

49. Reynolds J.M. Toll-like receptor 2 signaling in CD4+ T lymphocytes promotes T helper 17 responses and regulates the pathogenesis of autoimmune disease / J.M. Reynolds, B.P. Pappu, J. Peng [et al.] // *Immunity*. - 2010. - Vol. 32, № 5. - P. 692-702.
50. Reynolds J.M. Toll-like receptor 4 signaling in T cells promotes autoimmune inflammation / J.M. Reynolds, G.J. Martinez, Y. Chung [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. - 2012. - Vol. 109, № 32. - P. 1306-1309.
51. Saikh K.U. Toll-like receptor and cytokine expression patterns of CD56+ T cells are similar to natural killer cells in response to infection with Venezuelan equine encephalitis virus replicons / K.U. Saikh, J.S. Lee, T.L. Kissner [et al.] // *J. Infect. Dis.* - 2003. - Vol. 188, № 10. - P. 1562-1570.
52. Spiller S. Cellular recognition of trimyristoylated peptide or enterobacterial lipopolysaccharide via both TLR2 and TLR4 / S. Spiller, S. Dreher, G. Meng [et al.] // *J. Biol. Chem.* - 2007. - Vol. 282, № 18. - P. 1390-1398.
53. Spits H. Innate lymphoid cells: emerging in sight sin development, line a gerelation ships and function / H. Spits, T. Cupedo // *Annu. Rev. Immunol.* - 2012. - Vol. 30. - P. 647-675.
54. Spits H. Innate lymphoid cells- a proposal for uniform nomenclature / H. Spits, D. Artis, M. Colonna [et al.] // *Nat. Rev. Immunol.* - 2013. - Vol. 13, № 2. - P. 145-149.
55. Tretter T. Induction of CD4+ T-cell anergy and apoptosis by activated human B cells / T. Tretter, R.K. Venigalla, V. Eckstein [et al.] // *Blood*. - 2008. - Vol. 112, № 12. - P. 4555-4564.
56. Watanabe T. Lipid A directly inhibits IL-4 production by murine Th2 cells but does not inhibit IFN-g production by Th1 cells / T. Watanabe, T. Inoue, H. Ochi [et al.] // *Eur. J. Immunol.* - 1999 - Vol. 29, № 2. - P. 413-418.
57. Walker L.S. Regulatory T cells overturned: the effectors fight back / L.S. Walker // *Immunology*. - 2009. - Vol. 126, № 4. - P. 466-474.
58. Wojno E. Innate Lymphoid Cells: Balancing Immunity, Inflammation, and Tissue Repair in the Intestine / E. Wojno, D. Artis // *Cell Host Microbe*. - 2012. - Vol. 12. - P. 445-457.
59. Yang X.O. STAT3 regulates cytokine-mediated generation of inflammatory helper T cells / X.O. Yang, A.D. Panopoulos, R. Nurieva [et al.] // *J. Biol. Chem.* - 2007. - Vol. 282, № 13. - P. 9358-9363.
60. Zanin-Zhorov A. Heat shock protein 60 enhances CD4+ CD25+ regulatory T cell function via innate TLR2 signaling / A. Zanin-Zhorov, L. Cahalon, G. Tal [et al.] // *J. Clin. Invest.* - 2006. - Vol. 116, № 7. - P. 2022-2032.
61. Zhang X. IFN-beta1a inhibits the secretion of Th17-polarizing cytokines in human dendritic cells via TLR7 up-regulation / X. Zhang, J. Jin, Y. Tang [et al.] // *J. Immunol.* - 2009. - Vol. 182, № 6. - P. 3928-3936.

### Реферати

#### ЗАКОНОМЕРНОСТИ ЭКСПРЕССИИ TLR ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

Жеребятъев А.С., Топол И.А., Деген А.С., Камышный А.М.

Обзор литературы с собственными данными посвящен описанию последних достижений в области изучения контроля функций Т- и В-лимфоцитов Toll-подобными рецепторами. Подчеркнув участие сигналов от TLR в патогенезе и развитии воспаления, показали, что TLR влияют на активацию, пролиферацию, выживание и продукцию цитокинов различных субпопуляций лимфоцитов.

**Ключевые слова:** Toll-подобный рецептор, воспаление, аутоиммунные заболевания, T<sub>Reg</sub>, Th17.

Стаття надійшла 26.12.2013 р.

#### PATTERNS OF EXPRESSION TLR LYMPHOCYTES IN THE EXPERIMENTAL PATHOLOGY

Zherebiatev A.S., Topol, I.A., Degen A., Kamyshny A.M.

Review of the literature with own data is devoted to description of the recent advances in the study of the control of T and B lymphocytes functions through Toll-like receptors. It has been shown that TLR activation influences proliferation, survival and cytokine production of cell subsets by underlining participation of TLR signaling in the pathogenesis and promotion of inflammation.

**Key words:** Toll-like receptor, inflammation, autoimmune diseases, T<sub>Reg</sub>, Th17.

УДК 616.127-005.4:616.15-018.5-091.818

И. В. Заднирняный, О. С. Третьякова, Г. П. Сатаева  
ГУ "Крымский государственный медицинский университет им. С.П. Георгиевского",  
г. Симферополь

#### ПЕРИНАТАЛЬНАЯ ГИПОКСИЯ КАК ИНДУКТОР АПОПТОЗА КАРДИОМИОЦИТОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ

В сердце новорожденных в условиях внутриутробной гипоксии развиваются обратимые, а в тяжелых случаях - необратимые изменения как в кардиомиоцитах (проводящих и сократительных), так и в сосудах гемомикроциркуляторного русла, что является проявлением не только гипоксического повреждения сердечной мышцы, но и свидетельством ишемического характера развившихся повреждений миокарда. На ранних стадиях ишемии апоптоз является преобладающей формой гибели кардиомиоцитов. Типичной реакцией апоптоза при постгипоксических кардиомиопатиях является усиление его митохондриального пути. При этом выраженность индукции апоптоза зависит от стадии недостаточности кровообращения.

