

**Е. Э. Кливер<sup>1</sup>, А. М. Волков<sup>1</sup>, Д. В. Субботин<sup>2,3</sup>, Г. М. Казанская<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения  
им. акад. Е. Н. Мешалкина  
ул. Речкуновская, 15, Новосибирск, 630055, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет  
ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090, Россия

<sup>3</sup> Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии  
ул. Фрунзе, 17, Новосибирск, 630091, Россия

E-mail: kliver\_68@mail.ru

### **АСПЕКТЫ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОГО И ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКОГО ТИПОВ КОМПЕНСАЦИИ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА**

Проведено исследование миокарда с использованием флуоресцентных зондов – этидиум бромида и хлортетрациклина – у умерших детей в возрасте до года с транспозицией магистральных сосудов. С учетом динамики интенсивности изученных морфологических процессов установлено, что гипертрофические изменения миокарда прогрессируют с возрастом. Большую роль в ремоделировании сердца у пациентов старше 6 мес. играют гиперпластические процессы, связанные с интенсивной полиплоидизацией генетического материала и увеличением количества дезоксирибонуклеиновой кислоты. Понижение уровня суммарных ионов кальция в кардиомиоцитах, по данным флюориметрического исследования, взаимообусловлено появлением зон кардиосклероза при нарастании гипертрофии миокарда, что усиливает клинические проявления сердечной недостаточности вследствие снижения скорости сокращения гипертрофированных волокон.

*Ключевые слова:* транспозиция магистральных сосудов, гиперплазия миокарда, гипертрофия миокарда, флуоресцентные методы.

Врожденные пороки сердца (ВПС) относятся к наиболее тяжелой патологии детского возраста. По значимости прогноза для жизни ребенка они занимают одно из первых мест среди всех поражений сердца. Серьезную проблему для кардиохирургов, кардиологов, неонатологов составляют сложные пороки с выраженной гипоксемией, среди которых самым распространенным вариантом ВПС является транспозиция магистральных сосудов (ТМС). Частота встречаемости этого порока составляет 7–15 % от всех ВПС и 20–40 % среди новорожденных, попадающих в поле зрения кардиохирургов в первую неделю жизни [1; 2].

Сложность лечения пациентов с такими пороками заключается в необходимости правильно оценить возможности желудочков

сердца в обеспечении адекватного сердечного выброса [3–6]. В настоящее время еще не вполне установлены взаимоотношения процессов физиологического роста сердца и развития компенсаторной гипертрофии миокарда, особенно в раннем периоде жизни. Известно, что в покое и во время дополнительного стресса на функцию желудочков оказывает влияние взаимодействие генной трансформации, структурных изменений [7; 8], обусловленных гемодинамическими и вегетативными факторами. Однако полученные экспериментальные данные подтверждают то, что возраст также является очень важным фактором в определении типа, скорости и функциональной особенности реакции миокарда на перегрузку давлением [9; 10].

В последние годы в связи с развитием новых технологий в кардиохирургии ВПС, возможностью ремоделирования полостей сердца изучение компенсаторной гипертрофии миокарда при этой патологии приобрело новое значение. Прогресс в развитии новых иммунофлуоресцентных методов выявления белков-маркеров, позволяющих строго идентифицировать кардиомиоциты среди других клеток сердца и одновременно зафиксировать появление в этих клетках специфических белков, участвующих в репликации ДНК [11], способствовал появлению научных работ, указывающих на присутствие пролиферативных процессов в миокарде взрослых млекопитающих и человека [12].

**Цель** исследования – оценить особенности гипертрофического и гиперпластического типов компенсации у детей первого года жизни с транспозицией магистральных сосудов с использованием флуоресцентных меток.

### Материал и методы

Использован аутопсийный материал миокарда умерших в послеоперационном периоде больных в возрасте до года. Материал разделен на две группы в зависимости от анатомических вариантов: I группа – 37 лиц с ТМС с дефектом межпредсердной перегородки (ДМПП) и интактной межжелудочковой перегородкой (ИМЖП); II группа – 31 пациент с ТМС с ДМПП и дефектом межжелудочковой перегородки (ДМЖП). Группы сравнения составили 14 умерших от внесердечной патологии аналогичного возраста и 21 плод после самопроизвольного или индуцированного аборта.

