

УДК 616.127-008.9-091.8-06-085.246.2

**СОДЕРЖАНИЕ БИОМЕТАЛЛОВ И ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ  
В МИОКАРДЕ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ НА ФОНЕ  
ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИРОДНЫХ ЭНТЕРОСОРБЕНТОВ**

Ю.В.НАЧАРОВ, В.Р.ГАТИН, Я.Б.НОВОСЕЛОВ, Ю.В.КУЛЯБИН

Новосибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ (г. Новосибирск)  
Сибирский федеральный центр оздоровительного питания (г. Новосибирск)

**Резюме:** Исследование нарушений содержания электролитов, наличия и степени морфофункциональных нарушений миокарда в динамике стрессорного повреждения миокарда (СПМ) на фоне применения селективного энтеросорбента позволило расширить представление о роли и механизме формирования микроэлементоза при данной патологии. Результаты исследования показали, что эффективным является применение энтеросорбента с целью профилактической целью, что доказывается более стабильными (близкими к контрольным) значениями показателей минерального гомеостаза, электрофизиологических и патоморфологическими данными, как в остром, так и раннем восстановительном периоде СПМ.

**Ключевые слова:** калий, натрий, кальций, магний, иммобилизационный стресс, миокард

**CONCENTRATIONS OF THE BIOMETALLS AND PECULIARITIES OF THE MORPHOLOGICAL  
CHANGES IN THE MYOCARDIUM DURING IMMOBILIZATION STRESS WITH THE  
BACKGROUND PROPHYLACTIC APPLICATION OF THE NATURAL ENTEROSORBENTS**

Y.V. NACHAROV, V.R. GATIN, YA.B. NOVOSELOV, YU.V.KULYABIN

**Summary:** Our research of the electrolytes content impairments, presence and degree of the morphofunctional impairments of the myocardium in dynamic of myocardium stress injury allows to extend understanding the role and microelementosis forming mechanism at this pathology. The results show that enterosorbent application is effective while aiming at prophylaxis. That was proved with more stable (closer to the control ones) values of mineral homeostasis, electrophysiological and pathomorphological data both at acute recovery period of the myocardium stress injury and early one.

**Keywords:** potassium, sodium, calcium, magnesium, immobilization stress, myocardium.

Вторая половина XX века характеризуется неуклонным ростом сердечно-сосудистой патологии, принимающей характер пандемии, в равной степени захватывающей все промышленно развитые страны [4]. Ишемические повреждения сердца занимают одно из ведущих мест в этой «кровооточающей» статистике [6]. Системные нарушения, связанные с ишемией миокарда (ИМ) представляет собой сложную системную патологию, отличающуюся особой тяжестью течения.

От состояния обмена биометаллов во многом зависят процессы проводимости и сократимости миокарда, а также изменения ЭКГ-параметров. Изменения констант ионного обмена многие авторы считают одним из важных звеньев в развитии процессов восстановления и повреждения миокарда при ишемической болезни сердца и инфаркте миокарда [5, 13]. В то же время имеющиеся сведения об изменениях обмена биометаллов при стрессорном повреждении миокарда (СПМ) зачастую носят противоречивый характер, либо страдают односторонним подходом, абсолютизируя значимость того или иного макро- или микроэлемента, изучение которого ограничено рамками отдельного изолированного компонента системы, в развитии данной патологии [8].

Практически отсутствуют данные, касающиеся оценки роли лимфатического русла, в первую очередь, лимфатических узлов – мощного звена гомеостаза – в регуляции обмена электролитов при СПМ. Единичные работы, посвященные этой теме, раскрывают лишь отдельные аспекты функционирования лимфатической системы в условиях ишемии миокарда. При этом они не затрагивают одни из ведущих триггерных элементов – лимфатические узлы [3, 11].

Использование данных о нарушениях биометаллов в патогенезе стрессорного повреждения миокарда и адекватных способах их применения может значительно повысить эффективность проводимой профилактики и терапии данного состояния [14].

**Цель исследования:** изучить содержания натрия, калия, магния и кальция, а также особенности морфологических изменений в миокарде при иммобилизационном стрессе на фоне профилактического применения селективного энтеросорбента.