**Ключевые слова:** гипоксия, апоптоз, кардиомиоциты, новорожденные, митохондрия.

Робота є фрагментом НДР «Комплексна морфо-функціональна оцінка стану деяких органів на тлі алкогольної інтоксикації в умовах імуномодельуючої, репаративної та антиоксидантної корекції», № 0109U004587.

Многие хронические, инвалидизирующие или фатальные патологические состояний у взрослых, в том числе заболевания сердечно-сосудистой системы, берут начало в перинатальном периоде, а некоторые болезни неонатального, грудного и старшего возраста представляют собой пролонгированную патологию плода [1,2,6,13,28]. Ранняя диагностика и своевременная коррекция

выявленных патологических изменений со стороны сердца в перинатальном периоде жизни может стать важнейшим фактором в снижении частоты и тяжести кардиоваскулярной патологии у детей более старшего возраста и взрослых.

Гипоксическое поражение сердечно-сосудистой системы встречается у 40-60% новорожденных детей [2,3,5]. Возникающие изменения в энергетическом обмене миокарда приводят к быстрому снижению его сократительной функции. Этому способствуют такие анатомо-физиологические особенности новорожденного, как рассеянный тип коронарных артерий с большим количеством анастомозов между правой и левой венечными артериями, их малый диаметр, а также преобладание влияния симпатического отдела вегетативной нервной системы, тонус которого поддерживается предшествующим гипоксическим состоянием ЦНС, так называемый цереброкардиальный синдром [3,4,5,13].

Гипоксия плода приводит к нарушению вегетативной регуляции коронарных сосудов, ухудшению энергетического обмена с резким уменьшением образования макроэргических соединений в митохондриях кардиомиоцитов [4]. Ацидоз, гиперкатехоламинемия, гипогликемия, ухудшение реологических свойств крови являются определяющими в патогенезе гипоксического поражения проводящих кардиомиоцитов у новорожденного, и служат причиной различных видов аритмий [3,4,5]. Известную роль в формировании нарушений сердечного ритма играют и нарушения вегетативной регуляции [6]. О связи гипоксического поражения миокарда с разнообразными нарушениями сердечного ритма и проводимости свидетельствуют данные морфологических и ультраструктурных исследований [7,8,9]. В проводящей системе сердца обнаруживаются признаки апоптоза и дистрофии, прослеживается определенная взаимосвязь выраженности морфологических изменений с клинически выявленными нарушениями ритма и проводимости. Конечным морфологическим итогом гипоксического поражения сердца может стать очаговая дистрофия, имеющая два варианта исходов: либо полное разрешение и восстановление функций, либо формирование очагового кардиосклероза [17,26].

В настоящее время под кардиомиопатиями понимают заболевания неясной этиологии с преимущественным поражением миокарда, при котором сократительные белки миокарда теряют часть своих свойств, из-за чего процесс сокращения сердечной мышцы становится недостаточно эффективным [2,3,6]. В свою очередь, это негативным образом сказывается на всем кровообращении ребенка – возникают и постепенно нарастают симптомы сердечной недостаточности, которые сопровождаются шунтированием крови из одного круга кровообращения в другой при отсутствии морфологических признаков активного воспаления. Различают первичные (идиопатические) и вторичные кардиомиопатии [1,2,13].

Транзиторная постгипоксическая ишемия миокарда относится ко вторичным кардиомиопатиям и регистрируется преимущественно в первые часы и дни жизни ребенка с максимальными проявлениями на 3-7-й день после рождения. Среди гемодинамических факторов существенную роль в развитии постгипоксической кардиомиопатии играют транзиторная легочная гипертензия, повышение артериального давления, закрытие фетальных коммуникаций, которые создают дополнительную рабочую нагрузку на миокард со сниженными функциональными возможностями [2,11].

Поскольку к моменту родов и в зависимости от их исхода уровень и степень поражения сердечно-сосудистой системы будут неодинаковыми: неонатальная легочная гипертензия, персистирование фетальных коммуникаций, дисфункция миокарда с дилатацией полостей, ишемия миокарда, нарушения ритма сердца и проводимости [3,12].

Гипоксия ведет к увеличению нагрузки на сердце, поскольку у ребенка происходит сужение сосудов как в малом, так и в большом круге кровообращения, что является результатом освобождения катехоламинов и прямого действия углекислоты [28]. Увеличивается возврат крови к сердцу, повышается давление в правом желудочке, которое может стать равным системному артериальному давлению. Миокардиальный кровоток не может полностью обеспечить кардиомиоциты кислородом и, соответственно, потребность в нем растет. Развивается коронарная недостаточность и ишемия миокарда [1,2,14,17,26,28,37]. У каждого третьего ребенка, перенесшего перинатальную гипоксию, сохраняются остаточные явления в виде минимальных признаков легочной гипертензии и снижения контрактильных свойств миокарда. Минимальные признаки легочной гипертензии проявляются в увеличении кардиоторакального индекса, обеднении легочного рисунка по периферии на рентгенограмме грудной клетки с расширением корня легкого и неполной блокадой правой ножки пучка Гиса на ЭКГ (симптом, указывающий на повышение давления в системе малого круга кровообращения) и могут сохраняться до 3-летнего возраста. Стойкая неполная блокада правой ножки пучка Гиса позволяет предположить наличие очагового кардиосклероза как морфологического субстрата, обеспечивающего стойкость данного ЭКГ-феномена [2,3,4].