Для определения массы сердца после вскрытия и освобождения органа от крови и сгустков проводилось его взвешивание и вычисление абсолютной и относительной массы. Измерению подлежали следующие кардиометрические параметры: длина сердца – расстояние от места отхождения аорты до верхушки; ширина – расстояние между боковыми поверхностями сердца на уровне желудочков; толщина – наибольший передне-задний размер сердца. Толщину миокарда желудочков определяли на поперечных разрезах. Окружность (периметр) атриовентрикулярных отверстий и полулунных клапанов измеряли по линии прикрепления

их оснований. Кроме этого проводилось определение линейных размеров каждого желудочка (приточного и отточного трактов).

Биоптаты миокарда фиксировали в 4 % растворе формалина на фосфатном буфере. Далее образцы отмывали в растворе дистиллированной воды с последующей проводкой по криопротектантам (растворы сахарозы 5 % – 2 ч, 10 % – 2 ч и 15 % – 12 ч). Флуориметрия гистологических препаратов проводилась с использованием микроскопа Axioskop 40FL и камеры AxioCamHRC. При комнатной (24 °C) температуре выполнялись компьютерные изображения по 20 с каждого гистологического препарата. Использован объектив Zeiss Plan-Neofluar × 40. Полученные изображения обрабатывались с помощью программного обеспечения AxioVision 3.1 («Carl Zeiss», Германия).

Для проведения флуориметрии миокарда использовались флуоресцентные зонды: этидиум бромид и хлортетрациклин. Окраска срезов миокарда этидиум бромидом проводилась в фосфатном буфере с pH = 7,4, содержащем  $5,0 \times 10^{-3}$  г/л этидиума бромида, 5 мин при 25° C; хлортетрациклином также в фосфатном буфере с pH = 7,4, содержащем  $2,6 \times 10^{-2}$  г/л хлортетрациклина, 1 мин при 25° C. После этого проводилась флуориметрия гистологических препаратов: для этидиума бромида (поглощение 510–523 нм, испускание 595–605 нм), хлортетрациклина (поглощение 400 нм, испускание 520 нм).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Microsoft Excel 2000. Достоверность отличий средних величин и корреляционных взаимоотношений проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента. Достоверными считали отличия при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и обсуждение

Гипертрофические изменения сердца достаточно быстро прогрессируют с возрастом, превышая должные возрастные показатели в 2 раза у новорожденных и в 2,3–2,5 раза у детей раннего возраста. Так, у новорожденных с ТМС и ДМЖП должная масса сердца составила  $22,3 \pm 1,9$ , абсолютная –  $45,7 \pm 2,6$  г; в возрасте 6–12 месяцев  $35,8 \pm 2,1$  и  $95,4 \pm 10,7$  г соответ-

Основные показатели желудочков сердца  
у детей с транспозицией магистральных сосудов

Возраст	Масса сердца, г		Толщина стенки, см		Линейный размер, см			
	абс.	должная	ПЖ	ЛЖ	приток		отток	
					ПЖ	ЛЖ	ПЖ	ЛЖ
ИМЖП ( $n = 37$ )								
До 1 мес. ( $n = 19$ )	45,2 ± 2,2 *	22,2 ± 1,8	0,53 ± 0,04	0,55 ± 0,04	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,2	3,4 ± 0,2	3,4 ± 0,2
1–6 мес. ( $n = 18$ )	63,8 ± 5,7 *	25,7 ± 1,8	0,62 ± 0,04	0,69 ± 0,05	2,6 ± 0,1	2,8 ± 0,1	3,8 ± 0,1	3,9 ± 0,2
ДМЖП ( $n = 31$ )								
До 1 мес. ( $n = 7$ )	45,7 ± 2,6 *	22,3 ± 1,9	0,51 ± 0,05	0,46 ± 0,05	2,6 ± 0,2	2,6 ± 0,1	3,3 ± 0,1	3,9 ± 0,1
1–6 мес. ( $n = 13$ )	56,1 ± 5,5 *	26,2 ± 1,8	0,61 ± 0,88	0,66 ± 0,88	2,6 ± 0,8	3,1 ± 0,6	3,8 ± 0,7	4,2 ± 0,7
6–12 мес. ( $n = 11$ )	95,4 ± 10,7 *	35,8 ± 2,1	0,69 ± 0,05	0,59 ± 0,04	3,1 ± 0,3	3,4 ± 0,3	4,3 ± 0,3	4,5 ± 0,3

Примечание: \* – отличия достоверны по отношению к должной массе при  $p < 0,05$ ; ЛЖ – левый желудочек; ПЖ – правый желудочек.

