

© Коллектив авторов, 2015  
УДК 611.08:611:611.12+611.16

## ИЗМЕНЕНИЯ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ И ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА МИОКАРДА У БЕРЕМЕННЫХ И НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ГЕМИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

*И.В. Задниряный, О.С. Третьякова, Т.П. Сатаева*

Медицинская академия имени С.И. Георгиевского  
Федерального государственного автономного образовательного  
учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет  
имени В. И. Вернадского», г. Симферополь

Проведенный анализ морфологии кардиомиоцитов и сосудистого русла миокарда у 12 беременных и 16 новорожденных крыс, перенесших гемическую гипоксию, индуцированную  $\text{NaNO}_2$ , выявил сходные между собой дистрофические и деструктивные изменения, более выраженные у новорожденных. Основные морфологические признаки гипоксического повреждения миокарда у беременных и новорожденных крыс были представлены в виде явлений смешанной дистрофии, отека и деструкции эндотелиоцитов и сократительных кардиомиоцитов, лизиса миофибрилл, периваскулярного отека, капиллярного полнокровия, запустевания и спазма артериол и контрактурных изменений. Выявленные патологические изменения миокарда отражают процессы развития миокардиодистрофии у беременных и новорожденных крыс.

**Ключевые слова:** гемическая гипоксия, кардиомиоциты, гемомикроциркуляторное русло, миокард, беременные, новорожденные, крысы.

В современных условиях течение беременности во многом зависит от возрастающей частоты воздействия на организм беременной неблагоприятных экзогенных факторов [4, 9]. В связи с тем, что биологическое действие большинства неблагоприятных факторов реализуется в виде различных заболеваний, развивающихся в течение беременности и связанных с недостатком кислорода в тканях матери и плода, реакция системы мать-плацента-плод на гемическую гипоксию представляет особый интерес. По данным ВОЗ, частота встречаемости гемической (анемической) гипоксии у беременных в странах с различным уровнем жизни значительно возросла и колеблется от 21 до 80% [4, 8]. Считается, что причиной гемической гипоксии является не только

дефицит железа или аномалии развития эритроцитов, но также поступление в организм беременной большого количества нитросоединений за счет их избыточного содержания в питьевой воде, продуктах питания, воздухе, а также в лекарственных препаратах [2]. Основное патогенетическое действие этих веществ связано с превращением части гемоглобина в метгемоглобин и образованием NO-комплексов с гемовыми структурами крови (гемоглобином) и тканей (миоглобином), дыхательными ферментами и ферментами антиоксидантной системы, а также регуляторными белками, активизирующими синтез вторичных клеточных мессенджеров и т.д. [1, 2]. Не вызывает сомнения тот факт, что истоки многих хронических, инвалидизирующих или

фатальных патологических состояний у взрослых, в том числе заболеваний сердечно-сосудистой системы, берут начало в антенатальном периоде и представляют собой пролонгированную патологию плода [6, 8, 9]. Известно, что гипоксия плода приводит к нарушению вегетативной регуляции коронарных сосудов, ухудшению энергетического обмена с резким уменьшением образования макроэргических соединений в митохондриях кардиомиоцитов и клеток синусового узла [5, 10]. Однако подобные исследования не раскрывают причинно-следственную связь между гемической гипоксией матери и формированием миокардиальной дисфункции новорожденного [3, 6].

Целью данного исследования явилось изучение морфологических особенностей гемомикроциркуляторного русла миокарда у беременных и новорожденных крыс в условиях хронической гемической гипоксии.

#### **Материалы и методы**

Экспериментальная часть выполнена на 12 самках трехмесячных белых крыс линии Wistar массой 180-200 г. Все манипуляции на животных проведены в строгом соответствии с «Правилами проведения качественных клинических испытаний в РФ» (утв. МЗ РФ и введены в действие с 1 января 1999г.), приложением 3 к приказу МЗ СССР № 755 от 10.08.1977, положениями Хельсинской декларации (2000 г.) и рекомендациями, содержащимися в Директивах Европейского Сообщества (№ 86/609ЕС). Для индукции беременности каждой самке подсаживались половозрелые беспородные крысы-самцы из расчета два самца к четырем самкам. На протяжении всей беременности и в течение 21 дня после родов (окончание периода молочного вскармливания) самкам ежедневно внутривенно вводили нитрит натрия  $\text{NaNO}_2$  в дозе 5 мг/100 г веса (доза, вызывающая гипоксию средней тяжести) [7]. В течение первых суток жизни сердце 16 крысят, вскармливаемых вышеуказанными самками, после проведения торако- и перикардотомии под эфирным наркозом

извлекалось и сразу же помещалось в кардиоплегический раствор (0,9% КСI при температуре  $0^{\circ}\text{C}$ ), чем достигалась остановка сердца в диастолу.

