

© Коллектив авторов, 2008

Г.Н. Окунева, Е.Н. Левичева, И.Ю. Логинова, Е.Э. Кливер, А.М. Волков

МОРФОМЕТРИЯ И МИКРОЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ МИОКАРДА У ПОЗДНИХ ВЫКИДЫШЕЙ И ДЕТЕЙ, ПОГИБШИХ В ПЕРВЫЕ МЕСЯЦЫ ЖИЗНИ

ФГУ «ННИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи», г. Новосибирск, РФ

Немногочисленные литературные данные о важной роли некоторых химических элементов (ХЭ) в развитии врожденной патологии свидетельствуют об актуальности исследования взаимосвязи анте- и постнатального развития миокарда и содержания в нем ХЭ в норме и при транспозиции магистральных сосудов (ТМС). Элементный состав и морфометрические параметры миокарда изучали в образцах сердечной мышцы левого и правого желудочков, полученных при аутопсии 3 групп: выкидыши 22–28 недель гестации, дети грудного возраста без ВПС, дети грудного возраста с ТМС. Проведенный анализ показал, что в норме у плодов гиперпластические процессы более выражены по сравнению с детьми грудного возраста. В постнатальном периоде в миокарде при нормальном его развитии отмечены как гипоплазия, так и гипертрофия, а при ТМС отмечены более выраженные процессы гипертрофии. Различия в морфометрических параметрах сопровождаются изменениями в содержании ХЭ. Развитие патологической гипертрофии при ТМС сопровождается избыточным содержанием Mn и, особенно, Cu, а также дефицитом K, Zn, Se, Cr и Ni.

Few in numbers literature data about important role of some chemical elements (CE) in development of congenital pathology prove actuality of investigation of correlation between ante- and postnatal myocardium development and study of CE concentration in myocardium of healthy infants and infants with transposition of great vessels (TGV). Myocardium elementary composition and morphometric parameters were investigated in specimens of right and left ventricle myocardium obtained during autopsy in 3 groups: stillborn fetuses with gestation age 22–28 weeks, infants without CHD and infants with TGV. The study showed that hyperplastic process in normal cases was more significant in fetuses than in infants. Postnatal period was characterized by both hypoplasia and hypertrophy of myocardium in cases of its normal development, whereas TGV was characterized by more significant hypertrophy. Difference of morphometric parameters was accompanied by changes in CE concentration. Development of pathologic hypertrophy in TGV cases was accompanied by excess of Mn, of Cu especially, and also by deficiency of K, Zn, Se, Cr and Ni.

Содержание и распределение химических элементов (ХЭ) в сердце человека зависит как от экзогенных факторов (окружающей среды, продуктов питания, вредных промышленных отходов и др.), так и от эндогенных факторов (морфоструктуры и функциональной нагрузки кардиомиоцитов, аномалии развития сердца) [1]. Транскрипция гена значительно возрастает в период эмбриогенеза в быстро делящихся клетках [2], поэтому дисбаланс ХЭ в период внутриутробного развития может провоцировать аномалии развития сердца и даже выкидыши [3, 4]. Эти факты наглядно подтверждают существование взаимоотношений «микроэлементы–геном–репродукция–онтогенез» [4]. В частности, дефицит многих жизненно важных ХЭ у матери, как тератогенный фактор, в период беременности может привести к возникновению врожденных пороков сердца (ВПС). Так, дефицит меди в период беременности может спровоцировать развитие аневризмы аорты и нарушение эластичности сосудов, а дефицит цинка — транспозиции магистральных сосудов [ТМС] [3, 5]. Содержание железа,

меди, цинка, селена, марганца в оптимальных количествах необходимы для нормального поддержания клеточного цикла, роста и дифференцировки клеток, в том числе и кардиомиоцитов [6]. Поэтому представляется важным знать не только, как распределяются ХЭ в миокарде в период фетального кровообращения, но и как изменяются соотношения ХЭ в период постнатального развития сердца у детей грудного возраста в норме и при гемодинамических нарушениях, сопровождающих ВПС с развитием компенсаторной гипертрофии миокарда.

Цель исследования — изучить закономерности анте- и постнатального развития миокарда и содержания в нем ХЭ у детей без сердечно-сосудистой патологии и при ТМС.