ственно. При ИМЖП линейные размеры притока и оттока обоих желудочков сердца были равны, а при ДМЖП они оказались несколько больше в левом желудочке (см. таблицу). Эти изменения указывают на возрастающую нагрузку данного отдела сердца, которая на фоне увеличивающейся с возрастом функциональной гипертрофии правого желудочка, приводит впоследствии к резкому снижению работоспособности и развитию синдрома «малого выброса» в раннем послеоперационном периоде после анатомической коррекции порока сердца.

Гемодинамически группа ТМС с ИМЖП характеризуется двунаправленным сбросом, объем которого при изолированном шунтировании на уровне предсердий будет зависеть от растяжимости предсердий, разницы давления в них в разные фазы сердечного цикла, размера межпредсердного дефекта и разницы сопротивления малого и большого круга кровообращения. Так как большой и малый круги кровообращения (БКК, МКК) при ТМС разобщены, основным механизмом компенсации является увеличение объема циркулирующей крови, что приводит к переполнению МКК [1]. При этом анатомическом варианте ТМС функциональная нагрузка на желудочки практически одинакова, что подтверждается полученными результатами при окраске миокарда эти-

диумом бромидом. Данные указывают на то, что пик активного синтеза наработки генетического материала в обоих желудочках сердца в этой группе по сравнению с контрольными приходится на период новорожденности и проявляется резким снижением интенсивности окраски на флуоресценции.

Вторая группа сердец с ТМС гемодинамически характеризуется наличием двух сообщений – на уровне межпредсердной и межжелудочковой перегородок, что улучшает смешивание крови на уровне желудочков за счет перекрестного сброса. При маленьких размерах ДМЖП давление в МКК повышается незначительно, при больших размерах ДМЖП оно выравнивается в обоих кругах кровообращения, что приводит к развитию высокой легочной гипертензии (ВЛГ) и нарастанию гипоксемии [2; 13]. При этом анатомическом варианте ТМС в связи с увеличением объема крови на оба желудочка приходится большая функциональная нагрузка по сравнению с первой описанной группой больных, что проявляется у них снижением уровня флуоресценции в грудном возрасте (1–6 мес.). По нашему мнению, это характеризует начало процессов ремоделирования сердца с включением в возрасте старше 6 мес. гиперпластических явлений, связанных с полиплоидизацией

ядерного материала и последующим развитием гипертрофических явлений, что обусловлено сложившимися после рождения соответствующими гемодинамическими условиями.

Проведенный статистический анализ результатов флуориметрии выявил достоверные отличия по снижению интенсивности флуоресценции этидиума бромида у пациентов в возрасте до 6 мес. с последующим увеличением активности метки. Это связано с развитием гиперпластических изменений, нарастающих после 6 месяцев. Гиперплазия характеризуется полиплоидизацией генетического материала, увеличивая количество ядерного ДНК [14], а этидиум бромид интерколирует двухцепочечную ДНК, приводя к усилению интенсивности флуоресценции метки.

Динамика флуоресценции хлортетрациклина показала значительное ее снижение в образцах миокарда пациентов с врожденными пороками сердца по сравнению с контролем.

Снижение количественного содержания суммарных ионов  $Ca^{2+}$  связано с развитием гипертрофических явлений в миокарде у пациентов с врожденными пороками сердца. Это обусловлено развитием у них гипертрофических явлений в миокарде и, вероятнее всего, уменьшением соотношения сократительных элементов миофибрилл и появлением зон миосклероза, что клинически выражается доминированием явлений сердечной недостаточности.

## Выводы

1. Гипертрофические изменения миокарда больных с транспозицией магистральных сосудов прогрессируют с возрастом, превышая должные возрастные показатели в 2 раза у новорожденных и 2,3–2,5 раза у детей раннего возраста. Большую роль в ремоделировании сердца у пациентов в возрасте старше 6 мес. играют гиперпластические процессы, связанные с интенсивной полиплоидизацией генетического материала и увеличением количества дезоксирибонуклеиновой кислоты.

2. Понижение уровня суммарных ионов кальция в кардиомиоцитах у пациентов с транспозицией магистральных сосудов, по данным флуориметрического исследования, взаимообусловлено появлением зон кар-

диосклероза при нарастании гипертрофии миокарда, что клинически выражается прогрессирующим явлением сердечной недостаточности.