Для гистологических исследований образцы тканей левого желудочка сердца фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и после соответствующей проводки заливали в парафин. Гистологические срезы изготавливались толщиной 10-15 мкм, окрашивались ГОФП-методом (гематоксилин-основной фуксин-пикриновая кислота) с целью выявления очагов острого ишемического и метаболического повреждения, а также фиброгенеза, и исследовались с помощью микроскопа Olympus CX-31 (Япония). Для электронно-микроскопического исследования образцы ткани левого желудочка фиксировались в 2,5% растворе глутаральдегида с последующей фиксацией 1% раствором четырехоксида осмия. Ультратонкие срезы изготавливались на ультратоме УМТП-7 и контрастировались по Рейнольдсу [5]. Исследования проводились на электронном микроскопе Selmi (Украина) при ускоряющем напряжении 125 кВ.

#### **Результаты и их обсуждение**

По данным световой микроскопии в миокарде самок, перенесших беременность на фоне влияния хронической гемической гипоксии, повсеместно наблюдались явления нарушения гемодинамики, проявляющиеся в виде периваскулярного отека, венозного полнокровия, запустевания и спазма артериол. При этом ядра эндотелиоцитов в спазмированных артериолах были визуально смещены к просвету сосудов, очевидно, за счет клеточного отека. В периваскулярном пространстве определялись тонкие прослойки соединительной ткани, а также умеренная круглоклеточная пролиферация (рис. 1А).

Сосуды микроциркуляторного русла миокарда были полнокровными, нередко отмечались явления стаза эритроцитов в капиллярах, прекапиллярах и артериолах (рис. 1Б). Перикапиллярный отек различной степени выраженности выявлялся в миокарде практически всех самок. При этом в цитоплазме кардиомиоцитов, которые ло-

кализировались непосредственно вблизи сосудов, отмечалось диффузное накопление фуксинофильного субстрата что подтверждалось данными ГОФП-окрашивания. Данные изменения свидетельствуют об ишемическом нитритном повреждении кардиомиоцитов, что, вероятно, усугублялось снижением уровня их трофики.

Кардиомиоциты самок, перенесших гипоксию в период беременности, имели выраженный полиморфизм ядер. Сарко-

лемма кардиомиоцитов имела нечеткие волнообразные контуры, что, по данным литературы, может явиться морфологическим субстратом для развития нарушений сердечного ритма [6]. Саркоплазма кардиомиоцитов содержала фуксинофильный субстрат – индикатор ишемического повреждения, который накапливался вблизи ядер, а также в виде неравномерных тонких прослоек соединительной ткани в интерстиции (рис. 1А).

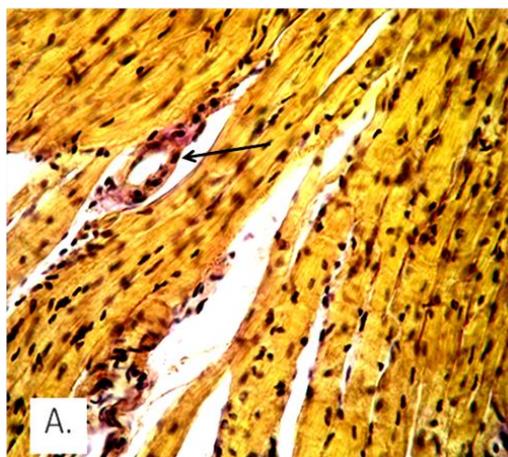


Рис. 1А. Выраженный периваскулярный отек, запустевание и спазм артериол (стрелки). Окраска: ГОФП-метод. Ув. x 400

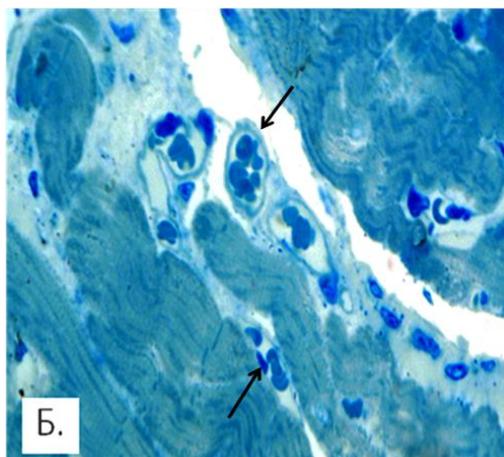


Рис. 2Б. Явления стаза эритроцитов (стрелки). Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. x 1000

