

## ФЕНОМЕН «ПРИГОЛОМШЕНОГО» МІОКАРДА У ЩУРІВ В УМОВАХ ПЕРИНАТАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ

ДУ «Кримський державний медичний університет  
ім. С. І. Георгієвського» (м. Сімферополь)

Робота виконана у відповідності з планом науково-дослідних робіт кафедри педіатрії та є складовою частиною комплексної науково-дослідної роботи за темою «Ефективність лікування розповсюджених захворювань у дітей та дорослих на різних етапах реабілітації» (державний реєстраційний номер 01084009231, шифр роботи 10/08).

**Вступ.** Дослідженнями останніх років з'ясовано, що гіпоксичне ушкодження міокарда новонароджених призводить до розвитку ішемії серцевого м'язу, яка реалізується у вигляді зниження його скоротливої функції, порушень ритму і провідності та розвитку серцево-судинної недостатності, яка у важких випадках обумовлює летальний вихід [5, 8, 9].

Чинником тривалого зниження контрактильності міокарда прийнято вважати реперфузійне ушкодження [3, 6, 11]. Міокард, у стадії відновлення кровотоку, навіть після короткочасної, зворотньої ішемії виявляє тривале пригнічення контрактильної функції - так званий «myocardial stunning», що є наслідком черги ультраструктурних, метаболічних, судинних, електрофізіологічних та інших порушень [3, 7, 12].

Міокардіальна ішемія виникає через низьке забезпечення киснем та енергетичними субстратами міокарда, що супроводжується недостатнім вимиванням потенційно небезпечних метаболітів - лактату, іонів водню, вуглекислого газу, а також збільшеним виходом аденозина й іонів калію з клітини [2, 7]. Ці метаболічні наслідки ішемії фактично спрямовані на захист клітинного метаболізму, захищають ресурси клітин від швидкого використання [10, 11].

Ішемія і реперфузія міокарда призводять до виражених порушень процесів енергоутворення й ушкодження клітинних структур кардіоміоцита, особливо після відновлення постачання киснем [4, 6, 10]. Переключення на анаеробні метаболічні шляхи призводить до того, що запаси АТФ знижуються, внаслідок її перетворення в АДФ і АМФ з обмеженою можливістю рефосфорилування [2]. При більш важкому або більш тривалому дефіциті кисню підтримка достатніх рівнів багатих енергією фосфатних з'єднань, особливо АТФ, стає неможливою. Велика частина енергозалежних процесів сповільнюється або зовсім припиняється [2, 6, 9]. Це веде до більш глибоких порушень клітинної функції, нездатності підтримувати йонну рівновагу і, в кінцевому результаті, до загибелі клітини.

Відомо, що ступінь і якість відновлення функції залежать насамперед від тривалості ішемічного періоду [6]. Відновлення енергетичного метаболізму, як і скоротливої функції міокарда в ділянці ішемії після

короткочасної (не більш 3-5 хв.) ішемії відбувається повністю. Більш того, кардіоміоцити набувають підвищеної резистентності до наступного ішемічного впливу [10]. Проте якщо поновлення кровотоку відбувається після періоду тривалої ішемії (через 5-20 хв з моменту виникнення гострої ішемії), то скоротувальна функція серця може відновлятися й в умовах неповного відновлення енергетичних ресурсів клітини, тоді як зникнення біохімічних маркерів ішемії та нормалізацію функції часто спостерігають через години або навіть тижні [6]. Для такого стану в літературі використовується термін "приголомшений" (stunning) або "реперфузований" міокард [3].

**Метою дослідження** було визначення стану серцевого м'язу при гіпоксичному ушкодженні міокарда у щурів, що перенесли гіпоксію у перинатальному періоді.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експериментальне дослідження виконано на 18 щурах-самках лінії Вістар і їхньому потомстві (64). Модель гіпоксії створювалася за відповідною методикою [2]. Тварина розміщувалася в спеціальній камері, що відповідало підйому на висоту 5000 метрів над рівнем світового океану. Гіпоксія створювалася під час вагітності щурів (щоденно по півгодини на протязі всієї вагітності), інтранатально та в перші години життя шляхом застосування гіпобаричної (висотної) моделі, що максимально наближена до хронічної внутрішньоутробної гіпоксії плода та рекомендована для відбору потенційних кардіопротекторів проти ішемічної дії [3].