## Список литературы

1. Адкин Д. В., Гнусаев С. Ф., Ильин В. Н. Критерии ранней диагностики и тактика раннего дооперационного ведения новорожденных с «простой» транспозицией магистральных артерий // Педиатрия. 2002. № 3. С. 88–91.
2. Хоффман Дж. Детская кардиология: Пер. с англ. М., 2006.
3. Castaneda A. R., Norwood W. I., Jonas R. A., Colan C. D. Transposition of the Great Arteries and Intact Ventricular Septum: Anatomical Repair in the Neonate // Ann. Thorac. Surg. 1984. Vol. 38, № 5. P. 438–443.
4. Castaneda A. R. Arterial Switch Operation for Simple and Complex TGA-indication Criterias and Limitations Relevant to Surgery // Thorac. Cardiovasc. Surg. 1991. Vol. 39, suppl. 2. P. 151–154.
5. Castaneda A. R. Surgical Management of Transposition of the Great Arteries // Acta Chir. Austriaca. 1993. Vol. 25, № 2. P. 80–82.
6. De Lange T. Protection of Mammalian Telomeres // Oncogene. 2002. Vol. 21. P. 523–540.
7. Khan A. S., Lynch C. D., Sane D. C., Willingham M. C., Sonntag W. E. Growth Hormone Enhances Regional Coronary Blood Flow and Capillary Density in Aged Rats // J. Gerontol: Biol. Sci. 2001. Vol. 56. P. 364–371.
8. Fujii A. M., Gelpi R. J., Mirsky I., Vatner S. F. Systolic and Diastolic Dysfunction during Atrial Pacing in Conscious Dogs with Left Ventricular Hypertrophy // Circ. Res. 1988. Vol. 62. P. 462–470.
9. Ioyama S., Wei J. Y., Izumo S. Effect of Age on the Development of Cardiac Hypertrophy Produced by Aortic Constriction in the Rat // Circ. Res. 1987. Vol. 61. P. 337.
10. Bolli R. Regeneration of the Human Heart – no Chimera? // N. Engl. J. Med. 2002. Vol. 346, № 1. P. 55–56.
11. Kajstura J., Zhang X., Reiss K., Szoke E., Li P., Lagrasta C., Cheng W., Darzynkiewicz Z., Olivetti G., Anversa P. Myocyte Cellular Hyperplasia and Myocyte Cellular Hypertrophy Contribute to Chronic Ventricular Remodeling in Coronary Artery Narrowing-

Induced Cardiomyopathy in Rats // *Circ. Res.* 1994. Vol. 74, № 3. P. 383–400.

12. *Kirklin J. W., Barratt-Boyes B. G.* Cardiac Surgery. N. Y., 1986. P. 1129–1217.

13. *Emmanouilides C. G., Baylen G.* Neonatal Cardiopulmonary Distress. Chicago; L., 1994. P. 203–208.

14. *Liu Y., Cigola E., Cheng W.* Myocyte Nuclear Mitotic Division and Programmed Myocyte Cell Death Characterize the Cardiac Myopathy Induced by Rapid Ventricular Pacing in Dogs // *Lab. Invest.* 1995. Vol. 73. P. 771–787.

*Материал поступил в редколлегию 13.02.2012*

**E. E. Kliver, A. M. Volkov, D. V. Subbotin, G. M. Kazanskaya**

**ASPECTS OF HYPERTROPHIC AND HYPERPLASTIC TYPES OF INDEMNIFICATION AT INFANTS WITH CONGENITAL HEART DISEASES**

Myocardium from children less than years old, who suffered from transposition of great vessels was investigated using fluorescent agents (ethidium bromide and clortetraciline). Considering course of the morphological process's intensity it was established that myocardial hypertrophic changes progress with child's age. Hyperplastic processes, connected with the intensive polyploidization of cell genetic material and increased amount of DNA, figure in heart remodeling process among patients, who older than 6 month old. Decrease of the total calcium level in cardiomyocytes, established by fluorimetric research, interdepends of the appearance of cardiosclerotic zones by the augmentation of the myocardial hypertrophy. It enhances clinical presentations of the heart failure as a result of decrease of the rate of hypertrophic cardiomyocyte contraction.

*Keywords:* transposition of great vessels, myocardium hyperplasia, myocardium hypertrophy, fluorescent methods.