

медляются и затем полностью прекращаются. Исходом внутриутробной асфиксии может быть гибель плода до родов, во время родов или рождение ребенка в состоянии асфиксии.

Факторами риска развития первичной асфиксии являются внутриутробная гипоксия (острая или хроническая); внутричерепная родовая травма ребенка; иммунологическая несовместимость матери и плода; полная или частичная закупорка дыхательных путей ребенка околоплодными водами или слизью;

экстрагенитальные заболевания матери во время беременности; патологическое течение беременности; аномалии родовой деятельности (патологически узкий таз матери, неправильное врезание головки плода, в некоторых случаях обвитие пуповиной).

Среди причин вторичной асфиксии выделяют: врожденную пневмонию у ребенка; нарушение мозгового кровообращения; попадание в дыхательные пути рвотных масс; нарушение работы центральной нервной системы малыша.

ЛЕКЦИЯ 13

МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ГИПОКСИИ

Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В.,
Бизенкова М.Н.

*ФГБОУ ВО «Саратовский Государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского
Минздрава России», Саратов,
e-mail: e.ponukalina@yandex.ru*

13.1. Механизмы энергообеспечения клеток различной морфофункциональной организации в условиях нормы и гипоксических состояний

Гипоксия – типовой патологический процесс, осложняющий течение различных заболеваний.

Как известно, гипоксия определяет тяжесть течения ишемического поражения сердца, головного мозга, формирование полиорганной недостаточности при ДВС – синдроме, шоковых и коллаптоидных состояний, является неизменным спутником заболеваний инфекционной и неинфекционной природы, а также стрессовых ситуаций.

Тяжесть течения многих заболеваний и их исход в конечном итоге определяется особенностями вторичных неспецифических метаболических расстройств, степенью дестабилизации клеточных мембран, а также возможностями реактивации структурных и ферментных белков в условиях гипоксии.

Вышеизложенное указывает на необходимость дальнейшей детализации механизмов развития гипоксии на молекулярно-клеточном, органном, системном уровнях, а также патогенетического обоснования новых принципов медикаментозной коррекции метаболических и функциональных сдвигов при указанном типове патологическом процессе.

Как указывалось выше, в соответствии с общепринятыми классическими описаниями происхождения и классификации гипоксических состояний различают гипоксии экзогенного и эндогенного происхождения. Последняя включает дыхательную, циркуляторную, гемическую и тканевую гипоксии системного или локального характера.

Общепринятым является представление о том, что в основе развития гипоксий различного генеза лежат нарушения окислительно-восстановительных реакций в связи с дефицитом кислорода. В то же время высказывается точка зрения о возможности развития субстратного типа гипоксии, обусловленной недостаточностью субстратов окисления, например, глюкозы для нервных клеток, жирных кислот для миокарда.

Как известно, динамика формирования структурных и функциональных сдвигов в различных органах и тканях при гипоксии определяются в значительной мере темпами ее развития, локализацией патологии, характером этиологических факторов, инициирующих гипоксию, и особенностями компенсаторно-приспособительных реакций в том или ином органе.

В соответствии с данными литературы устойчивость тканей различных органов и систем к гипоксии широко варьируют. Наиболее чувствительной к гипоксии является нервная система: при полном прекращении кровотока признаки повреждения коры головного мозга обнаруживаются через несколько секунд. Снижение потребления кислорода на 20% структурами головного мозга вызывает потерю сознания. Через 5-6 мин аноксии головного мозга возникают глубокие структурные изменения нейронов, а в продолговатом мозге – через 10-15 мин.

В сердечной мышце мелкие очаги некроза появляются через 3-5 мин с момента, развития ишемии, а крупноочаговый инфаркт миокарда формируется уже спустя 20-30 мин.

Недостаток кислорода в тканях приводит, прежде всего, к дефициту макроэнергетических соединений, образуемых в сопряженных с окислительно-восстановительными процессами реакциях фосфорилирования на внутренней мембране митохондрий.

Основным энергетическим субстратом для нервной системы, а также для клеток других органов и тканей, является глюкоза. Между тем, при нормальной оксигенации миокарда основным источником его энергетического обеспечения являются высшие жирные кислоты. Так, при окислении 1 молекулы пальмитиновой кислоты образуется 130 М АТФ. В условиях ишемии

миокарда усиливается конкурентное ингибирование использования жирных кислот лактатом, что приводит к значительному снижению энергообеспечения миокарда. Так, в процессе анаэробных гликолитических реакций энергетический выход на 1 молекулу глюкозы составляет 2 М АТФ.

В то же время известно, что на каждую молекулу глюкозы, претерпевающую полное окисление до CO_2 и воды в миокарде, печени, почках, т.е. в органах, где функционирует малат-аспартатная челночная система, образуется максимум макроэргов - 38 М АТФ.