Перед забоем кожна тварина піддавалася тіопенталовому наркозу, після проведення торако- і перикардіотомії серце витягалось і відразу розміщувалося в кардіоплегічному розчині (0,9% КСІ при температурі 00С, при цьому частина КСІ була у вигляді льоду), чим досягалася зупинка серця в діастолу. Розтин серця проводився з урахуванням розташування магістральних шляхів провідної системи.

З метою виявлення мікроскопічних ознак гіпоксії міокарда були застосовані традиційні гістологічні методики (фарбування парафінових зрізів 8 - 15 мкм гематоксилін-еозіном, по ван Гізон, Лі з подальшим переглядом під мікроскопом NU-5 [виробництва Carl Zeiss, Jena, Germany]). Для виявлення ультраструктурних ознак ушкодження серцевого м'язу у 15 випадках застосовувалася методика ультраструктурного аналізу, де після фіксації секційного матеріалу 5% розчином глютарового альдегіду на 0,1 М розчині фосфатного буферу (рН 7,3-7,4), по-стфіксації OsO<sub>4</sub>, проводки по спиртах зростаючої

концентрації, здійснювалась його заливка у пластичну суміш Epon-Araldit. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультратомі LKB (Швеція). Їх перегляд та фотографування виконували на мікроскопі мікроскопа УЭМВ-100 Б (СРСР), JEM - 100 У (Японія) та JEM - 100 СХ (Японія) при прискорючій напрузі 100 W.

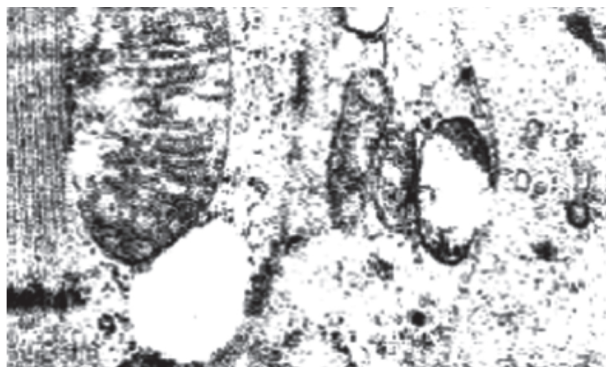
Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

### Результати досліджень та їх обговорення.

Проведені нами експериментальні дослідження гіпоксичного ушкодження серцевого м'язу новонароджених щурів свідчать про розвиток його ішемії. На користь цього свідчать виявлені нами зміни біохімічних показників життєздатності клітин серця.

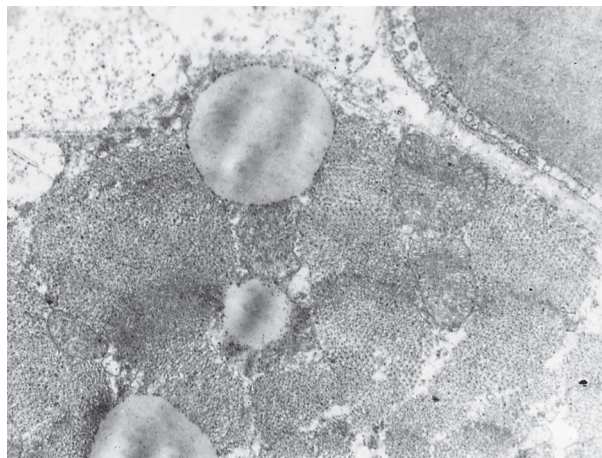
При гіпоксичному ушкодженні серця новонароджених були виявлені ультраструктурні її прояви. Це проявлялося у вигляді мембранолізу сарколеми серцевих клітин, пошкодження їх органел. Серед останніх значних змін зазнавали мітохондрії, які в умовах кисневого дефіциту не тільки мали ознаки руйнації своїх крист, але й втрачали фрагменти мембран, що робило їх енергетично неспроможними (рис. 1). Це, поряд з виходом за межі серцевих клітин кардіоспецифічного ізоферменту, розглядається нами як прояв вторинної мітохондріальної недостатності, що супроводжує тяжкі гіпоксичні ушкодження міокарда новонароджених [9].