Аntenатальный гипоксический стресс не может не отразиться на морфологических и функциональных характеристиках сердечно-сосудистой системы, претерпевающей интенсивный рост и ремоделирование на всех этапах онтогенеза, прежде всего в ходе внутриутробного развития. Показано, что дефицит массы тела при рождении может сочетаться со снижением количества кардиомиоцитов [1,2,10]. Компенсация дефицита массы миокарда у детей с малой массой тела при рождении и нарушением внутриутробного развития не означает полного восстановления дефицита тканевых структур сердца. Период естественной гиперплазии мышечных волокон сердца завершается к моменту рождения ребенка. В то же время компенсаторный рост сердца, реализующийся преимущественно за счет гипертрофии, в условиях дефицита структурных элементов может приводить к формированию диспропорционального варианта развития [3,11,12].

Проводящая система сердца также претерпевает ряд существенных морфологических и функциональных изменений в ante- и постнатальный периоды. Ранние стадии формирования сердца характеризуются непрерывной физической и электрической связью между миокардом предсердий и желудочков. Атипично протекающий процесс перемоделирования проводящей ткани сердца и, связанных с ней структур, может способствовать формированию aberrантных, нередко функционально значимых путей проведения, являющихся потенциальным анатомическим субстратом жизнеугрожающих аритмий [3,4,11,12].

Поскольку гипоксия – мощный стрессовый фактор, многие исследователи демонстрируют, что перинатальная гипоксия индуцирует клеточную смерть, активируя как апоптотический, так и некротический путь, в зависимости от типа клеток [27]. Исследование молекулярных механизмов апоптоза при различных формах патологии сердца является одной из актуальных проблем медицинской науки. Длительное время считалось, что апоптоз не характерен для высокодифференцированных тканей. Однако в последние несколько лет выявлен апоптоз кардиомиоцитов при остром и хроническом миокардите [1,5,21]. Вместе с тем недостаточно изучены особенности индукции и течения апоптоза кардиомиоцитов внутриутробно.

Таким образом, целью данного обзора явилось обобщение данных по триггерному воздействию перинатальной гипоксии на механизм апоптоза кардиомиоцитов у новорожденных, поскольку именно апоптоз кардиомиоцитов является одним из механизмов, ведущих к необратимому нарушению сократительной способности миокарда при перинатальной гипоксии.

Известно, что апоптоз - запрограммированная клеточная смерть, которая в отличие от некроза представляет собой активный и высокорегулируемый процесс, для реализации которого задействуется каскад специфических сигнальных и эффекторных молекул, взаимодействующих друг с другом с высокой степенью селективности и последовательности [20,24]. В результате развивается сморщивание клетки и ее ядра, фрагментация ДНК, конденсация хроматина с последующим формированием «апоптотических телец», представляющих собой покрытые мембраной скопления конденсированного содержимого клетки, на которые она распадается, претерпевая апоптоз. Впоследствии эти «апоптотические тельца» либо фагоцитируются, либо деградируют с распадом (вторичный некроз). Однако и в том, и в другом случаях воспалительная реакция не развивается [5,10,18,28,].

Апоптоз является характерной особенностью сосудистой патологии человека. Предположительно, он может модулировать клеточные повреждения и сморщивание эндотелия, приводящие к закупорке сосудов [5,10]. Апоптоз зависит от длительности реперфузии: ишемия, продолжающаяся менее 1 часа, не вызывает гибель клетки [11]. Апоптотические клетки выявляются после 90-минутной реперфузии. Эти результаты подтверждаются фрагментацией ДНК при реперфузии сердца в течении 120 мин [11,12].

Программируемая клеточная гибель участвует в постнатальном морфогенезе проводящей системы сердца: синусного и атриовентрикулярного узла, пучка Гиса [2]. Апоптоз пейсмейкерных клеток может играть роль в развитии пароксизмальных аритмий и нарушений проводимости и в генезе внезапной коронарной смерти. В настоящее время интенсивно исследуются процессы апоптоза в патогенезе дилатационной и ишемической кардиомиопатий, аритмогенной дисплазии правого желудочка, отторжении трансплантата при аортокоронарном шунтировании [5,11].

Для клеток, имеющих терминальную дифференцировку, а к таковым относятся кардиомиоциты, апоптоз не является характерным. Однако при кардиомиопатиях, гипертрофии миокарда и хронической сердечной недостаточности различной этиологии часто происходит прогрессивное снижение сократительной способности левого желудочка. Причем нередко этот процесс протекает в отсутствие каких-либо признаков ишемии миокарда. Поэтому в качестве рабочей гипотезы, объясняющей механизм развития сердечной недостаточности, был использован апоптоз кардиомиоцитов, что подтверждается рядом опытов [5,10,25].

