антиоксидантний ефекти за рахунок стабілізації проникності клітинних мембран, захисту кальцієвих каналів від дії продуктів ПОЛ, тобто ліквідації дісметаболізма серцевого м'яза, його властивість накопичуватися в ішемізованих тканинах ставлять цей препарат в ряд перспективних засобів з кардіопротекторною дією.

**Ключевые слова:** новорожденные, антенатальная гипоксия, ишемия, кардиомиоциты, антигипоксантаы.

В настоящее время проблема перинатальной гипоксии и осложнений, связанных с ней, широко обсуждается в педиатрической научной литературе. Несмотря на то, что причины, приводящие к развитию гипоксии в антенатальном, интранатальном и раннем неонатальном периодах имеют различный характер, существует тесная этиопатогенетическая связь между гипоксическими состояниями плода и новорожденного. Этим во многом обусловлено широкое использование в акушерстве и неонатологии термина «перинатальная гипоксия». Изучению этиологии, патогенеза, клинических проявлений, методов профилактики и лечения перинатальной гипоксии посвящено большое количество научных исследований, как в нашей стране, так и за рубежом [2, 9, 10, 13, 17].

Своеобразие текущего момента является то, что улучшение качества перинатальной и неонатальной помощи в нашей стране происходит на фоне постоянного ухудшения состояния здоровья беременных женщин и рожениц, снижения рождаемости [2]. По этим причинам снижение перинатальной смертности сопровождается увеличением относительного коли-

чества детей, у которых выявляется патология как следствие перенесенной перинатальной гипоксии.

В ходе исследований последних лет доказано, что действие перинатальной гипоксии у части новорожденных приводит к развитию ишемии сердечной мышцы, которая реализуется снижением сократительной способности миокарда, нарушениями ритма, проводимости и развитием сердечно-сосудистой недостаточности, что в тяжелых случаях предопределяет летальный исход заболевания [2, 6, 7].

Целью данного обзора является обобщение данных о морфо-функциональных изменениях миокарда, происходящих во время антенатальной гипоксии, а также анализ использования наиболее перспективных и безопасных гипоксантов.

Основой продолжительного снижения контрактильности постгипоксического миокарда принято считать реперфузионное повреждение [4, 8, 11]. Доказано, что миокард в стадии восстановления кровотока даже после кратковременной, обратимой ишемии, проявляет длительное угнетение контрактильной функции – так называемый «miocardial stunning», что является следствием ряда ультраструктурных, мета-

болических, сосудистых, электрофизиологических и иных нарушений [1, 2, 7, 12]. Ишемия и реперфузия миокарда приводят к выраженным нарушениям процессов энергообразования и повреждению клеточных структур кардиомиоцитов, выраженность которых значительно возрастает в условиях восстановления снабжения клетки кислородом [3, 5, 6, 8]. Низкое обеспечение миокарда кислородом и энергетическими субстратами сопровождается недостаточным вымыванием потенциально опасных метаболитов – лактата, ионов водорода, углекислого газа, а также увеличенным выходом аденозина и ионов калия из клетки [1, 9]. Фактически эти метаболические последствия ишемии направлены на защиту клеточного метаболизма и призваны предохранять ресурсы клеток от быстрого использования [3, 11].

Метаболизм глюкозы в миокарде представлен двумя основными компонентами – гликолизом и окислительным фосфорилированием. В ходе гликолиза образование аденозинтрифосфата (АТФ) происходит в анаэробных условиях но при этом образуется всего около 5% от всего количества АТФ. Окислительное фосфорилирование происходит в митохондриях и требует большого количества кислорода для образования молекул АТФ [7, 8]. Переключение же на анаэробный метаболический путь приводит к тому, что вследствие преобразования в АДФ и АМФ с ограниченной возможностью рефосфорилирования, запасы АТФ снижаются [1]. При более тяжелом или более продолжительном дефиците кислорода поддержка достаточных уровней богатых энергией фосфатных соединений, в особенности АТФ, становится невозможной. Большая часть энергозависимых процессов замедляется или прекращается [1, 7, 10, 11]. Это ведет к более глубоким нарушениям функции клеток, а, следовательно, неспособности поддерживать ионное равновесие и, в конечном результате, к гибели клетки.