Изменения микроциркуляторного русла и интерстиция стенки сосудов у новорожденных крысят, также как и у самок, отличались полиморфностью. Артериолы встречались достаточно редко и были значительно изменены: стенки их были утолщены и гомогенизированы. Просвет таких сосудов был щелевидным, что, по-видимому, было связано с отеком эндотелиоцитов (рис. 2А). Полнокровные капилляры имели неравномерно окрашенные контуры, расстояние между капиллярами и кардиомиоцитами было значительно расширенным, что, вероятно, затрудняло транспорт субстратов и кислорода из кровеносного русла непосредственно к сократительным кардиомиоцитам. Кроме того, практически все сосуды

и некоторые кардиомиоциты были окутаны тонкими волокнами незрелой рыхлой соединительной ткани, что свидетельствует о начальных стадиях фиброгенеза, формируя так называемый «порочный круг»: гипоксическое повреждение кардиомиоцитов стимулирует фиброгенез, а фиброгенез усугубляет повреждение кардиомиоцитов из-за нарушения трофики.

В целом, кардиомиоциты новорожденных содержали диффузный фуксинофильный субстрат и выглядели либо неравномерно гипертрофированными, либо резко истонченными. Вблизи некоторых ядер или внутри них встречались оксифильные включения, похожие на апоптотические тельца. Большинство кардиомиоцитов были разобщенными, изолирован-

ными друг от друга прослойками интерстиция за счет отека, а также имели контрактурные изменения, что свидетельст-

вует о развитии дистрофических и преднекротических изменений (рис. 2А, 2Б).

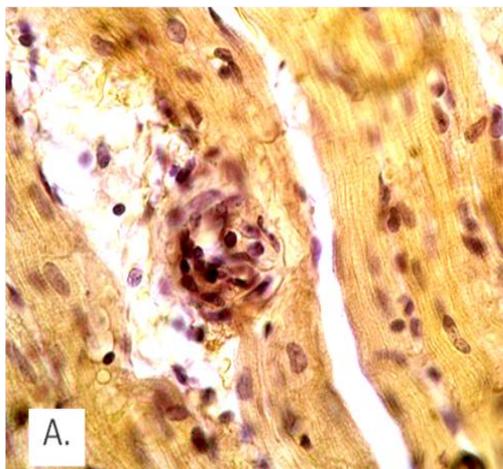


Рис. 2А. Спазм артериолы, периваскулярный и интерстициальный отек. Окраска: ГОФП-метод. Ув. x400

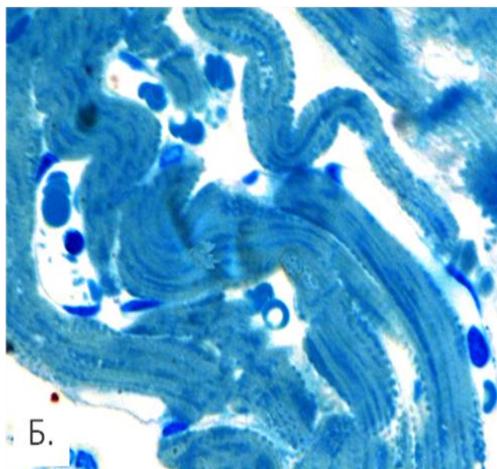


Рис. 2Б. Контрактурные изменения и очаговая фрагментация мышечных волокон миокарда (как признак возможного нарушения ритма сердца). Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. x 1000

Согласно данным электронной микроскопии эндотелиоциты капилляров беременных крыс, перенесших гипоксию, были истончены, уровень микропиноцитоза в них снижен. В некоторых капиллярах отмечалась извилистость люминальной поверхности (рис. 3А). Просвет большинства сосудов был компенсаторно расширен, внутри некоторых капилляров наблюдался сладж эритроцитов, а также адгезия форменных элементов крови к стенке капилляров, возникающих, видимо, за счет нарушения структуры базальной мембраны. Пространство между капиллярами и сарколеммой было, как правило, расширено и заполнено преимущественно волокнистым компонентом рыхлой соединительной ткани, в котором преобладали коллагеновые волокна, реже – электроннопрозрачным аморфным веществом, идентичным плотности плазмы в просвете капилляра, с отдельно расположенными волокнистыми структурами.

Стенки большинства капилляров были резко осмиофильными, по-видимому, за счет их пропитывания плазмой.