В культуре неонатальных кардиомиоцитов крыс программированная гибель клеток развивалась под влиянием гипоксии [20,25,33]. Причем апоптоз в этих условиях сочетался с гиперэкспрессией Fas-рецептора. При использовании метода микроэмболизации коронарных артерий у собак с хронической сердечной недостаточностью (величиной фракции выброса 27+1%), с помощью электронной микроскопии и иммуногистохимического исследования было обнаружено, что апоптотический тип клеток был зафиксирован не только на границе очагов инфаркта, но и в отдаленных от них участках миокарда. Однако в зоне некроза общая встречаемость апоптотических клеток вне зависимости от гистохимической принадлежности в 3-4 раза превышала фоновый уровень [14]. В норме среди кардиомиоцитов апоптоз вообще не был зарегистрирован. При микроэмболизации в зоне очаговых поражений встречаемость апоптоза кардиомиоцитов была в 20 раз выше, чем в отдаленных участках миокарда [10]. На модели ишемии (30 мин) и последующей реперфузии в течение часа сердца у кроликов R.Gottlieb и соавт. показали, что в ответ на реперфузию, но не на ишемию, развивается программированная гибель кардиомиоцитов [12]. Клиническое значение этих данных состоит в том, что, очевидно, поздняя постинфарктная гибель кардиомиоцитов имеет не некротическую, а апоптотическую природу.

Запуск программы апоптоза КМЦ при гипоксии может инициироваться большим количеством различных стимулов. Однако все эти пути активации сходятся на активации системы аспартатспецифических цистеиновых протеаз, называемых каспазами [5,10,16,21,26], которые конституционально экспрессированы в клетках, где представляют собой неактивные зимогены. После того как под воздействием стимуляторов апоптоза каспазы подвергаются димеризации или специфическому протеолизу, они становятся активными и посредством каскада протеолитических реакций инициируют развитие всех биохимических и морфологических изменений, которые и представляют собой картину апоптоза [16,21,25].

Существует два основных пути активации системы каспаз: внешний и внутренний. Внешний механизм начинается со связывания специфических лигандов, т. н. «лиганды смерти», (FasL) со специфическими трансмембранными рецепторами Fas/CD95/Apo1 или связывания фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) со своим рецептором. Конформационные изменения указанных рецепторов, развивающиеся в них после взаимодействия с лигандом, приводят к связыванию рецепторов с внутриклеточными адаптерными протеинами - FADD (Fas Associated Death Domain) для рецептора Fas и TRADD (TNF- $\alpha$ ReceptorAssociatedDeathDomain) для рецептора ФНО- $\alpha$  [33]. В результате связывания указанных адаптеров с рецепторами в мембране образуется сигнальный комплекс DISC (Death Inducing Signaling Complex), который димеризует и активирует прокаспазу-8. Активная каспаза-8 расщепляет и активирует прокаспазу-3 (в клетках типа I, подвергающихся апоптозу по пути, зависимому от апоптотических рецепторов плазматической мембраны без участия митохондриальных белков) или Bid (агонист домена смерти, взаимодействующего сBcl2), проапоптотический белок семейства Bcl-2, являющийся связующим звеном внутреннего и внешнего путей (в клетках типа II, подвергающихся апоптозу по пути, зависимому от митохондриального цитохрома C) [23,31].

Необходимо отметить, что ФНО- $\alpha$  может стимулировать развитие апоптоза и по другому пути, который включает активацию специфического белка FAN (Factor associated with Neutral Sphingomyelinase) [10,20]. FAN взаимодействует с мембраносвязанной нейтральной сфингомиелиназой, которая в свою очередь вызывает генерацию церемиды, активирующей развитие апоптоза [17]. Наличие рецептор-опосредованного (внешнего) механизма развития апоптоза КМЦ показано при ряде кардиальных патологий [1,33]. Тем не менее необходимо подчеркнуть, что, несмотря на возможность развития апоптоза по рецептор-опосредованному механизму, всё же в КМЦ, как классических представителей клеток II типа, значительно большую роль играет внутренний (митохондриальный) путь активации апоптоза [25,31].

Нами доказано, что при перинатальной гипоксии помимо биохимических проявлений ишемии миокарда, как у обследуемых новорожденных, так и в эксперименте были выявлены ультраструктурные проявления в виде мембранолиза сарколеммы сердечных клеток, повреждения их органелл [8,13,14,15]. Среди органелл значительные изменения претерпевали митохондрии, условиях кислородного дефицита теряли не только фрагменты мембран, но и имели признаки разрушения крист, что делало их энергетически несостоятельными [6,7,8,9,37]. Это явление, в сочетании с выходом за пределы сердечных клеток кардиоспецифического изофермента, рассматривается как проявление вторичной митохондриальной недостаточности, сопровождающей тяжелую транзиторную ишемию миокарда новорожденных [6,9,36]. Ультраструктурным признаком ишемического повреждения

сердечной мышцы, свидетельством нарушения клеточной проницаемости, является также выявление липидных включений в кардиомиоцитах, вакуолизация последних [9].

Ключевым моментом запуска апоптоза при повреждении митохондрий такого рода является выход цитохрома С из межмембранного пространства митохондрий в цитозоль, что индуцируется набуханием митохондрий, вызываемым в том числе тяжелым ишемическим повреждением миокарда [5,7,22]. Находящийся в цитоплазме цитохром С связывается с АРАФ (Apoptosis Protease Activating Factor) 1, что приводит к олигомеризации АРАФ-1 и его связыванию с прокаспазой-9. Формирование этого каспазактивирующего комплекса, именуемого апоптосомой, приводит к активации прокаспазы-9, которая, в свою очередь, активирует уже эффекторные каспазы, прежде всего прокаспазу-3 [16]. Помимо цитохрома С, митохондрии могут индуцировать развитие апоптоза посредством ряда других медиаторов: Smac/Diablo, Omi/HtrA2, АІF (Apoptosis-Inducing Factor), Puma и эндонуклеазы G [15]. Важную роль в активации митохондриально-опосредованного апоптоза играет повреждение эндоплазматического ретикулума. Наиболее вероятным пусковым механизмом здесь является выход из эндо(сарко)плазматического ретикулума большого количества ионов  $Ca^{2+}$  [2,5,8]. Повышение цитозольной концентрации  $Ca^{2+}$  приводит к ряду важных последствий: повышению активности  $Ca^{2+}$ -зависимой протеазы калпаина, активирующего каспазу-12 [18], открытию МРТР, являющейся основным регулятором проницаемости митохондриальной мембраны и выхода белков из межмембранного пространства [9]. Возможна также и роль в развитии апоптоза индукции каспазы-4 при повреждении саркоплазматического ретикулума, являющейся функциональным гомологом каспазы-12 [21].