**Материал и методы исследования.** Исследования проводились на 60 самцах крыс Вистар, полученных из вивария НГМУ массой 180 - 220 г в осенне-зимний период.

Контролем служили интактные животные (К), группой сравнения - крысы, подвергнутые иммобилизационному стрессу с введением через зонд аналогичного объема дистиллированной воды («СПМ+ДВ»)

– 1-я группа. При этом у крыс не возникало водной перегрузки, равно, как и выраженных сдвигов в обмене электролитов и гормональных показателей [7].

Экспериментальной группой (СПМ+Л<sub>n</sub>) служили животные (2-я группа) с стрессорным повреждением миокарда, которым вводилась стандартизованный, в соответствии с установленными нормативами для производства и использования в медицинской практике, природный клиноптилолит, предоставленный производителем (НПФ «Новь», г. Новосибирск), в виде взвеси в водном растворе (1:1) из расчета 100 мг/кг массы тела. Селективный энтеродонорсорбент вводился внутривентрикулярно через зонд ежедневно, один раз в сутки, в течение 21 суток до начала иммобилизационного стресса, который вызывали методом ограничения движения при ярком освещении. Животных испытываемой группы (n=20) помещали в пластиковые отсеки с ограниченным объемом (~60 см<sup>3</sup>) и подвижной «хвостовой» частью для подгонки длины иммобилизационного отсека под индивидуальную размер животного. Время пребывания крыс в отсеках составляло 12 часов.

Для определения натрия, калия, кальция и магния в миокарде раствор пробы распыляли в виде аэрозоля в пламени ацетиленовой горелки (длина пламени 110 мм), через которое проходил свет резонансной линии определяемого элемента от лампы полого катода. В пламени происходила диссоциация солей на свободные атомы кальция и магния, которые поглощают излучение резонансной линии. Результаты определялись на атомно-абсорбционном спектрофотометре "Квант-Z-эта" (Россия). Содержание электролитов в плазме и лимфоплазме выражалось в г/л, в тканях – в % к сухому веществу.

Для записи ЭКГ крыс обеих линий помещали в экранированный ящик в положении на животе и соединяли с кардиографом Mingograph-34 (Швеция) с помощью игольчатых электродов. Тонкие иглы вводили под кожу 4-х конечностей. ЭКГ регистрировали в 3-х стандартных и 3-х усиленных от конечностей отведениях при скорости движения ленты самописца 100 мм/сек и чувствительности каналов 20 мм/1мВ. Анализ ЭКГ проводили путем измерения ширины и амплитуды зубцов P, R, S, T, комплекса QRS и длительности интервалов PQ, QRST, RR.

Для морфологических исследований ткани миокарда крыс обеих линий фиксировали в смеси 2% параформальдегида и 2,5% глутаральдегида на 0,1М фосфатном буфере, дофиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия, обезжировали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон-аралдит. Полученные тонкие срезы папиллярной мышцы сердца окрашивали толуидиновым синим и изучали светооптически. Ультратонкие срезы, контрастированные солями свинца и урана, использовали для обзорного и количественного ультраструктурного исследования. С помощью морфометрических методик в КМЦ определяли относительные объемы митохондрий, миофибрилл и саркоплазматической сети (СПС), численную плотность и площадь поперечного сечения митохондрий, а также толщину миофибрилл. Определялись диаметр просвета и толщина стенки артерий, объемная плотность стромы и КМЦ, объемное отношение митохондрий к миофибриллам и объемное отношение СПС к миофибриллам. Для морфологических исследований использовалось по 6 животных на каждый срок эксперимента.