Вышеизложенное свидетельствует о том, что независимо от характера этиологических факторов и механизмов развития гипоксии, наиболее ранними проявлениями нарушения оксигенации тканей являются сдвиги их энергетического обеспечения и связанные с ними нарушения углеводного, жирового и белкового метаболизма.

Одним из метаболических признаков гипоксии и соответственно недостаточности энергообеспечения нервной ткани, а также миокарда является снижение уровня креатинфосфата (КФ), выполняющего роль не только резервного источника макроэргических фосфатных связей, но и обеспечивающего их транспорт в клетках к местам энергетических трат. Так, уже через несколько секунд мозговая ткань теряет около 70% КФ, а через 40-45 сек. КФ полностью исчезает. Почти одновременно падает уровень АТФ, увеличивается концентрация продуктов распада, так называемых метаболитов изнашивания - АДФ, АМФ, НФ, что приводит к увеличению потенциала фосфорилирования, предоставляющего собой отношение:

$$\text{АДФ} + \text{АМФ} + \text{НФ} / \text{АТФ}.$$

Как известно, процессы ресинтеза АТФ в митохондриях тесно связаны не только с окислительно-восстановительными реакциями, но и с реакциями гликолиза, липолиза, протеолиза, являющимися поставщиками Ац-СоА для цикла Кребса. Установлено, что регулируемыми ферментами гликолиза являются фосфоорилаза, гексокиназа, фосфофруктокиназа, пируваткиназа, поэтому их подавление в условиях гипоксии приводит к уменьшению образования свободной энергии и в ряде случаев носит необратимый характер. В то же время роль главного регуляторного фермента в последовательных реакциях гликолиза играет фосфофруктокиназа, которую ингибируют АТФ и цитрат, а стимулируют АМФ и АДФ.

Скорость гликолиза в условиях нормы согласована со скоростью функционирования цикла лимонной кислоты: ни пируват, ни лактат, ни ацетил-СоА обычно не накапливаются в клетках при нормальной оксигенации тканей. Согласованность между скоростью гликолиза и мета-

болизмом субстратов в цикле Кребса объясняется тем, что АТФ и НАД-Н являются общими компонентами для тех и других реакций. В то же время высокие концентрации АТФ и НАД-Н ингибируют реакции гликолиза. Продукт первой стадии цикла лимонной кислоты – цитрат является аллостерическим ингибитором ключевого фермента гликолиза – фосфофруктокиназы.

Таким образом, в условиях гипоксии, в случаях увеличения потенциала фосфорилирования, возникает активация ключевого фермента гликолиза – фосфофруктокиназы (ФФК) и соответственно возрастание пропускной способности реакции анаэробного гликолиза. При этом резко снижается запас гликогена в сердце, мозге, печени, почках, мышцах и других тканях и соответственно накапливаются продукты гликолитических реакций – молочная и пировиноградная кислоты.

Касаясь значения активации ключевого фермента гликолиза - ФФК в условиях гипоксии, необходимо отметить достаточно быструю трансформацию реакций адаптации в реакции дезадаптации, реализуемых при участии этого фермента.

Так активация ФФК на начальных этапах ишемического или гипоксического повреждения клеток приводит к усилению мобилизации гликогена, несколько улучшает энергообеспечение тканей. При этом истощаются запасы гликогена, усиливается ацидоз, приводящий на пике своего развития к подавлению ФФК, и соответственно полной блокаде энергообеспечения клетки.

Развитие метаболического ацидоза при гипоксических состояниях усугубляется также недостаточностью реакций окисления жирных кислот, аминокислот, чрезмерным накоплением кислых продуктов метаболизма указанных соединений.

Что касается окисления жирных кислот в митохондриях и их роли в энергетическом обеспечении тканей, в частности, миокарда, следует отметить две главных стадии. На первой стадии происходит последовательное отщепление двууглеродных фрагментов (в виде ацетил-СоА) от карбоксильного конца цепи жирной кислоты в результате цикла ферментативных реакций. При завершении таких 7 циклов в превращениях 16 - углеродной цепи пальмитиновой кислоты образуется 8 двууглеродных фрагментов в форме ацетил-СоА. На второй стадии окисления жирных кислот ацетильные остатки ацетил-СоА окисляются через цикл лимонной кислоты до CO_2 и воды в митохондриях.

На обеих стадиях окисления жирных кислот атомы водорода или соответствующие им электроны передаются по митохондриальной цепи переноса электронов на кислород. С этим потоком электронов сопряжен процесс окислительного фосфорилирования АДФ до АТФ. Следовательно, в условиях гипоксии различного ге-

неза блокируются процессы окисления жирных кислот в тканях, в избытке накапливаются кислые продукты, формируется метаболический ацидоз, и соответственно развиваются дефицит АТФ, подавление всех энергозависимых реакций.