Ультраструктурною ознакою ішемічного ушкодження серцевого м'язу, свідченням порушення клітинної проникності, є також виявлення ліпідних включень в кардіоміоцитах, вакуолізація останніх (рис. 2).



**Рис. 1.** Вакулярний тип дистрофії скорочувального кардіоміоцита новонародженого. Скорочувальний кардіоміоцит з ознаками локального ушкодження. Мітохондрії з ознаками руйнації своїх крист, та втратами фрагментів мембран та її лізисом. Електроннограма. 36. x 35500.

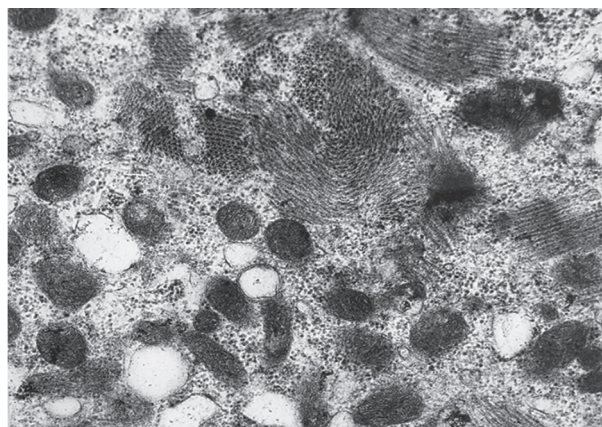
Це, поряд з наявністю біохімічних проявів ішемії слід розглядати, як прояв "приголомшеності" міокарда [6]. Чому не "гібернації"? Як відомо, при "гібернованому" міокарді дегенеративні зміни (вакуолізація, набряк, набрякання мітохондрій, розрив мембран, жирові включення), які характерні для



**Рис. 2.** Ліпідні включення у скорочувальному кардіоміоциті новонародженого щура. Скорочувальний кардіоміоцит з ознаками ліпідної інфільтрації. Мітохондрії з ознаками руйнації своїх крист, та зниженнями глікогену. Електроннограма. 36. x 35500.

ішемічного пошкодження та клітинної атрофії, не виявляються [6]. На нашу думку ще одна електронномікроскопічна ознака дозволяє стверджувати, що при гіпоксичному ушкодженні міокарда новонароджених щурів розвивається саме "приголомшеність", а не "гібернація". Це - відсутність гранул глікогена в кардіоміоцитах в експериментальному матеріалі (рис. 2, 3). А як відомо, саме велика кількість гранул глікогена виявляється при "гібернації" [2, 6]. Це сполучається з втратою кардіоміоцитами скоротливого матеріалу - міофібрил, в той час як в наших дослідженнях міофібрили виявлялися, хоча і мали ознаки ішемічного ушкодження (рис. 3). Поперечна лінійність міофібрил була порушена, що утворювало картину розволокненості. У повздовньому перетині скорочувальних кардіоміоцитів значне число таких ушкоджених міофібрил утворювало міофібрилоподібну масу.

Варто розрізняти терміни "сплячого" (гібернованого) і "приголомшеного" (реперфузованого) міокарду. "Сплячий" міокард виникає при хронічній



**Рис. 3.** Вакулярний тип дистрофії скорочувального кардіоміоцита новонародженого щура. Скорочувальний кардіоміоцит з ознаками вакулярного ушкодження. Включення глікогену знижені. Електроннограма. 36. x 22500.

ішемії, "приголомшений" - у ході реперфузії, після минущої ішемії [3, 6]. При "сплячому" міокарді його кровоток хронічно знижений, при "приголомшеному" - він нормальний або майже нормальний [1]. Функція лівого шлуночка в обох випадках знижена [5, 6]. Це ж має місце і при гіпоксичному ушкодженні міокарда у новонароджених [5]. При "сплячому" міокарді є відповідність між зміною функції лівого шлуночка та порушенням кровотоку. В той же час при "приголомшеному" - цієї відповідності немає: функція лівого шлуночка і скоротність порушені, є ішемічна дисфункція, але кровоток нормальний або несуттєво знижений [3, 6]. Саме помірне уповільнення кровоплину в коронарних судинах (переважно у правій коронарній артерії) зареєстровано у новонароджених [5].