Статистическая обработка материала осуществлялась при помощи пакета прикладных программ Excel 7.0 определением средней (Н), ошибки средней ( $M \pm m$ ), критерия Стьюдента и корреляционного анализа. При этом достоверность результатов соответствовала  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Известно, что длительные экстремальные воздействия на организм вызывают диффузные повреждения сердца, получившие в литературе название "стрессорной кардиомиопатии". Подобные нарушения, по мнению ряда исследователей [9], могут способствовать развитию ишемической болезни сердца и других поражений миокарда. Особое внимание уделяется нарушениям обмена биометаллов при стрессорном повреждении миокарда, разветвляющимся в системе плазма-лимфа-миокард, которые вносят значимый вклад в формирование динамики данного заболевания. В целом, состояние минерального гомеостаза в миокарде является как прямым повреждающим фактором, влияющим на морфофункциональное состояние КМЦ при СПМ, так и опосредованным фактором, влияющим на эндокринно-метаболический компонент адаптациогенеза к "ударной биохимической волне" при ишемии миокарда, развившейся на фоне стресса [12].

У животных группы 1-й группы наблюдалось достоверное повышение натрия в миокарде на 1 - 3-и сутки СПМ (на 46% и на 66,6% соответственно). На 7-е сутки эксперимента уровень  $Na^+$  в миокарде возвращался к нормативному значению. На 14-е сутки у крыс группы «СПМ+ДВ» отмечалось повторное повышение содержания натрия в миокарде по сравнению с контролем (на 28,2%) с последующей нормализацией к 21-м суткам исследования.

У животных группы «СПМ+Л<sub>n</sub>» содержание натрия в миокарде не отличалось от контрольного значения на протяжении всего эксперимента. На 1-е, 3-и и 14-е сутки исследования уровень натрия в миокарде крыс 3-й группы был достоверно (на 30%, 40% и 24% соответственно) выше, чем у животных 1-й группы. Это может свидетельствовать о повышении потенциала покоя у МКЦ, что может снижать сократительную и возбудительную функции миокарда. По-видимому, предварительное введение энтеросорбента в большей степени поддерживает работу ионных каналов и тем самым предотвращает нарушение возбудимости миокарда в остром периоде СПМ.

Содержание калия в миокарде крыс группы «СПМ+ДВ» в остром периоде максимально повышено на 1-е и 3-е сутки (на 20% и на 26,6% соответственно). Уровень калия в миокарде крыс в группе «СПМ+Л<sub>n</sub>» в острый период практически соответствует контрольному значению.

Начиная с 7-х суток эксперимента, содержание калия в миокарде животных всех экспериментальных групп не отличалось от контрольного значения. Кроме того, в эти сроки не было выявлено межгрупповых различий. Данные результаты хорошо согласуются с отсутствием смертности у животных этой группы и менее выраженными электрофизиологическими и патоморфологическими проявлениями при СПМ.

Содержание кальция в миокарде 1-й группы увеличено по сравнению с контролем, начиная с 1-х суток и до конца эксперимента с максимальным повышением в группе «СПМ+ДВ» на 3-е сутки (в 2,6 раза).

У животных группы «СПМ+Л<sub>n</sub>» содержание кальция в миокарде было достоверно выше (на 50%) контрольного значения на 1-е и 3-и сутки эксперимента. На протяжении всего периода исследования уровни кальция в миокарде крыс этой группы были достоверно (на 36%, 44%, 53%, 43% и 46% соответственно) ниже, чем у животных 1-й группы.

Таким образом, профилактическое применение энтеросорбента способствует меньшему накоплению  $Ca^{2+}$  в миокарде, что может приводить к меньшей степени выраженности «кальциевого парадокса» и «кальциевой триады», что будет способствовать снижению его аритмогенного эффекта и снизит выраженность и распространенность поражения КМЦ.

Содержание магния в миокарде крыс 1-й группы было достоверно снижено по сравнению с контролем с 1-х по 7-е сутки эксперимента (максимально – на 50% на 3-и сутки). Содержание магния в миокарде в этой же группе не претерпевает существенных изменений в восстановительном периоде и при этом практически соответствует контрольным значениям.

В группе животных «СПМ+Л<sub>n</sub>» содержание магния в миокарде в течение всего периода исследования достоверно не отличалось от контрольного значения. Однако на 1-е, 3-и и 7-е сутки уровни магния в миокарде крыс этих экспериментальных групп были существенно выше, чем таковые, определенные у животных 1-й группы (на 80%, в 2,8 раза и 60% соответственно). В восстановительный период содержание магния в миокарде в группе «СПМ+Л<sub>n</sub>» соответствовало значению контрольной группы.