Материалы и методы исследования

Для оценки микроэлементного состава и морфоструктуры миокарда при аутопсии, после определения массы сердца (в граммах) проводили забор образцов сердечной мышцы левого и правого желудочков (ЛЖ и

ПЖ) в 3 группах, не позднее 12 ч с момента смерти. При изучении морфологических параметров учитывали общую массу тела и рост ребенка.

1-ю группу составили выкидыши 22–28 недель гестации без патологии сердечно-сосудистой системы (14 образцов миокарда). Причиной выкидышей была патология беременности (внутриутробная инфекция, патология плаценты).

Во 2-ю группу вошли дети грудного возраста (от 1 до 5 месяцев) без ВПС, умершие от заболеваний, не связанных с поражением сердца (18 образцов миокарда). Причинами летальных исходов являлись острые заболевания органов дыхания, врожденные аномалии других органов и систем.

3-ю группу составили дети грудного возраста с ТМС (от 1 до 4,5 месяцев), умершие в ближайшие послеоперационные сроки после радикальной коррекции порока (40 образцов миокарда). В исследовании вошли дети с ТМС двух видов: простая ТМС с нормоволемией малого круга кровообращения и ТМС дефектом межжелудочковой перегородки с гиперволемией малого круга кровообращения.

Методом рентгено-флюоресцентного анализа с использованием синхротронного излучения (РФА-СИ) исследовали содержание в желудочках сердца следующих 10 ХЭ: S, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se. Всего в процессе анализа было снято свыше 200 рентгено-флюоресцентных спектров ХЭ. Содержание ХЭ определяли из расчета мкг на 1 г ткани.

Для морфологических исследований биоптаты миокарда фиксировали в 10% растворе формалина на фосфатном буфере. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовили на микротоме фирмы Microm HM 350 и окрашивали гематоксилином–эозином и по методу ван Гизон с докраской эластических волокон резорцином и фуксином Вейгерта, с постановкой ШИК-реакции. Гистологическое исследование проводили с помощью программно-микроскопного комплекса, который включал в себя световой микроскоп AXIOSKOP 40 фирмы ZEISS, цифровую видеокамеру AxioCam MRc и компьютер Pentium 4. Полученные по 20 с каждого гистологического препарата изображения обрабатывали с помощью программного обеспечения AxioVision 3.1 (Carl Zeiss). Измеряли диаметр мышечного волокна, относительную

Таблица 1

Возраст и масса сердца обследованных больных

Показатели	Плоды	Дети грудного возраста без ВПС	Дети грудного возраста с ТМС
Возраст	24,2±0,9 нед гестации	3 мес 7 дней ± 1 мес 18 дней ¹⁾	3 мес 21 день ± 28 дней ¹⁾
Масса сердца, г	6,2±0,9	19,8±2,3 ¹⁾	53,9±5,0 ¹⁾²⁾

$p < 0,05$: ¹⁾ при сравнении показателей с 1-й группой, ²⁾ при сравнении показателей со 2-й группой.

площадь мышечной ткани, ее объемную плотность, количество ядер, среднюю площадь ядра, ядерно-цитоплазматическое соотношение, количество внутримиеокардиальных сосудов.

Результаты и их обсуждение

Достоверных отличий по антропометрическим данным дети грудного возраста без ВПС и с ТМС не имели, поэтому этот фактор при анализе морфометрических особенностей сердца не учитывался.

В представленных группах отмечены достоверные различия по массе сердца (табл. 1).

Как известно, у эмбрионов и плодов рост массы сердца происходит за счет увеличения количества миоцитов (гиперплазии) на фоне крайне высокого метаболизма [1, 7]. К окончанию внутриутробного периода митотическая активность уменьшается, и рост сердца происходит главным образом вследствие увеличения в размерах ранее существовавших миоцитов (гипертрофии) [8]. При этом некоторая степень митотической активности в сердечных миоцитах (гиперпластическая фаза миокардиального роста) все же сохраняется и во время ранней неонатальной жизни [9].