Ключевым звеном в обеспечении нормального уровня функционирования клетки являются ее мембраны, от строения которых зависит выполнение барьерной функции и активность её ферментных систем [18]. Ишемическое повреждение также сопровождается нарушением целостности мембран и потерей ими ферментов. Как известно, МВ-фракция креатинфосфокиназы (КФК) располагается внутриклеточно, поэтому повышение ее активности в плазме следует рассматривать как проявление нарушения целостности мембран кардиомиоцитов. Увеличение активности этого изофермента в сыворотке крови коррелирует с наличием очага поражения миокарда, а при продолжительном динамическом наблюдении – с размерами зоны некроза и высоким риском развития сердечно-сосудистой недостаточности. Исследование исходного уровня МВ-КФК у новорожденных крысят с ишемией миокарда выявило значительное повышение ее уровня (более чем в 5 раз) в срав-

нении со здоровыми особями. Это коррелировало с наличием морфологических маркеров нарушения структуры мембран как самих кардиомиоцитов, так и их органелл, что проявлялось в деструкции клеточных оболочек, мембран митохондрий и других органелл, признаков нарушения проницаемости мембран – появлением в цитоплазме липидных включений и электронноплотных образований, рассматриваемых нами как признаки накопления ионов  $Ca^{2+}$  внутри кардиомиоцитов и образования ригорных комплексов [1, 12, 18].

Исходя из вышеуказанного, в условиях гипоксии в сердце новорожденных крысят происходила структурная перестройка. Прежде всего, это касалось клеточных элементов сердца. Так, структура миофибрилл сократительных кардиомиоцитов подвергалась значительным изменениям. Эти изменения проявлялись преимущественно в вакуолярном и литическом типах гипоксических повреждений. Поперечная исчерченность миофибрилл была нарушена, что создавало картину разволокненности. В продольном сечении сократительных кардиомиоцитов значительное число таких поврежденных миофибрилл образовывало миофибриллоподобную массу. Эти нарушения имели различную степень выраженности от минимальных до значительных по глубине и тяжести. Наиболее чувствительными к действию повреждающего фактора были участки правого желудочка. Нарушения, регистрируемые в проводящих кардиомиоцитах, были аналогичными изменениям сократительных клеток сердца [6, 7, 9, 10].

Нарушения митохондрий и миофибрилл в них происходило в основном по смешанному вакуолярно-литическому типу. Миофибриллы имели разволокненный вид, митохондрии были различными по размерам. В саркоплазме выявлялись липидные включения. В сократительных кардиомиоцитах отмечено появление зон пересокращений миофибриллярного аппарата в виде так называемых «ригорных». Ишемизированные, но мало измененные клетки сердца, часто именуется в литературе как «колеблющиеся», так как находятся в состоянии электрической нестабильности. Основным ультраструктурным проявлением этого является феномен контрактуры миофибрилл, зарегистрированный при проведении электронномикроскопического исследования у экспериментальных животных, что является безусловным подтверждением не только гипоксического, но и ишемического характера повреждения клеток [6, 7, 9]. Последнее является патогномичным признаком нарушения проницаемости сарколеммы и перемещения ионов  $Ca^{2+}$  из межклеточного пространства внутрь кардиомиоцита, что указывает на развитие ионного дисбаланса.

Свидетельством этого является также появление электронноплотных включений в митохондриях и относительное расширение саркоплазматического

ретикулума [6, 7]. Именно такие клетки могут служить источником формирования нарушений ритма [11, 12]. Подтверждением последнего является изменение геометрии вставочных дисков кардиомиоцитов [10]. Они имели несколько расширенные промежутки, что на первый взгляд напоминало адгезивные фасции, а в некоторых случаях и десмосомы. Расширение вставочных дисков наблюдалось, прежде всего, в правом желудочке, значительно реже – в левом. Считается, что именно изменение формы и структуры вставочного диска является решающим эстетбилизментом изменения внутриклеточного метаболизма проводящих кардиомиоцитов и развития стойких очагов нарушений ритма [7, 17].

Это приобретает большое значение, если учесть существующее мнение, что снижение порога возбудимости проводящих клеток сердца, вследствие их истощения, приводит к передаче всех «рычагов» правления нексусу [7, 9]. Это следует трактовать как адаптацию сердечных клеток к условиям гипоксии, попытку неповрежденного кардиомиоцита «отдалиться», защитить себя от контактов с дефектной миокардиальной клеткой, и тем самым воспрепятствовать перемещению ионов из патологически измененной клетки. Это уменьшает возможность обмена между ними недоокисленными продуктами, снижает возможность проведения электрического импульса, вызывающего аритмию. Известно, что нарушение структуры и формы вставочного диска изменяет биоэлектрические взаимоотношения в сердце [15].