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что при ишемическом и реперфузионном (постишемическом у новорожденных) повреждении миокарда митохондриально-опосредованный путь развития апоптоза играет ключевую роль [22, 25]. При этом каспаза-9 активируется при ишемии миокарда, а каспаза-8 (один из основных факторов активации внешнего пути развития апоптоза) - при реперфузии. Поддержание стабильно высокой активности каспазы-9 в период реперфузии опосредуется протеолизом Vid каспазой-8 [16].

Большой интерес представляет тот факт, что белки семейства каспаз могут самостоятельно влиять на функционирование сократительного аппарата КМЦ без (до) развития полного каскада реакций, приводящих к клеточной смерти. Так, было показано, что повышение экспрессии каспазы-3 приводит к разобщению миофибрилл, дезорганизации саркомера, расщеплению легких цепей миозина,  $\alpha$ -актина,  $\alpha$ -актинина, тропонина Т. Это приводит к снижению сократительной способности, но не к смерти клетки [5, 16]. Этот факт может быть важнейшим свидетельством того, что программа апоптоза является не только программой «смерти» клетки, но и, в зависимости от ситуации, программой сохранения клетки или минимизации потерь для организма при различных степенях повреждения клетки, уничтожение которой в принципе не является необходимым. То есть, при воздействии фактора, ограничивающего жизнеспособность КМЦ, вначале включаются механизмы, направленные на снижение его функции (повышение жизнеспособности), в данном случае посредством нефатальной дезорганизации саркомера. Если же это не помогает и состояние клетки продолжает ухудшаться, а ее жизнеспособность падает ниже критической, то запускается полная программа апоптоза, и клетка ликвидируется [11,20].

Как было сказано выше, несмотря на возможность развития рецептор-опосредованного апоптоза, все-таки КМЦ достаточно резистентны к его внешней индукции. Этот факт очень важен с точки зрения биологической целесообразности. Так, организм в принципе практически не нуждается в активной ликвидации жизнеспособных КМЦ, в отличие от ситуации с клетками типа I (например, иммунными). Последние должны быть ликвидированы после выполнения ими относительно кратковременной функции, так как дальнейшее продолжение их активной жизнедеятельности будет уже нежелательным и повреждающим фактором [28, 29]. Поскольку в данной ситуации необходимость в сохранении или прекращении функционирования и существования таких клеток определяется, прежде всего, их окружением, то логично, что именно внешние факторы, воздействие которых воспринимается клеткой посредством рецепторов, а не внутренние (состояние гомеостаза), являются определяющими для сохранения или уничтожения клеток I типа. Например, в миокарде при повышении экспрессии ФНО- $\alpha$  частота апоптоза не увеличивается [20, 26].

Важный антиапоптозный фактор КМЦ - высокая экспрессия FLIP (FLICE-Inhibitory Protein), являющегося ингибитором активации каспазы-8 Fas-рецептором. Тем не менее показано, что в условиях ишемии, гипоксии и оксидантного стресса экспрессия FLIP снижается, что делает КМЦ более подверженными Fas-L-индуцированному апоптозу [33].

Интересно, что индуктор митохондрией-опосредованного апоптоза Smac/Diablo при выходе в цитозоль из межмембранного пространства митохондрий связывает и блокирует активность цитоплазматических ингибиторов каспаз, подавляя тем самым реактивацию каспаз и реализацию программы апоптоза [18, 25]. Это достаточно интересный факт, иллюстрирующий взаимосвязь и взаимодействие внешних и внутренних стимуляторов апоптоза с апоптозлимитирующими факторами и подтверждающий важную роль митохондрией-опосредованного пути индукции апоптоза в КМЦ.

Митохондрией-индуцированный апоптоз регулируется белками семейства Bcl-2. На сегодняшний день идентифицировано 18 протеинов, входящих в это семейство, которые объединяет наличие, как минимум, 1 из 4 специфических доменов BH (Bcl-2 Homology)1-BH4. Взаимодействия этих белков между собой и с другими структурами, участвующими в реализации про- или антиапоптозной активности клеток, носят очень сложный и многогранный характер и до конца неизучены. Тем не менее следует отметить, что одним из ключевых действий белков семейства Bcl-2 является повышение проницаемости митохондриальной мембраны [23, 25].

Мощным антиапоптозным потенциалом обладают белки теплового шока (Hsp - Heat Shock Proteins). Так, было показано, что Hsp70 может тормозить развитие апоптоза по каспаз-зависимому и каспаз-независимому механизмам. Он блокирует формирование апоптосомы и соответственно - активацию каспазы-9, связываясь непосредственно с APAF-1 [16], снижает проницаемость митохондриальной мембраны, тем самым тормозя выход в цитозоль цитохрома C [19], тормозит развитие апоптоза, индуцируемого ФНО- $\alpha$ , если последний развивается по митохондрией опосредованному механизму [18, 22]. Hsp70 способен блокировать развитие апоптоза и на постмитохондриальных этапах путем прямого связывания и блокирования активации прокаспазы-3 и 7 [16]. Синергично сHsp70 в предотвращении развития апоптоза действует Hsp27, который связывает цитохром C [20], ингибируя образование апоптосомы и последующую активацию прокаспазы-9. Hsp27 также способен предотвращать образование активной каспазы-3 благодаря связыванию с прокаспазой-3, что делает ее недоступной для протеолитической активации каспазой-9 [22, 33]. Кроме того, на уровне митохондрий Hsp27 блокирует выход в цитозоль индуктора апоптоза Smac/Diablo [22]. Показано, что экспрессия антиапоптозного белка Bcl-2 повышается в перинфарктной зоне, но не в самой зоне инфаркта, где, вероятно, сохранение жизнеспособных КМЦ уже невозможно [31].