По нашим данным, у детей грудного возраста по сравнению с плодами происходит увеличение коли-

Таблица 2

Морфометрические параметры миокарда ЛЖ и ПЖ у плодов и детей грудного возраста без ВПС и при ТМС

Морфометрические параметры		Плоды	Дети грудного возраста без ВПС	Дети грудного возраста с ТМС
Диаметр мышечного волокна, мкм	ЛЖ	10,9 ±0,59	14,6 ±0,79	12,0 ±1,47
	ПЖ	11,6 ±0,05	13,1 ±1,13	11,4 ±1,35
Относительная площадь поверхности мышечной ткани, мкм ²	ЛЖ	225 ±22,4	265 ±22,8	287 ±27,3
	ПЖ	270 ±87,4	274 ±27,3	286 ±37,6
Объемная плотность мышечной ткани	ЛЖ	0,66 ±0,007	0,78 ±0,067	0,85 ±0,08
	ПЖ	0,75 ±0,018	0,81 ±0,081	0,84 ±0,11
Количество ядер в поле зрения	ЛЖ	55 ±2,8	41 ±2,5	45 ±7,1
	ПЖ	44 ±1,6	53 ±1,5	34 ±7,7
Средняя площадь ядра, мкм ²	ЛЖ	2847 ±203,9	2358 ±211,8	2073 ±107,1
	ПЖ	2582 ±254,7	2534 ±289,1	2063 ±355,8
Ядерно-цитоплазматическое соотношение	ЛЖ	0,69	0,37	0,33
	ПЖ	0,47	0,49	0,26

чества ядер, относительной площади поверхности и объемной плотности мышечной ткани, что свидетельствует об увеличении количества кардиомиоцитов (табл. 2). При этом у детей без гемодинамической нагрузки в миокарде, кроме снижения ядерно-цитоплазматического соотношения, указывающего на его гиперплазию, одновременно отмечается увеличение диаметра мышечного волокна, свидетельствующее о присоединении гипертрофических процессов. По мере биологического роста сердца гипертрофические процессы становятся более активными по сравнению с гиперплазией, что подтверждается и снижением количества ядер (табл. 2).

Таким образом, онтогенетический постнатальный рост сердца характеризуется высокой активностью гиперпластических процессов в сочетании с постепенным увеличением активности процессов гипертрофии миокарда [7].

Во время фетального кровообращения левые и правые отделы сердца функционируют «параллельно» и давление в ПЖ равно давлению в ЛЖ, что является главным отличием от «последовательного» постнатального кровообращения. Параллельная конфигурация фетального кровообращения объясняет, почему даже при самых сложных ВПС миокард не испытывает повышенных функциональных нагрузок.

Резкий переход от фетального к постнатальному кровообращению приводит к существенному изменению гемодинамической нагрузки на разные отделы сердца. Постнатальное развитие ПЖ определяется главным образом объемной нагрузкой, а ЛЖ — нагрузкой объемом и давлением. Как указывал А.М. Rudolph, основным изменением кровообращения после рождения является «перемещение кровотока для газообмена от плаценты к легким» [10]. На сердце детей грудного возраста с ТМС помимо онтогенетического фактора доминирующее влияние оказывают патогенетические механизмы, связанные с анатомическими и гемодинамическими

нарушениями при данном ВПС, которые могут быть оценены как хронический стресс, связанный с гипоксией [7]. К полученным особенностям миокарда можно отнести и то, что в ПЖ у больных с ТМС изначально размеры ядра меньше, чем у детей без патологии сердца, что в совокупности с меньшим диаметром мышечного волокна, отмеченного в этой группе, указывает на повышенные резервы при развитии гиперпластических процессов. Исследования, проведенные Azoicai D. et al. [11], показали увеличение синтеза ДНК и митоза незрелых кардиомиоцитов, подвергшихся хроническому стрессу. Наши данные подтверждают, что у детей грудного возраста при ТМС средняя площадь ядер и ядерно-цитоплазматическое соотношение ниже по сравнению с нормой. При ТМС гипертрофические изменения миокарда достаточно быстро прогрессируют с возрастом, превышая должную массу сердца в период новорожденности и грудного возраста в 2 раза, а у детей 6–12 месяцев — уже в 2,5–3 раза.