Накопление  $Mg^{2+}$  в миокарде (у животных «СПМ+Л<sub>n</sub>») заслуживает самого пристального внимания. Биологический смысл этого феномена трудно переоценить: многократное увеличение содержания магния в тканях является защитно-приспособительной реакцией, направленной на стимуляцию клеточных митозов, поскольку ионы кальция и магния являются необходимыми кофакторами созревания. Ионы магния, помимо всего прочего, обеспечивают активность интегринов (LFA-1) [1] и прямо влияют на синтез протеинов и нуклеиновых кислот. Следовательно, ситуация СПМ с неизбежностью приводит к увеличению потребления магния кардиомиоцитами. Вполне возможно, что этот феномен является обязательным компонентом *неспецифической адаптивной реакции*, направленной на поддержание функций митохондрий (учитывая тесную связь магния с митохондриальными компартментами). Сайтами связывания катионов в этом случае выступают митохондриальные мембраны и геном, что, возможно, и определяет интенсивность энергетических процессов в клетке [2].

Особо следует остановиться на предложенном Saito N. et al. (1995) анализе соотношений  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$ , увеличение которого они расценивали как фактор тканевого повреждения [10]. В данной исследовательской работе показана динамика этих электролитов в миокарде. Становится очевидным, что максимум повреждения КМЦ приходится на 1-е сутки. В связи с этим позволю высказать утверждение, что данный показатель может быть использован для регистрации стрессорных повреждений сердца, поскольку до сих пор в качестве такового использовался хоть и простой, но достаточно дорогостоящий метод определения поврежденных КМЦ меченого изотопом технеция пирофосфата.

Изменения электролитного фона могут напрямую определять такие ЭКГ-параметры, как длину интервала PQ, тенденция к увеличению которого сохраняется до конца исследования. По мнению W. Zareba et al. (1994), это связано с затруднением прохождения возбуждения по предсердиям и атриоventрикулярному узлу до миокарда желудочков.

Для крыс группы «СПМ+ДВ» в первые сутки после СПМ наиболее характерны диффузные дистрофические изменения КМЦ. Их отек и пересокращение увеличивают средний диаметр клеток по сравнению с контролем. Морфометрические параметры артериолярного русла меняются мало, но количество открытых капилляров увеличено. При электронномикроскопическом исследовании в КМЦ обнаруживаются признаки повреждения по контрактурному типу разной степени выраженности. В наименее пострадавших КМЦ (согласно полуколичественной оценке их более 60%) они носят обратимый характер. В более поврежденных клетках (их около 30%) имеются истинные контрактуры с разрывами миофибрилл в соседних участках. Некоторые клетки (около 10%) подвергаются необратимой дегенерации. У крыс группы «СПМ+Л<sub>n</sub>» на 1-е сутки СПМ также как у животных 2-й группы в большей степени повреждается строма органа. Ее объемная плотность увеличена по сравнению с контролем на 14,5 %, однако она стано-

вится достоверно ниже по сравнению с таковыми у крыс 1-й группы (на 29%). Все артериальные сосуды остаются также резко расширенными, особенно в микроциркуляторном отделе. Капиллярное русло резко полнокровно (численная плотность профилей достоверно увеличена на 50% по сравнению с контролем, а также на 12% по сравнению с животными 1-й группы), их просветы зияют. У крыс группы «СПМ+Л<sub>n</sub>» на 1-е сутки СПМ отмечены острые повреждения интрамуральных нервных окончаний: они расширены, отечны, количество везикул снижено, митохондрии разрушены. Однако степень выраженности этих нарушений значительно ниже, чем у контрольных животных. При электронно-микроскопическом исследовании выявлено, что подавляющее большинство (около 97 %) сохраняют правильную архитектуру, взаимное расположение и при этом имеют умеренно выраженные острые изменения основных клеточных органоидов. Клетки выглядят уплотненными за счет легкого равномерного укорочения всех саркомеров, однако объемная плотность миофибрилл у животных этой группы не отличается от контроля, однако становится существенно выше (на 6%) по сравнению с крысами 1-й группы. Объемная плотность митохондрий существенно превышает контрольное значение на 21%, а также значения, определенные у крыс 1-й группы в этот период исследования (на 12%). Очень незначительное число КМЦ имеют признаки необратимых повреждений.