Відомо, що глибоке пригнічення її функції при "сплячому" міокарді продовжується невизначений час, і якщо коронарний кровоток не поліпшується, то відбувається прогресування змін аж до некрозу серцевого м'язу [6, 10, 11]. Функція лівого шлуночка при "гібернованому" міокарді відновляється лише при нормалізації кровотоку [3, 5], але при "приголомшеному" міокарді спостерігається спонтанне поступове відновлення функції серцевого м'язу. Обов'язковою умовою повного відновлення функції міокарда при його «приголомшеності» є відновлення стійкого вінцевого кровотоку до нормальної або майже нормальної величини [6].

Отже, тяжке гіпоксичне ушкодження серця новонароджених супроводжується розвитком феномену "приголомшеного" міокарду. Як відомо, основною проблемою цього стану є продовження пошкодження внутрішньоклітинних структур, обумовлене дією великої кількості вільних радикалів, що утворюються

при реперфузії, та підтримують метаболічні порушення у серцевому м'язі, тобто його ішемічну дисфункцію [3, 6]. Тривала ішемія спричиняє загибель кардіоміоцитів, а реперфузія у цій стадії асоціюється з подальшим додатковим пошкодженням міокарда. Це стає цілком зрозумілим, якщо врахувати, що розміри некрозу обумовлені, головним чином, станом метаболізму ішемізованої тканини, а не дефіцитом кровотоку [2].

### Висновки.

1. При гіпоксичному ушкодженні серця новонароджених розвивається феномен "приголомшеного" чи "реперфузованого" міокарда, сутність якого полягає в невідповідності порушень функції лівого шлуночка нормальному чи несуттєво зниженому відновленому кровоплину. Базовим станом цього є прогресуюче пошкодження внутрішньоклітинних структур, обумовлене утворенням великої кількості вільних радикалів, дія яких підтримує метаболічні порушення в серцевому м'язі, тобто його ішемічну дисфункцію.

2. Корекція дисметаболізму міокарда при його гіпоксичному ушкодженні у новонароджених потребує застосування патогенетично обґрунтованої метаболічної терапії, спрямованої на стабілізацію мембран кардіоміоцитів, оптимізацію енергетичного обміну ішемізованого міокарда.

**Перспективи подальших досліджень.** Перспективним напрямом подальших досліджень є розробка патогенетично обґрунтованих шляхів кардіопротекції при гіпоксичному ураженні міокарда в перинатальному періоді та впровадження в клінічну практику.