Таким образом, перестройка кровообращения после рождения происходит на фоне гиперпластических и гипертрофических процессов в миокарде и формирует различия в функциональной нагрузке на ЛЖ и ПЖ. В связи с этим в норме и при ТМС определяются и особенности метаболизма, которые, в частности, проявляются изменениями концентрации ХЭ.

У плодов, по данным РФА-СИ, в ПЖ и ЛЖ отмечено одинаковое содержание ХЭ (табл. 3). У детей грудного возраста (без ВПС и при ТМС) по сравнению с плодами более чем в 2 раза повышено содержание S в ЛЖ и ПЖ, что свидетельствует о значительном увеличении белковых структур, связанных с гиперплазией и гипертрофией функционально перегруженного миокарда. Так, у детей грудного возраста без ВПС содержание S в ЛЖ немного выше, чем в ПЖ (на 4%), а при ТМС, наоборот, в ПЖ содержание S на 9% выше, чем в ЛЖ. Это соответствует особенностям гемодинами-

Таблица 3

Содержание ХЭ в миокарде плодов и детей грудного возраста без ВПС и с ТМС

Группы обследованных	Отделы сердца	S	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Se
Плоды	ЛЖ (n=7)	1642 ±264 ¹⁾	805 ±78	1053 ±87	1,5 ±0,39	2,4 ±0,3	200 ±26	0,4 ±0,07	7,7 ±0,32	249 ±23	1,8 ±0,3
	ПЖ (n=7)	1964 ±339	808 ±98	971 ±62	0,9 ±0,32	2,1 ±0,1	176 ±23	0,3 ±0,04	7,6 ±0,44	245 ±29	1,9 ±0,4
Дети грудного возраста без ВПС	ЛЖ (n=5)	3380 ±631*	792 ±257	1352 ±218	1,0 ±0,22	2,4 ±0,2	344 ±30*	0,4 ±0,05	8,9 ±0,68	360 ±39*	0,7 ±0,1*
	ПЖ (n=5)	3260 ±335*	630 ±133	1264 ±94*	0,9 ±0,12	2,4 ±0,2	422 ±83*	0,6 ±0,09*	10,1 ±0,87*	392 ±43*	0,8 ±0,1*
Дети грудного возраста с ТМС	ЛЖ (n=15)	3268 ±424	508 ±60	1256 ±89	0,4 ±0,15*	2,6 ±0,8	321 ±42	0,2 ±0,03*	14,6 ±2,99	240 ±22*	0,2 ±0,05*
	ПЖ (n=20)	3547 ±331	560 ±55	1224 ±99	0,6 ±0,23	5,1 ±2,0	342 ±33	0,2 ±0,05*	16,1 ±2,58	307 ±42	0,1 ±0,04*

* p<0,05 при сравнении показателей в 1-й группе; ¹⁾ данные представлены в мкг/г ткани.

Таблица 4

**Количество артериальных сосудов в миокарде
у детей грудного возраста без ВПС и с ТМС**

Показатели		Количество сосудов в миокарде, в п/зр.
Большой круг кровообращения	без ВПС (ЛЖ)	1,6±0,12*
	ТМС (ПЖ)	1,6±0,09*
Малый круг кровообращения	без ВПС (ПЖ)	2,5±0,14
	ТМС (ЛЖ)	2,9±0,19

* $p < 0,01$ при сравнении соответствующих показателей в ПЖ и ЛЖ у детей без ВПС и детей с ТМС.

ческой нагрузки на желудочки — в норме кровообращение по большому кругу осуществляет ЛЖ, а при ТМС — ПЖ.

Возможное изменение электролитного баланса показывает динамика содержания в миокарде К. Так, у плодов отмечено наиболее высокое содержание К, которое в грудном возрасте снижается (особенно в ПЖ — на 28%). У детей грудного возраста с ТМС отмечается более выраженное снижение К по сравнению с плодами. У больных с ТМС по сравнению с нормой значительный дефицит К испытывает ЛЖ (всего 64% от нормы), в ПЖ содержание К при ТМС составляет 89%. Такой дисбаланс К может приводить к нестабильной работе клеточных мембран и, как следствие, к нарушениям сердечного ритма.