Как известно, большую часть метаболической энергии, вырабатываемой в тканях, составляют процессы окисления углеводов и триацилглицеридов (в среднем 90% всей энергии). Лишь 10-15% энергии поставляется в процессе окисления аминокислот. Если аминокислоты, высвобождающиеся при обычном динамическом обновлении белков, не используются для синтеза новых белков, то они подвергаются окислительному расщеплению. В случаях нарушения утилизации глюкозы возникает усиление катаболизма белков, при этом аминокислоты теряют свои аминогруппы, превращаются в α -кетокислоты. Последние в условиях нормальной оксигенации тканей вовлекаются в цикл Кребса с образованием CO_2 и воды. Естественно, что в условиях гипоксии, когда нарушаются окислительно-восстановительные реакции в цикле Кребса, развитие метаболического ацидоза усугубляется и за счет избыточного накопления в тканях аминокислот, α -кетокислот.

Касаясь функциональной значимости метаболического ацидоза, закономерно развивающегося при гипоксии различного генеза, следует отметить ряд последующих неспецифических метаболических и функциональных расстройств, представляющих собой динамическую трансформацию реакций адаптации в реакции дезадаптации.

Как известно, типовой реакцией тучных клеток и тромбоцитов на развитие гипоксии и ацидоза является их дегрануляция с избыточным освобождением в окружающую среду высокоактивных соединений – гистамина, серотонина, ФАТ, ФХЭ, ФХН, лейкотриенов, интерлейкинов. В свою очередь, избыточное накопление ионов водорода, биологически активных соединений приводит к резкому увеличению проницаемости биологических мембран за счет структурных переходов в белках и липидах, и активации процессов свободно-радикального окисления.

Таким образом, среди механизмов, приводящих к повреждению биологических мембран при гипоксии различного генеза, необходимо выделить следующие:

- 1) развитие метаболического ацидоза,
- 2) выброс вазоактивных соединений тучными клетками,
- 3) активацию процессов липопероксидации,
- 4) высвобождение лизосомальных гидролаз при дезорганизации лизосомальных мембран с последующим усугублением метаболических сдвигов.

13.2. Механизмы развития гипоксического некробиоза.

В настоящее время очевидно, что развитие гипоксического некробиоза связано в значительной мере с дезорганизацией цитоплазматических, лизосомальных, митохондриальных, и других биологических внутриклеточных мембран, формирующих отдельные функциональные и структурные компартменты.

Причем наиболее ранние расстройства возникают у градиентсоздающих и сократительных систем клеток.

Как известно, одним из наиболее энергоемких ферментов является Na-K-АТФ-аза, обеспечивающая трансмембранный перенос ионов против градиента концентрации и поддерживающая таким образом уровень потенциала покоя клетки и ее возбуждение. Развитие гипоксического состояния, дефицит макроэргов, увеличение пассивной проницаемости цитоплазматических мембран клеток при их дезорганизации в условиях гипоксии приводят к развитию вначале частичной, а затем стойкой деполяризации клеток, невозможности их реполяризации и, соответственно, к отсутствию формирования потенциала действия, подавлению функциональной активности клеток. Одним из последствий подавления Na-,K-АТФ-азы и дезорганизации структурных компонентов цитоплазматических мембран, белков и липидов является избыточное проникновение в цитоплазму Na^+ и H_2O с последующей гипергидратацией, развитием отека и «мутного набухания» клетки. Внутриклеточные гипергидратации – один из типичных признаков ранней обратимой стадии некробиоза клеток при гипоксии.

Важнейшим фактором повреждения клеток при гипоксии являются ионы кальция.

Как известно, внутриклеточная концентрация кальция в состоянии покоя поддерживается в среднем на уровне 10^{-7}M , что в 100.000 раз меньше, чем в межклеточной жидкости. В период возбуждения кальций проникает из внеклеточной среды в клетку через потенциалзависимые кальциевые каналы. При этом возникают активация фосфолипазы С и образование липидных внутриклеточных посредников – диацилглицерина и инозинфосфамин. Цитоплазматический кальций взаимодействует с кальмодулином – внутриклеточным рецептором с последующей активацией кальмодулинзависимых протеинкиназ и включением тех или иных внутриклеточных реакций.