Одним из мощных стимуляторов апоптоза и ингибитором пролиферации и роста клетки является p53. В изолированных сердцах крысиной модели показано увеличение его экспрессии после реперфузии, которое блокировалось прекодиционированием [17]. В культуре клеток КМЦ крыс гипоксия повышала экспрессию p53, которая, однако, блокировалась антиоксидантом хинонином [24]. Тем не менее *in vivo* (гомозиготные мыши, лишённые функционирующего гена p53) частота апоптоза при ишемии была одинаковой как в присутствии p53, так и без нее [17, 18], что может свидетельствовать о наличии в сердце механизмов апоптоза, не связанных с p53, либо о том, что его роль важна только при реперфузии.

В настоящее время имеются фармакологические агенты, способные эффективно ингибировать апоптоз кардиомиоцитов, индуцированный различными стимулами: ишемией/реперфузией, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TNF $\alpha$  и др. Однако эти вещества (ZVAD-fmk, SB 203580, PD 98059, инсулиноподобный ростовой фактор, N-ацетил-цистеин) применяются в основном в экспериментальных условиях [27,32].

## Выводы

1. Апоптоз рассматривают как физиологическую противоположность клеточного деления, вносящую вклад в гибель кардиомиоцитов при ишемии-реперфузии и последующей сердечной недостаточности у новорожденных. Это процесс требует затрат энергии, нуждается в экспрессии *de novo* генов апоптоза (p53, BAX и др.) и управляется генетической программой. Типичными индукторами апоптоза являются активные формы кислорода и ионы Ca<sup>2+</sup>, которые участвуют также и в патогенезе ишемическим стрессом индуцированного повреждения миокарда.
2. На ранних стадиях ишемии апоптоз является преобладающей формой гибели кардиомиоцитов у новорожденных. Типичной реакцией апоптоза при кардиомиопатиях гипоксической этиологии и врожденных пороках сердца является усиление его митохондриального пути. Сердечная недостаточность, возникшая вследствие перинатальной гипоксии сопровождается активацией всех звеньев запрограммированной клеточной гибели, при этом выраженность индукции апоптоза зависит от стадии недостаточности кровообращения. Динамику показателей апоптоза - лимфоцитов с активированной экспрессией CD95+, в крови больных с хронической сердечной недостаточностью можно использовать как критерий оценки эффективности проводимой терапии. Определенные

перспективы в дальнейшей коррекции несостоятельности апоптоза при перинатальной гипоксии могут быть связаны с применением низкомолекулярных ингибиторов каспаз и антиоксидантов.