В миокарде детей грудного возраста без ВПС по сравнению с плодами отмечено достоверно большее содержание Zn как в ЛЖ, так и в ПЖ (на 49–54%). Известно, что Zn входит в состав практически всех синтетаз и принимает активное участие в процессах регенерации ткани сердечной мышцы [2]. В сердцах детей грудного возраста с ТМС содержание Zn существенно ниже, чем в здоровых сердцах (на 30–50%), причем в ЛЖ на 30% ниже, чем в ПЖ, что при общем нарастании массы сердца может указывать на незавершенность синтетических процессов в кардиомиоцитах.

В период постнатального онтогенетического развития в нормальных сердцах отмечается увеличение содержания Са и Fe. В отличие от этой группы при ТМС концентрация данных ХЭ снижена и при этом повышено содержание Mn (особенно в ПЖ). В то же время при ТМС зафиксировано достоверное снижение содержания Ni (в 2–3 раза по сравнению с нормой). Даже у плодов содержание Ni достоверно выше в ЛЖ, чем у детей с ТМС. Дефицит Ni при ТМС, возможно, объясняет сниженное содержание Са и Fe, т. к. известно, что при дефиците Ni повышается выведение этих ХЭ из организма, а сам Са частично замещается на Mn [12]. Известно, что Ni играет существенную роль в развитии сосудов [12], поэтому его дефицит может снижать возможности ангиогенеза в условиях развития компенсаторной

гипертрофии миокарда при ВПС. В частности, это характеризуется малым количеством внутримиеокардиальных артерий в наиболее гемодинамически нагруженном ПЖ при ТМС (табл. 4).

Дефицит Ni мало отражается на обмене белков, но вызывает заметные сдвиги в углеводном и липидном обмене. Можно предположить, что Ni влияет на энергообмен в миокарде. В этом плане Ni сродни с Cr, основная биологическая роль которого в организме человека связана с регуляцией углеводного и липидного обмена, а также с поддержанием толерантности к глюкозе. По данным [13, 14], концентрация Cr в тканях новорожденных значительно выше, чем у взрослых, и быстро снижается в первые месяцы жизни при различных видах стресса (белковое голодание, физическая нагрузка, гипоксия и др.). Сниженное содержание Cr при ТМС, возможно, также связано с гипоксическим стрессом с последующими нарушениями энергообмена.

По данным литературы, по сравнению со взрослыми лицами концентрация Cu в тканях новорожденных в несколько раз выше. Cu плода имеет материнское происхождение, причем во время беременности ее всасывание у матери увеличивается, а выведение снижается. Только к 6–12 месяцам уровень тканевой Cu у детей достигает уровня взрослого [12]. Развитие патологической гипертрофии миокарда у детей с ТМС сочеталось с повышенным содержанием Cu. Этот ХЭ повреждает мембраны и цитоскелет, что, в свою очередь, сопровождается дальнейшим накоплением Cu в клетке, таким образом формируется механизм порочного круга. Избыток свободной Cu угнетает активность окислительных ферментов, что приводит к гибели клеток. На фоне тяжелых нарушений кровообращения, характерных для ТМС, избыток Cu усиливает имеющуюся тканевую гипоксию. Погибают именно те элементы, потребность которых в кислороде особенно велика [12]. Как показал в эксперименте F.J. DiCario [15], избыточное поступление Cu может вызывать неправильное расположение аорты (выход из ПЖ), дефект межжелудочковой перегородки, недоразвитие легочного ствола. У детей грудного возраста в норме по сравнению с плодами содержание Cu повышено: в ЛЖ на 15%, в ПЖ на 33%. Однако у детей грудного возраста при ТМС по сравнению с нормой эти различия значительно более выражены: содержание Cu в ЛЖ повышено по сравнению с нормой на 64%, а в ПЖ — на 59%. Cu также связана с синтезом коллагена, поэтому ее повышенное содержание может свидетельствовать об избыточном образовании соединительной ткани в миокарде больных ТМС.