Кардиомиоциты, располагающиеся вблизи подобных сосудов, характеризовались мелкоочаговым и диффузным лизисом миофибриллярных пучков, так называемым «таянием» миофибрилл. В большей степени были лизированы I-полосы, в которых располагались тонкие (актиновые) филаменты. Миофибриллы становились менее плотными, во многих саркомерах появлялись пустоты, в некоторых случаях отмечен тотальный лизис миофиламентов в пределах саркомера. Значительной деструкции подвергались саркомеры в области вставочных дисков и в околоядерной зоне (рис. 3А).

При изучении электронограмм миокарда новорожденных крысят было выявлено, что матрикс цитоплазмы эндотелиальных клеток в одном и том же капилляре у одних клеток резко просветлен, что сви-

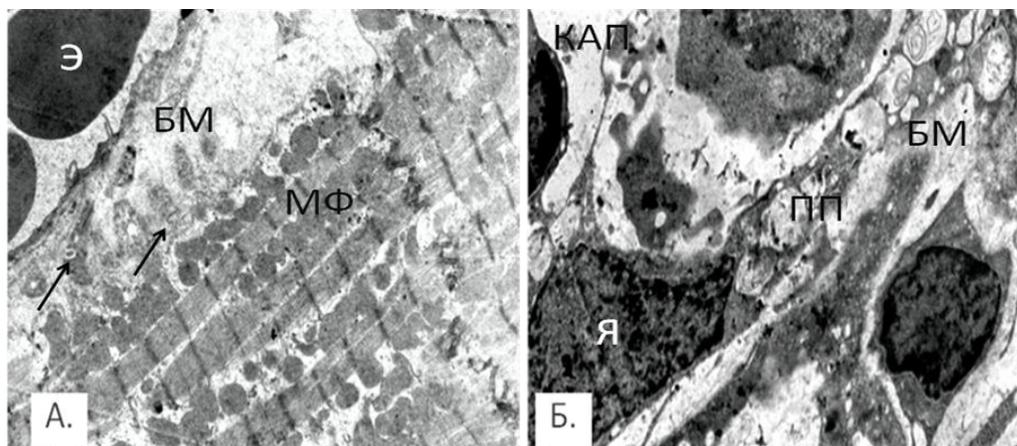


Рис. 3А. Перикапиллярное пространство расширено (стрелки). Мелкоочаговый и диффузный лизис миофибриллярных пучков (МФ). БМ – базальная мембрана. Э – эритроцит. ТЭМ. Ув. x 12000

Рис. 3Б. Электронноплотный эндотелиоцит с микропиноцитозными везикулами (ПП), ядро эндотелиоцита (Я) имеет остроконечные инвагинаты. Деструктуризация базальной мембраны (БМ). В просвете капилляра (КАП) большое количество лейкоцитов. ТЭМ. Ув. x 18000

детельствовало о набухании цитоплазмы, а у других клеток становился электронноплотным. В случаях, когда матрикс эндотелиальной клетки был просветлен, в цитоплазме визуализировались в основном единичные микропиноцитозные везикулы закрытого типа малого размера, расположенные преимущественно по свободному и базальному краям цитоплазмы. В случае же уплотнения матрикса цитоплазмы эндотелиальной клетки микропиноцитозные везикулы различного типа располагались по базальному и свободному краям цитоплазмы, а также в самой цитоплазме. Базальная мембрана капилляров выглядела расширенной, многослойной. Часто выявлялись диапедзные кровоизлияния, а также определялись несвойственные для миокарда фенестрированные капилляры, возникающие, видимо, за счет частичной деструкции эндотелиоцитов. В цитоплазме эндотелиальных клеток наблюдали многочисленные складки и бухты на люминальной поверхности клеток, иногда с отрывом

выступающих частей эндотелиоцитов в просвет сосуда. В эндотелиоцитах и соседних кардиомиоцитах также встречалось большое количество митохондрий с просветленным матриксом и разрушенными кристами, что свидетельствовало о развитии митохондриальной дисфункции.

Таким образом, проведенный анализ морфологии кардиомиоцитов и сосудистого русла миокарда у беременных и новорожденных крыс, перенесших гемическую гипоксию, выявил сходные между собой дистрофические и деструктивные изменения, которые имели большую степень выраженности у новорожденных крысят.

#### Выводы

1. Основные морфологические признаки гипоксического повреждения миокарда у беременных и новорожденных крыс были представлены в виде явлений смешанной дистрофии, отека и деструкции эндотелиоцитов и сократительных кардиомиоцитов, лизиса миофибрилл, и контрактурных изменений.

При этом вышеуказанные ишемические и гипоксические изменения были более выраженными в миокарде у новорожденных крысят.