В условиях гипоксии, дефицита энергетического обеспечения клеток возникают недостаточность механизмов инактивации цитоплазматического кальция и удаления его из клеток в связи с подавлением активности АТФ-зависимого Са-насоса, натрий-кальциевого обменного механизма, дестабилизацией митохондриальных мембран и мембран эндоплаз-

матического ретикулума, играющих в условиях нормы важную роль в поддержании баланса внутриклеточного кальция. При избытке внутриклеточного кальция усугубляются процессы набухания митохондрий, усиливаются дефицит АТФ и подавление всех энергозависимых реакций в клетке. Избыток кальция активизирует ядерные эндонуклеазы, фрагментирующие ДНК, индуцирует апоптоз. При высоком уровне внутриклеточного кальция активизируются нейтральные протеазы – кальципаины, разрушающие цитоскелет клетки, в частности, белки фоурин и В-актин, лизирующие рецепторы и протеинкиназу С.

При гипоксическом некробиозе вокруг гибнущих клеток формируется кальцийзависимая активация системы комплемента, активация коагуляционного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, а также фибринолиза и калликреинокиминной системы.

Активация под влиянием кальция мембранных фосфолипаз приводит к дальнейшей дезинтеграции мембран клеток, активации циклооксигеназы и липооксигеназы с последующим образованием простагландинов, лейкотриенов, свободных радикалов с выраженным цитотоксическим действием.

Чрезвычайно важна роль дезинтеграции митохондриальных мембран в механизмах гипоксического некробиоза клеток.

Как известно, в клетках эукариот все специфические дегидрогеназы принимают участие в окислении пирувата и других субстратов, локализованных в митохондриальном матриксе. Во внутренней мембране митохондрий локализуются переносчики электронов, составляющие дыхательную цепь и ферменты, катализирующие синтез АТФ из АДФ и фосфата.

В связи с этим очевидно, что продукты гликолиза, липолиза, протеолиза, вовлекаемые через ацетил-СоА в цикл Кребса, а также АДФ должны пройти через обе митохондриальные мембраны, в то время как новообразованные АТФ проникают из внутренней мембраны митохондрий в цитоплазму клетки и далее к местам энергетических трат. Установлено, что наружная мембрана легко проницаема для всех молекул и ионов небольшого размера, в то время как во внутренней мембране имеются специальные ферментативные транспортные системы, обеспечивающие трансмембранный перенос ионов и различных соединений.

Согласно хемиосматической гипотезе функция переноса электронов, происходящего на внутренней митохондриальной мембране, заключается в том, чтобы откачивать ионы H^+ из матрикса митохондрий в наружную среду для создания градиента концентрации ионов H^+ между двумя водными фазами, разделяемыми

внутренней мембранной митохондрий, и соответственно накопления потенциальной энергии. Очевидно, что при нарушении целостности структуры митохондриальной мембраны в условиях гипоксии возникает утечка ионов H^+ через мембрану, в процессе которой не исключается возможность образования активных форм кислорода с одной стороны, и недостаточность синтеза АТФ - с другой.

Таким образом, при избыточном накоплении ионов кальция в клетке, активации процессов липопероксидации при гипоксии различного генеза резко повышается проницаемость митохондриальных мембран, возникает набухание митохондрий, пространственная дезориентация ферментативных систем транспорта электронов, синтеза АТФ. В результате происходят разобщение окислительного фосфорилирования и дыхания и соответственно подавление всех энергозависимых систем клетки: синтеза белка, трансмембранного переноса ионов, сопряжения процессов возбуждения и сокращения в мышечных структурах и т.д.

В процессе набухания митохондрии энергия потока электронов трансформируется в тепловую энергию.

Наряду с локальными и системными метаболическими сдвигами в тканях, обусловленными гипоксией, ацидозом, активизацией процессов липопероксидации, возникает комплекс метаболических и функциональных сдвигов, обусловленных выбросом гормонов адаптации – катехоламинов, глюкокортикоидов.

Как известно, при чрезмерной активации симпатoadреналовой системы (САС) реакции адаптации довольно быстро трансформируются в дезадаптационные процессы. Во-первых, при активации освобождения норадреналина происходит спазм сосудов периферических органов и тканей и соответственно усугубление циркуляторной гипоксии. На фоне активации САС при участии постсинаптических β -адренорецепторов возможна активация процессов гликолиза, гликогенолиза, липолиза, что, безусловно, усугубляет развитие ацидотических сдвигов, свойственных гипоксии.

Усиление адренергетических влияний закономерно сопровождается активацией процессов липопероксидации, что вносит весомый вклад в механизмы развития гипоксического некробиоза клеток органов и тканей, чувствительных к ишемии.

Синхронно с освобождением катехоламинов в условиях гипоксического стресса выбрасываются глюкокортикоиды, индуцирующие процессы лизиса и апоптоза в лимфоидной ткани, блокирующие процессы пролиферации и репаративной регенерации в ряде внутренних органов.