Обращает на себя внимание выраженный дефицит Se у детей грудного возраста с ТМС. Установлено, что у плодов уровень Se выше, чем у новорожденных, у младенцев в первые месяцы жизни уровень Se довольно низок, а с возрастом постепенно увеличивается [12]. Проявлением выраженной недостаточности Se является али-

ментарная мышечная дистрофия (беломышечная болезнь). Патоморфологические проявления при этом заболевании характеризуются глубокими нарушениями скелетных мышц и миокарда, имеющими дегенеративно-некробиотический характер, часто встречается гиалиновая дегенерация мышечных волокон. В частности, наблюдается пестрая патогистологическая картина за счет неравномерного полнокровия, дистрофических и некробиотических изменений кардиомиоцитов, нередко с явлениями дистрофического обезызвествления. По мнению А.П. Авцына и др. [12], белая окраска мышц обусловлена исчезновением из них миоглобина и вторичным коагуляционным некрозом миоцитов. Биохимические исследования при дефиците Se действительно продемонстрировали резкое снижение количества миозина в мышцах и фракции водорастворимых белков одновременно с увеличением коллагена, что согласуется с гистологическими наблюдениями, показавшими замещение мышечных волокон соединительной тканью.

Заключение

Проведенный анализ выявил следующие закономерности. У плодов гиперпластические процессы в миокарде более выражены по сравнению

с детьми грудного возраста без ВПС. В постнатальном периоде в миокарде при нормальном его развитии отмечены как гиперплазия, так и гипертрофия, что подтверждается морфометрическими данными и изменениями содержания ХЭ, которые косвенно характеризуют активность обменных процессов.

В случае патологического развития сердечной мышцы (на примере ТМС) отмечены более выраженные процессы гипертрофии, что характеризуют морфометрические данные. Активное развитие гипертрофии влечет за собой увеличение массы сердца больных ТМС практически в 3 раза по сравнению с сердцами без патологической гемодинамической нагрузки.

Изменения обменных процессов сопровождаются изменениями в содержании ХЭ, которое при ТМС существенно отличается от миокарда без ВПС. По уровню ХЭ при ТМС можно предположить, что развитие патологической гипертрофии в условиях выраженной гипоксии сопровождается избыточным содержанием Mn и особенно Cu, а также дефицитом K, Zn, Se, Cr и особенно Ni. Дефицит Ni связан не только с обменными процессами в сердечной мышце, но, возможно, ограничивает ангиогенез в миокарде, что еще более усугубляет тканевую гипоксию при ТМС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Панченко Л.Ф., Маев И.В., Гуревич К.Г. Клиническая биохимия микроэлементов. М.: ГОУВУНМЦ МЗРФ, 2004.
2. Кудрин А.В., Скальный А.А., Жаворонков А.А. и др. Иммунофармакология микроэлементов. М.: КМК, 2000.
3. Скальный А.В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение). М.: КМК, 1997.
4. Anke MM, Rich M. Naaranalyse und Spurenelements Status. Jena: Fischer, 1997.
5. Hurley LS. Developmental nutrition. New Jersey: Prentice, Hall, 1980.
6. Ruff HA. Population-based data and development of individual children: case of low to moderate lead levels and intelligence. J Dev Behav Pediatr, 1999; 20 (1): 42–79.
7. Bujaisky L, Zak R. Biological mechanisms of hypertrophy. Em. Fozzard HA, Haber E, Jenings RB et al. The Heart and Cardiovascular System. New York: Raven Press, 1986.
8. Zak R. Development and proliferative capacity of cardiac muscle cells. Circ Res, 1974, 35 (suppl II): 17–26.
9. Oparil S. Pathogenesis of ventricular hypertrophy. J Am Coil Cardiol, 1985; 5: 57.
10. Rudolph AM. Changes in the circulation after birth. Chicago: Year Book Medical, 1974.
11. Azoicai D, Ivan A, Bredatean M et al. The importance of use of selenium in role of an antioxidant in preventing cardiovascular disease. Rev Med Chir Soc Med Nat Lasi, 1997; 101(2): 109–115.
12. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека. М.: Медицина, 1991.
13. Schroeder HA, Nason AP, Tipton IH, Balassa JJ. Essential trace metals in man: copper. J Chron Dis, 1966; 19: 1007–1009.
14. Дебски Д., Гралак М. Хром в питании человека. Микроэлементы в медицине, 2001; 2 (4): 12–16.
15. DiCarlo FJ. Copper-induced heart malformations in hamsters. Experientia, 1979; 35 (6): 827–828.