#### Список литературы

1. Басаргина Е.П. Новый взгляд на патогенетические основы лечения сердечной недостаточности у детей / Е.П. Басаргина // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2003. - №1. - С.38-44.
2. Бокерия Л.А. Сердечно-сосудистая хирургия 2006: Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения / Л.А. Бокерия, Р.Г. Гудкова // - М. - 2007. - 118 с.
3. Верченко Е.Г. Роль диастолической дисфункции миокарда левого желудочка в развитии сердечной недостаточности и аритмогенной кардиомиопатии при тахикардиях у детей / Е.Г. Верченко // Вестник аритмологии. - 2003. - №32. - С.65-69.
4. Залесский В.Н., Поливода С.Н. Апоптоз кардиомиоцитов, сердечная недостаточность и постинфарктное ремоделирование (проблемы и перспективы) / В.Н. Залесский, С.Н. Поливода // Запорожский медицинский журнал. - 2003. - № 5. - С. 55-58.
5. Залесский В.Н. Апоптотический и аутофагический пути гибели клетки при гипертрофии и ремоделировании миокарда / В.Н. Залесский, Л.А. Стаднюк, Н.В. Великая // Журнал АМН Украины. - 2003. - Т.9, № 4. - С.699-712.
6. Заднипрятный И.В., Сатаева Т.П. Морфо-функциональные изменения при перинатальной гипоксии и возможные пути их коррекции / И.В. Заднипрятный, Т.П. Сатаева // Таврический медико-биологический вестник. - 2013. - Т.16, №1, Ч2(61) - С.252-257.
7. Заднипрятный И.В., Сатаева Т.П. Применение антигипоксантов в коррекции антенатальной гипоксии с позиций ее морфо-функциональных особенностей / И.В. Заднипрятный, Т.П. Сатаева // J. Clin. Exp. Med. Res. - 2013. - Vol.1, №1. - P. 8-12.
8. Заднипрятный И.В., Сатаева Т.П. Структурные изменения миокарда новорожденных крысят в условиях гипоксии / И.В. Заднипрятный, Т.П. Сатаева // - Київ, 2013. - С. 32 - 35.
9. Заднипрятный И.В. Морфологический субстрат вторичной митохондриальной дисфункции при транзиторной ишемии миокарда у крысят / И.В. Заднипрятный, О.С. Третьякова, Т.П. Сатаева // Таврический медико-биологический вестник. - 2013. - Т.16, №3, Ч.1 (63). - С. 174 - 178.
10. Казначеева К.С. Механизмы развития цитокининдуцированного апоптоза / К.С. Казначеева // Гематол. и трансфузиол. - 2004. - Т.44, №1. - С.40-43.
11. Капелько В.И. Внеклеточный матрикс миокарда и его изменения при заболеваниях сердца / В.И. Капелько // Кардиология. - 2005. - Т.40, №9. - С.78-90.
12. Москалева Е.Ю. Возможные механизмы адаптации клетки к повреждениям, индуцирующим программированную гибель. Связь с патологией / Е.Ю. Москалева, С.Е. Северин // Патол. физиология и экспериментальная терапия. - 2006. - №2. - С.2-15.
13. 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.
14. Семенов В.Н. Апоптоз и его роль в патогенезе критических состояний / В.Н. Семенов, И.Н. Пасечник // Вест. интенсивной терапии. - 2004. - №1. - С.3-7.
15. Третьякова О.С. Вторинна митохондріальна недостатність кардіоміоцитів як маркер енергетичної неспроможності міокарду за умов перинатальної гіпоксії / О.С. Третьякова, І.В. Заднипрятний // Перинатол. та педіатрія. - 2002. - № 4. - С. 15-17.
16. Шейбак Л.Н. Перинатальная кардиология (справочное руководство для врачей и студентов) / Л.Н. Шейбак // - Гродно: ГрГМУ, - 2007. - 57с.
17. Adderley S.R. Oxidative damage of cardiomyocytes is limited by extracellular regulated kinases 1/2-mediated induction of cyclooxygenase-2 / S.R. Adderley, D.J. Fitzgerald // J. Biol. Chem. - 2009. - Vol. 274. - P. 5038-5046.
18. Bialik S. Myocyte apoptosis during acute myocardial infarction in the mouse localizes to hypoxic regions but occurs independently of p53 / S. Bialik, D.L. Geenen, I.E. Saxon [et al.] // J. Clin. Invest. - 2007. - Vol. 117. - P. 1363-1372.
19. Beere H.M. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1-apoptosome / H.M. Beere, B.B. Wolf, K. Cain [et al.] // Nat. Cell. Biol. - 2008. - Vol. 10. - P. 469-475.
20. Cande C. Apoptosis-inducing factor (AIF): key to the conserved caspase-independent pathways of cell death? / C. Cande, F. Cecconi, P. Dessen [et al.] // J. Cell Sci. - 2002. - Vol. 115. - P. 4727-4734.
21. Gustafsson A.B. Mechanisms of apoptosis in the heart / A.B. Gustafsson, R.A. Gottlieb // J. Clin. Immunol. - 2003. - Vol. 23. - P. 447-459.
22. Czerski L. Apoptosome formation and caspase activation: is it different in the heart? / L. Czerski, G. Nunez // J. Mol. Cell. Cardiol. - 2004. - Vol. 37. - P. 643-652.
23. Corsten M.F. Optical characterization of arterial apoptosis / M.F. Corsten, A. Bernaghi // Methods Mol. Biol. - 2011. - Vol. 680. - P. 117-129.
24. Hausenloy D.J. The mitochondrial permeability transition pore: its fundamental role in mediating cell death during ischaemia and reperfusion / D.J. Hausenloy, D.M. Yellon // J. Mol. Cell. Cardiol. - 2003. - Vol. 35. - P. 339-341.
25. Hill M.M. Portrait of a killer: the mitochondrial apoptosome emerges from the shadows / M.M. Hill, C. Adrain, S.J. Martin // Mol. Interv. - 2003. - Vol. 3. - P. 19-26.
26. Hattori R. An essential role of the antioxidant gene Bcl-2 in myocardial adaptation to ischemia: an insight with antisense Bcl-2 therapy / R. Hattori, T.E. Hernandez, L. Zhu [et al.] // Antioxidants and Redox Signalling. - 2004. - Vol. 3. - P. 403-413.
27. Hitomi J. Involvement of caspase-4 in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and Abeta-induced cell death / J. Hitomi, T. Katayama, Y. Eguchi [et al.] // J. Cell. Biol. - 2004. - Vol. 165. - P. 347-356.
28. Shen J.G. Chinoin, a novel drug against cardiomyocyte apoptosis induced by hypoxia and reoxygenation / J.G. Shen, X.S. Qu, B. Jiang [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. - 2005. - Vol. 1500. - P. 217-226.
29. Shibata R. Adiponectin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through AMPK and COX-2-dependent mechanisms / R. Shibata, K. Sato, D.R. Pimentel [et al.] // Nat. Med. - 2005. - Vol. 11. - P. 1096-1103.
30. Tsang A. Postconditioning: a form of «modified reperfusion» protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway / A. Tsang, D.J. Hausenloy, M.M. Mocanu // Circ. Res. - 2004. - Vol. 95. - P. 230-232.
31. Tostes S.Jr. Myocardial apoptosis in heart failure in chronic Chagas' disease / S.Jr. Tostes, D. Bertulucci Rocha-Rodrigues, G. de Araujo Pereira // Int. J. Cardiol. - 2005. - Vol. 99. - P. 233-237.
32. Takashi E. Activation of mitochondrial K (ATP) channel elicits late preconditioning against myocardial infarction via protein kinase C signaling pathway / E. Takashi, Y. Wang, M. Ashraf // Circ. Res. - 2006. - Vol. 98. - P. 1146-1153.
33. Tong G. U50488H postconditioning reduces apoptosis after myocardial ischemia and reperfusion / G. Tong, Z. Sun, X. Wei // Pei. J. Life Sci. - 2011. - Vol. 88. - P. 458-459.