2. Морфологические признаки нарушения гемодинамики у беременных и новорожденных крыс проявлялись в виде периваскулярного отека, капиллярного полнокровия, заустевания и спазма артериол. В периваскулярном пространстве определялись тонкие прослойки соединительной ткани, что, вероятно, затрудняло транспорт субстратов и кислорода из кровеносного русла к рабочим клеткам в условиях гипоксии и усугубляло ишемические и гипоксические изменения сократительного аппарата кардиомиоцитов в условиях гемической гипоксии.

#### Литература

1. Агаджанян Н.А. Классификация гипоксических, гипо- и гиперкапнических состояний / Н.А. Агаджанян, А.Я. Чижов // *Фізіологічний журн.* – 2003. – Т. 49, № 3. – С. 11-16.
2. Ажипа Я.И. Экологические и медико-биологические аспекты проблемы загрязнения окружающей среды нитратами и нитритами / Я.И. Ажипа, В.П. Реутов, Л.П. Каюшин // *Физиология человека.* – 1990. – Т.16. – С. 131-150.
3. Дземешкевич С.Л. Классификация и хирургический выбор / С.Л. Дземешкевич // *Дисфункция миокарда и сердечная хирургия* / под ред. С.Л. Дземешкевич, Л.У. Стивенсон. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – С. 12-19.
4. Дворецкий Л.И. Железодефицитные анемии / Л.И. Дворецкий // *Рус. мед. журн.* – 1997. – №19. – С. 1234-1242.
5. Заднипрятный И.В. Морфо-функциональные изменения при перинатальной гипоксии и возможные пути их коррекции / И.В. Заднипрятный, Т.П. Сатаева // *Таврический медико-биол. вестн.* – 2013. – Т. 16, №1 (ч. 2) (61). – С. 252-257.
6. Цыпленкова В.Г. Ультраструктурная и иммуногистохимическая характеристика механизма гибели кардиомиоцитов при аритмогенной дисплазии правого желудочка / В.Г. Цыпленкова, А.А. Воробьев // *Арх. патологии.* – 2007. – Т. 69, № 6. – С. 3-7.
7. Черкесова Д.У. Экспериментальная модель внутриутробной нитритной гипоксии / Д.У. Черкесова, М.-С.А. Омаров // *Медицина. Наука и практика: бюллетень ДНЦ РАМН.* – 1995. – №1. – С. 44-46.
8. Neonatology. The science and practice of pediatric cardiology / A. Garson [et al.]. – Philadelphia; London, 2012. – Vol. 3. – P. 2477-2489.
9. Patterson A.J. Hypoxia and fetal heart development / A.J. Patterson, L. Zhang // *Curr. Mol. Med.* – 2011. – Vol. 10, № 7. – P. 653-666.
10. Zadnipyryany I.V. Neonatal rat myocardium survival in terms of chronic hemic hypoxia / I.V. Zadnipyryany, T.P. Sataieva // *В мире научных открытий.* – 2014. – Vol. 10(58). – P. 281-290.

**CHANGES IN THE CONTRACTILE CARDIOMYOCYTES  
AND HEMOMICROCIRCULATORY BED IN PREGNANT RATS  
AND THEIR PUPS EXPOSED TO HEMIC HYPOXIA**

*I.V. Zadnipyany, O.S. Tret'yakova, T.P. Sataieva*

The performed analysis of the morphology of cardiomyocytes and myocardial vascular bed in 12 pregnant rats and 16 newborn pups exposed to the hemic hypoxia induced by NaNO<sub>2</sub> revealed some similar degenerative and destructive changes which were more pronounced in pups. The main morphological characteristics of hypoxic myocardial damage in pregnant and newborn rats were presented in the form of phenomena of mixed dystrophy, swelling and destruction of endothelial cells and contractile cardiomyocytes along with the lysis of myofibrils, perivascular edema, capillary hyperemia, emptiness and spasm of the arterioles and contracture changes. Revealed pathological changes in the myocardium reflect the development of the myocardiodystrophy processes in pregnant rats and newborn pups.

*Keywords: hemic hypoxia, cardiomyocytes, hemomicrocirculatory bed, myocardium, pregnant rats, newborn rats.*

Заднипрный И.В. – д.м.н., проф. кафедры нормальной анатомии человека Медакадемии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».

E-mail: zadnipyany@gmail.com

Третьякова О.С. – д.м.н., зав. кафедрой общественного здоровья и здравоохранения с курсом организации здравоохранения Медакадемии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».

E-mail: igorzadnipyany@yahoo.com

Сатаева Т.П. – к.м.н., ассист. кафедры медицинской биологии Медакадемии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».

E-mail: lsataeva@mail.ru