Таким образом, вследствие неравномерного распространения волн де- и реполяризации становится вполне понятным появление нарушений проводимости и ритма при ишемии, которое находит свое клиническое отражение у новорожденных с гипоксическим нарушением миокарда [2, 15, 17, 18].

Следует отметить, что значительные изменения среди органелл сократительного кардиомиоцита происходили в митохондриях. Они располагались в субсарколеммальном пространстве, в саркоплазме вокруг ядра клетки, а также в саркоплазматическом пространстве среди миофибрилл, где практически не образовывали продольных столбиков. Межмиофибрилярные митохондрии у большинства клеток располагались вблизи зоны межклеточных контактов. В некоторых кардиомиоцитах комплексы имели субсарколеммальное расположение, что, указывает на попытку клеток сердца максимально приблизиться к источнику кислорода [6, 8, 12, 16].

В основе любого патологического процесса лежит нарушение структурно-функциональной организации клеток, и в первую очередь, их мембран. Образованию и накоплению токсических веществ в нормальной клетке препятствует действие природных антиоксидантов, к которым относят и фосфолипиды. Значение последних в метаболизме кардиомиоцитов

подтверждено исследованиями на клеточном уровне. Так, изъятие липидных фракций из митохондрий приводит к нарушению их нормального функционирования, о чем свидетельствует прекращение процессов окислительного фосфорилирования. В свою очередь, введение фосфолипидов восстанавливает дыхание в митохондриях [11].

Липосомный препарат липин – это лекарственное вещество природного происхождения, представляющее собой лиофилизированный яичный фосфатидилхолин. Выбор препарата обусловлен тем, что липин является мембраностабилизатором, относящимся к структурным антиоксидантам, реализующим свое целенаправленное защитное влияние на оболочки клеток благодаря способности встраиваться в плазматические мембраны [5]. Анализируя влияние липина на активность МВ-фракции КФК при гипоксическом повреждении миокарда новорожденных крысят, следует отметить положительное влияние этого липосомного препарата на ее активность. Физиологический уровень МВ-КФК по окончании лечения с включением липина свидетельствует о нормализации проницаемости сарколеммы кардиомиоцитов, то есть мембраностабилизирующем эффекте препарата. Т.о., клетки сердца в процессе терапии липином приобретали стабильность проницаемости клеточной мембраны, переставали терять внутри-клеточный изoenзим, то есть выходили из состояния ишемии [4].

Исследование сердечной мышцы после терапии липином продемонстрировало восстановление структуры мембран кардиомиоцитов, исчезновение других морфологических признаков нарушения клеточной проницаемости [13]. Кардиопротекторный эффект липина (фосфатидилхолина), вероятно, обусловлен его способностью встраиваться в сарколемму кардиомиоцитов. Как известно, именно фосфатидилхолин располагается на внешней поверхности клеточных мембран. В ряде исследований показано, что в условиях перинатальной гипоксии у новорожденных содержание и соотношение основных классов фосфолипидов в динамике заболевания изменяется в сторону повышения уровня лизофосфатидилхолина при всех вариантах гипоксического воздействия [6]. Это сопровождается одновременным обеднением содержания в мембранах фосфатидилхолина и снижением уровня общих фосфолипидов. Итак, наиболее значимые эффекты, вызываемые липином: антигипоксический – за счет повышения скорости диффузии кислорода из легких в кровь и из крови в ткани (то есть оптимизации процессов тканевого дыхания), нормализация функционального состояния эндотелия, улучшение микроциркуляции и реологии крови, угнетение процессов ПОЛ, повышение активности антиоксидантных систем, уменьшение ацидоза и, конечно же, мембранопротекция [13, 14].

По данным ряда исследователей при моделировании условий гипоксии-ишемии-реоксигенации высокой степенью эффективностью фармакологической кардиоцитопротекции обладало кислород-транспортное соединение – эмульсия перфторана. Средней степенью эффективности обладали раствор аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), раствора кокарбоксилазы, раствора магния сульфата, раствора рибоксина, раствора солкосерила, раствора цитохрома-С и раствора эссенциале. Низкой степенью эффективности обладали раствор аскорбиновой кислоты и раствор карнитина хлорид (левокарнитина) [3, 5, 19, 20].