Отличительной особенностью миокарда крыс группы «СПМ+ДВ» на восстановительном этапе является нарушение общей архитектоники мышечного пласта. Многие КМЦ имеют отросчатую, иногда звездчатую форму с глубокими расщеплениями тела клетки; их средний диаметр уменьшен по сравнению с исходным состоянием. Между клетками располагаются прослойки соединительной ткани, формирующие грубый кардиосклероз. Другая особенность миокарда гипертензивных животных в конце эксперимента - состояние микроциркуляторного русла. Просветы всех артериол с наружным диаметром до 100 мкм резко расширены, их стенки растянуты, что особенно показательны в самых мелких сосудах, где отношение стенки / просвет уменьшено в два раза по сравнению с контролем. Число выявляемых капилляров достоверно увеличено. Ультраструктура КМЦ пестрая, но преобладают гипертрофированные КМЦ с морфологическими признаками усиленного белкового синтеза. Наряду с этим около 10% КМЦ атрофичны: у них уменьшены размеры, и относительный объем миофибрилл снижен до 30%.

К концу периода наблюдения у крыс группы «СПМ+Л<sub>n</sub>» имеется типичная картина гипертрофии миокарда с выраженным кардиосклерозом. Обширные участки соединительной ткани оплетают практически каждый гипертрофированный КМЦ и формирует периваскулярный склероз. Показатели микроциркуляторного русла не отличаются от контрольных. Ультраструктурные исследования и стереоморфометрия свидетельствуют о повышенном объеме миофибрилл в КМЦ без каких-либо признаков острого повреждения органоидов.

**Вывод.** Полученные данные позволяют с уверенностью говорить о значимых количественных и качественных изменениях в обмене электролитов в динамике стрессорного повреждения миокарда. Профилактическое использование селективных энтеродоноросорбентов при стрессорном повреждении миокарда модифицирует содержание кальция, магния, калия и натрия в миокарде и способствует нормализации электрофизиологических и морфологических параметров миокарда.

### Литература

1. Жаворонков А.А., Кудрин А.В. // Арх. патол. 1996. N 6. С. 65-70.
2. Кухарь В.П. и др. Химия биорегуляторных процессов. Киев, Наукова думка, 1991. 236 с.
3. Рейхерт В.Э. Роль эндокринно-метаболических нарушений в генезе посттравматического повреждения сердца: Дисс... докт. мед. наук. Новосибирск, 2001.
4. Шлант Р.К. и др. Клиническая кардиология (пер. с англ.). М.:СПб.: «Бином» – «Невский диалект», 1998. 579 с.
5. Штеренталь И.Ш. и др.//Кардиология. 1995. Т.35. № 8. С.14-17.
6. Якобсон М.Г. Особенности эндокринно-метаболического профиля в динамике инфаркта миокарда на фоне артериальной гипертензии (клинико-экспериментальное исследование): Дисс... докт. мед. наук. - Новосибирск, 2001.
7. Matsui S. et al. // Can. J. Physiol. Pharmacol. 2007. Vol. 85. N 2. P.264-273.
8. Lucas L.R. et al. // Brain Res. 2007. Vol. 1155. P.108-115.
9. Sahin E., Gümüslü S. // Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. 2007. Vol. 144. N 4. P.342-347.
10. Saito N. et al. // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 1995. Vol.22. Suppl.1. P.S212 - S214.
11. Sapin M.P. et al. // Morfologiya. 2001. Vol. 119. N 1. P.48-51.
12. Wong D.L., Tank A.W. // Stress. 2007. Vol. 10. N 2. P.121-130.
13. Zareba W. et al. // Am.J.Cardiol. 1994. Vol.74. P.550 - 553.
14. Zimecki M. et al. // Postepy Hig. Med. Dosw. (Online). – 2007. – Vol. 61. – P.283-287.