### Список літератури

1. Галенко-Ярошевский П.А. Экспериментальные аспекты оптимизации фармакотерапии острой ишемии миокарда / П.А. Галенко-Ярошевский, В.В.Гацура. - М.: Медицина, 2000. - 374 с.
2. Загорулько А. К. Использование компрессионной установки УК-40-2М в комплексе с камерой избыточного давления КГ для создания повышенного давления и вакуума / Загорулько А. К. // Рац. предложение № 1141 от 16.09.1986.
3. Ишемия миокарда: от понимания механизмов к адекватному лечению (кр. стол). // Кардиология. - 2000.- № 9. - С. 106-119.
4. Капелько В.И. Внеклеточный матрикс миокарда и его изменения при заболеваниях сердца / В.И. Капелько // Кардиология. - 2000. - № 9. - С. 78-90.
5. Кривопустов С.П. Стан серцево-судинної системи у дітей, які перенесли анте- та інтранатальну гіпоксію, і його патогенетична корекція. / С.П. Кривопустов // Автореф. дис. .... д-ра мед. наук. Київ.- 1998.- 32 с.
6. Лутай М.І. Ішемічна хвороба серця та систолічна дисфункція лівого шлуночка. Частина I. Механізми виникнення систолічної дисфункції лівого шлуночка / М.І. Лутай, Ю.Ю. Борсук // Укр. кардіол. журнал. - 1999. - №1. - С. 57-61.
7. Марголина А.А. «Оглушенный» миокард: экспериментальный феномен или клинический синдром / А.А. Марголина, О.И. Писаренко, И.М. Студнева // Анест. и реаниматол. - 1997.- №2.- С. 25-27.
8. Третьякова О.С. Технологія лікування та вторинна профілактика гіпоксично ушкодженого міокарда у новонароджених / О.С. Третьякова // Охорона здоров'я України. - 2003. - №1 (8). - С.70-74.
9. Третьякова О.С. Вторинна мітохондріальна недостатність кардіоміоцитів як маркер енергетичної неспроможності міокарду за умов перинатальної гіпоксії / О.С. Третьякова, І.В. Задніпрський // Перинатол. та педіатрія. - 2002.- № 4. - С. 15-17.
10. Хаткевич А.Н. Защитный эффект ишемической предпосылки (прекондиционирования): влияние длительности ишемии / А.Н. Хаткевич, С.Н. Дворянцев, В.И. Капелько, Э.К. Рууге // Кардиология. - 1998. - № 5. - С. 4-8.
11. Genade S. Ishaemic preconditioning (PC): are the opioids involved? / S.Genade, J.A.Moolman, E.Marais, A. Lochner // J. Mol. Cell. Cardiol. - 1999. - Vol.31. - №6. - P.95.
12. Kersten J. Multifactorial basis for coronary collateralization: a complex adaptive response to ischemia / J.Kersten, P.Pagel, W.Chilian, D.Warltier // Cardiovasc. Res. - 1999. - Vol.43. - №1. - P. 44-57.
13. Van der Vusse G. Cardiac fatty acid uptake and transport in health and disease / Van der Vusse G., Van Bilsen M., J.Glatz // Cardiovasc. Res.-2000. - Vol.45. - №2. - P. 279-293.

УДК 576.31:616-071:616-003. 96:616. 12:616-001. 8

### **ФЕНОМЕН «ОГЛУШЕННОГО» МИОКАРДА КРЫС В УСЛОВИЯХ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ**

**Задніпряний І. В., Третьякова О. С., Енг Лу Сан, Манас Наяк, Фархад Аль Доусари**

**Резюме.** В условиях эксперимента исследовано состояние сердечной мышцы при перинатальной гипоксии у крысят в перинатальном периоде. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов, выявленные при этой патологии в эксперименте, свидетельствуют о развитии ишемии миокарда. Рассматривается вопрос правомерности применения термина "оглушенный" миокард при гипоксическом повреждении сердца в неонатальном периоде.

**Ключевые слова:** новорожденные, "оглушенный" миокард, гипоксия, ишемия, эксперимент.

УДК 576.31:616-071:616-003. 96:616. 12:616-001. 8

### **ФЕНОМЕН «ПРИГОЛОМШЕНОГО» МИОКАРДА У ЩУРИВ В УМОВАХ ПЕРИНАТАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ**

**Задніпряний І. В., Третьякова О. С., Енг Лу Сан, Манас Наяк, Фархад Аль Доусари**

**Резюме.** В умовах експеримента досліджено стан серцевого м'яза при перинатальній гіпоксії у щурів в перинатальному періоді. Ультраструктурні зміни кардіоміоцитів, які виявлені при цій патології як експерименті, свідчать про розвиток ішемії міокарда. Розглядається питання правомірності застосування терміну "приголомшений" міокард при гіпоксичному ушкодженні серця в неонатальному періоді.

**Ключові слова:** новонароджені, "приголомшений" міокард, гіпоксія, ішемія, експеримент.

UDC 576.31:616-071:616-003. 96:616. 12:616-001. 8

### **Phenomenon Of The «Stunning » Rat's Myocardium In The Conditions Of Perinatal Hypoxia**

**Zadnipyany I. V., Tretiakova O. S., Eng Lu Sun, Manas Nayak, Fahad Al Dousari**

**Summary.** In experimental conditions the cardiac muscle was investigated at perinatal hypoxia of infant rats in perinatal period. Ultrastructural changes of cardiomyocytes, revealed at this pathology in experiment, testify to development of an ischemia of a myocardium. The question of legitimacy of application of the term "stunning" myocardium is considered at hypoxic damage of heart of the neonatal period.

**Key words:** the newborns, "stunning" myocardium, hypoxia, ischemia, experiment.

Стаття надійшла 3.08.2011 р.