Наиболее значительную группу веществ, которых можно было отнести к регуляторным антигипоксантам, долгое время составляли неспецифические активаторы ферментных и коферментных систем. Их рассматривали в качестве единственно клинически доступных лекарственных средств этого плана. К ним относятся витамины группы В, тиоловые производные и производные пиримидина. Но даже те из них, которые какое-то время были чрезвычайно популярны, и об успешном клиническом применении которых было выпущено значительное количество публикаций, вряд ли останутся в арсенале реаниматолога, хотя теоретические предпосылки для их внедрения в практику были многообещающими. Так, для превращения никотиламида в НАД необходим ряд реакций направленного синтеза, которые ингибируются недостатком кислорода, а потому окончательный антигипоксический эффект никотиламида невелик и нестабилен [1, 3, 5].

В последнее время обнаружены антигипоксанты, не снижающие температуру тела и потребление  $O_2$ , не стимулирующие глюконеогенеза, почти вдвое уменьшающие гликолиз и не обладающие свойствами антиоксидантов. Механизм их действия неизвестен и пока не может быть связан ни с одним из рассмотренных выше, а защитный эффект существенно превышает эффект антигипоксантов «первого» и «второго» поколения. Таким лекарственным средством может считаться милдронат (Grindex), синтезированный в начале 80-х годов в Институте органического синтеза Латвии. По своей структуре милдронат является синтетическим аналогом предшественника биосинтеза карнитина – гамма-бутиробетаина. Установлено, что, как и карнитин, он участвует в энергетическом обмене клеток [4] и тем самым предупреждает активацию реакций гликолиза, которые доминируют в условиях тканевой гипоксии, а потому обладает цитопротекторным действием. Благоприятное действие милдроната на течение послеоперационного периода при вмешательствах на открытом сердце или головном мозге не вызывает сомнения [5]. Оно особенно четко проявляется в тех случаях, когда его применение начато за 2–3 дня до операции и продо-

ложено после нее. При разовом введении препарат оказывал оптимизирующее действие на систему мозгового кровообращения, когда имеются выраженные нарушения реактивности сосудов головного мозга. Одновременно при нестабильной гемодинамике после разового внутривенного введения Милдроната отмечался отчетливый подъем системного АД и улучшались качественные характеристики кровообращения [5].

Таким образом, в сердце новорожденных крысят в условиях внутриутробной гипоксии развиваются обратимые, а в тяжелых случаях – необратимые изменения как в кардиомиоцитах (проводящих и сократительных), так и в сосудах гемомикроциркуляторного русла, что является проявлением не только гипоксического повреждения сердечной мышцы, но и свидетельством ишемического характера, развившихся повреждений миокарда.

Способность липина оказывать антигипоксический, антиоксидантный эффекты за счет стабилизации проницаемости клеточных мембран, защиты кальциевых каналов от действия продуктов ПОЛ, то есть ликвидации дисметаболизма сердечной мышцы, его свойство накапливаться в ишемизированных тканях ставят этот препарат в ряд перспективных средств с кардиопротекторным действием, таких как милдронат, приводящих к оптимизации энергетического обмена ишемизированного миокарда.

Таким образом, изучение путей коррекции антенатальной гипоксии является по-прежнему актуальной проблемой, в рамках которой целесообразно изучать влияние современных антигипоксантов на миокард в эксперименте, а также возможности их комбинирования для усиления эффекта.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Антиоксиданты, перекисное окисление липидов и рецепторзависимое увеличение концентрации  $Ca^{2+}$  в тромбоцитах человека / Е. В. Негреску, А. В. Лебедев, Г. Н. Балденков, А. В. Мазаев, М. И. Попович // *Вопр. мед. химии.* – 1992. – Т. 38. – № 1. – С. 36–39.
2. Бокерия Е. Л. Перинатальная энцефалопатия как фактор риска развития нарушений ритма / Е. Л. Бокерия, Е. З. Голухова, А. И. Кулямин // *Тез. докл. Конгресса «Детская кардиология 2000».* – М., 2000. – С. 68.
3. Влияние суфана на ультраструктурную организацию и тканевое дыхание миокарда при острой гипоксической гипоксии у крыс / М. М. Середенко, А. И. Назаренко, Е. В. Розова, А. И. Гриневич, П. А. Галенко-Ярошевский, А. В. Уваров, А. И. Ханкочева // *Доповіді Національної Академії Наук України.* – 1995. – № 12. – С. 106–108.
4. Волосовець О. П. Фармакокорекція постгіпоксичних порушень серцево-судинної системи у но-