34. Yaniv G. Hypoxia predisposes neonatal rat ventricular myocytes to apoptosis induced by activation of the Fas (CD95/Apo-1) receptor: Fas- activation and apoptosis in hypoxic myocytes / G. Yaniv, M. Shilkrot, R. Lotan // Cardiovasc. Res.- 2005.- Vol. 54.- P. 611-623.
35. Youle R.J. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death / R.J. Youle, A. Strasser // Nat Rev Mol Cell Biol. - 2008.- Vol. 9. - P.47-59.
36. Zadnipyryany I.V. Perinatal hypoxia and its possible correction / I.V. Zadnipyryany, T.P. Sataieva // - 2013. Том 44. Лекарство. София. «БялГРАД-БГ» ООД. - P. 3-4.
37. Zadnipyryany I.V. Stunned and hibernating myocardium / I.V. Zadnipyryany, T.P. Sataieva // – Тернопіль : Крок, - 2013. – С. 305-307.

## Реферати

### ПЕРИНАТАЛЬНА ГІПОКСІЯ ЯК ІНДУКТОР АПОПТОЗУ КАРДІОМІОЦИТІВ У НОВОНАРОДЖЕНИХ

Задніпр'яний І.В., Трет'якова О.С., Сатаєва Т.П.

У серці новонароджених в умовах внутрішньоутробної гіпоксії розвиваються оборотні, а у важких випадках - незворотні зміни як в кардіоміоцитах (провідних і скорочувальних), так і в судинах гемомікроциркуляторного русла, що є проявом не тільки гіпоксичного ушкодження серцевого м'яза, а й свідченням ішемічного характеру розвинутих пошкоджень міокарда. На ранніх стадіях ішемії апоптоз є переважаючою формою загибелі кардіоміоцитів. Типовою реакцією апоптозу при постгіпоксических кардіоміопатіях є посилення його мітохондріального шляху. При цьому вираженість індукції апоптозу залежить від стадії недостатності кровообігу.

**Ключові слова:** гіпоксія, апоптоз, кардіоміоцити, новонароджені, мітохондрія.

Стаття надійшла 10.01.2014 р.

### HOW PERINATAL HYPOXIA INDUCES APOPTOSIS IN THE CARDIOMYOCYTES OF NEWBORN

Zadnipyryany I.V., Tretjakova O.S., Sataieva T.P.

In the heart of newborn intrauterine hypoxia contributes into development of reversible and in severe cases irreversible changes in cardiomyocytes (conducting and contractile) and in microcirculatory vessels which is a manifestation of not only hypoxic damage of the heart muscle but also evidence of ischemic nature of myocardial damage. In the early stages of ischemia apoptosis is the predominant form of death of cardiomyocytes. Typical apoptosis reaction in posthypoxic cardiomyopathy is strengthening of its mitochondrial route. Proved that chronic heart failure in children is accompanied by activation of all parts of programmed cell death, while the severity of apoptosis induction depends on the stage of heart failure.

**Key words:** hypoxia, apoptosis, cardiomyocytes, newborns, mitochondrion.

УДК 616.314-002.4-053.3/5-084.41

Н.Н. Коротич, Н.М. Лохматова, І.Ю. Ващенко

ВГМУ України «Українська медична стоматологічна академія», г. Полтава

### ОБОСНОВАНИЕ НЕОБХОДИМОСТИ ЭНДОГЕННОГО НАЗНАЧЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ КАЛЬЦИЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ КАРИЕСА ЗУБОВ У ДЕТЕЙ

Проблема кариеса остается в центре внимания практической медицины. Его профилактика у детей должна быть направлена на создание оптимальных условий для созревания эмали зуба, повышение его резистентности. Кальций является одним из главных компонентов, входящих в состав кристаллов апатитов, представляющих минеральную основу твердых тканей зубов. Поэтому для полноценного формирования зубов, особенно в периоды активного роста зубо-челюстной системы, когда процессы первичной минерализации еще не закончены, роль эндогенной профилактики кариеса препаратами кальция должна занимать ведущее место.

**Ключевые слова:** эндогенная профилактика кариеса, кальций, дети.

Кариес зубов остается одним из наиболее распространенных стоматологических заболеваний у детей разного возраста с тенденцией к увеличению кариозного поражения постоянных зубов непосредственно в периоды активного роста ребенка. Именно поэтому результаты эпидемиологических исследований, проведенных в Украине, свидетельствуют, что распространенность кариеса у двенадцатилетних детей колеблется от 73% до 100%, при интенсивности – 2,9-6,5 [28].

Теоретические основы профилактических мероприятий базируются на своевременном обеспечении условий для качественного и количественного процесса минерализации эмали зубов в детском возрасте. При этом удельный вес эндогенного пути профилактики кариеса у детей, когда метаболические процессы на пути пульпа-дентин-эмаль играют большую роль, чем в уже сформированных зубах, должен быть выше, чем у взрослых [18,26].

Поэтому ведущими в профилактике кариеса у детей являются мероприятия, направленные на механизмы стимуляции процессов минерализации и созревания эмали зуба, повышение его резистентности, что обеспечивается состоянием соматического здоровья ребенка, сбалансированным питанием, назначением препаратов, влияющих на общую резистентность организма и метаболические процессы [27]. Наиболее оптимальным вариантом для реализации этого вопроса является назначение внутрь основных компонентов эмали – кальция, фосфора, фторидов, а также веществ, обеспечивающих их обмен и включение в ткани, формирование белковой матрицы эмали и дентина [23].