вонароджених за допомогою препарату мілдронат / О. П. Волосовець, С. П. Кривоустов, А. Я. Кузьменко // Педіатр., акуш. та гінекол.– 1999.– № 4 (374).– С.27–28.

5. Галенко-Ярошевский П. А., Гацуря В. В. Экспериментальные аспекты оптимизации фармакотерапии острой ишемии миокарда.– М.: Медицина, 2000.– 374 с.

6. Заднипрый И. В. Морфология сердца, очаговой ишемии и инфаркта миокарда с применением кардиопротекторов (экспериментально-морфологическое исследование): Автореф. дис.... д. мед. н.– Киев, 1990.– 42 с.

7. Заднипрый И. В., Третьякова О. С. Структурная перестройка миокарда при перинатальной гипоксии в условиях эксперимента / И. В. Заднипрый, О. С. Третьякова // Крымский экспериментальный журнал экспериментальной и клинической медицины.– 2011.– Т.1, № 1 (1).– С. 40–44.

8. Клембовский А. И., Сухоруков В. С. Митохондриальная недостаточность у детей / А. И. Клембовский, В. С. Сухоруков // Архив патологии.– 1997.– № 5.– С. 3–6

9. Кривоустов С. П. Стан серцево-судинної системи у дітей, які перенесли анте- та інтранатальну гіпоксію, і його патогенетична корекція: Автореф. дис. .... д. мед. н. / Київ, 1998.– 32 с.

10. Лейтан Е. Б. Патоморфология и ультраструктура миокарда плодов и новорожденных при асфиксии. Автореф. дис. ... канд. мед. наук.– Новосибирск, 1981.– 16 с.

11. Прахов А. В. Ишемия и инфаркты у новорожденных детей.– Н. Новгород, 1998.– 106 с.

12. Третьякова О. С., Заднипрый И. В. Компенсаторно-приспособительные изменения вставочных дисков клеток сердца новорожденных в условиях перинатальной гипоксии / О. С. Третьякова, И. В. Заднипрый // Таврич. мед.–биол. вестн.–2002.–Т.5.–№ 3.–С. 162–164.

13. Третьякова О. С. Кардиозащита ишемизированного миокарда новорожденных в условиях гипоксии: современные направления / О. С. Третьякова // Ліки України.– 2003.– N 11.– С. 5–10.– Библиогр.: 46 назв.– рус.

14. Третьякова О. С. Корекція дисметаболізму гіпоксично ушкодженого міокарда новонароджених / О. С. Третьякова, С. С. Казак, І. В. Задніпрый // Сучасна педіатрія.– 2006.– № 2 (11).– С. 177–180.

15. Шаров В. Г., Иргашев Ш. Б. Ультраструктура сердца.– Ташкент: Медицина УзССР, 1988.– 209 с.

16. Cowan F. Outcome after intrapartum asphyxia in term infants / F. Cowan // Semin. Neonatol.– 2000.– Vol. 5.– № 2.– P. 127–140.

17. Jennings R. B., Reimer K. A. Lethal myocardial ischemic injury / R. B. Jennings, K. A. Reimer // Amer. J. Pathol.– 1982.– V. 122.– P. 219–231.

18. Jensen A. Dynamics of fetal circulatory responses to hypoxia and asphyxia / A. Jensen, Y. Gamier, R. Berger // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.– 1999.– Vol. 84.– № 2.– P. 155–172.

19. Wickline S. A., Lanza G. M. Molecular imaging, targeted therapeutic and nanoscience / S. A. Wickline, G. M. Lanza // J. Cell Biochem.– 2002.– Vol. 39.– P. 90–97.

20. Wickline S. A., Lanza G. M. Nanotechnology for molecular imaging and target therapy / S. A. Wickline, G. M. Lanza // Circulation.– 2003.– Vol. 107.– P. 10.