

УДК 616.127-008.6-022.7-092-053.31:612.121.015.11  
DOI: [https://doi.org/10.24144/1998-6475.2024.2.\(64\).91-96](https://doi.org/10.24144/1998-6475.2024.2.(64).91-96)

# ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС - ПАТОГЕНЕТИЧНА КОМПОНЕНТА СЕПСИС-ІНДУКОВАНОЇ МІОКАРДІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ

**Колоскова О. К., Крецу Н. М.**

*Буковинський державний медичний університет, кафедра педіатрії та дитячих інфекційних хвороб, м. Чернівці*

**Резюме.** Вступ. Сепсис – це небезпечна для життя дисфункція органів, спричинена нерегульованою реакцією організму на інфекцію. Численні фактори, такі як порушення гемодинаміки та енергетичного обміну міокарда, вільні радикали кисню, інгібітори міокарда та загибель кардіоміоцитів є одними із основних елементів, що викликають дисфункцію міокарда. Саме окислювальний стрес, спричинений дисбалансом між активними формами кисню та ендogenous антиоксидантами у відповідь на пошкодження, може призвести до кардіотоксичності.

*Мета дослідження:* оцінити стан окислювальної модифікації білків (ОМБ) плазми крові у новонароджених із сепсис-індукованою міокардіальною дисфункцією для оптимізації лікувальної тактики.

*Матеріали та методи.* Для реалізації поставленої мети під нашим спостереженням на базі неонатальних відділень ОКНП «Чернівецька обласна дитяча клінічна лікарня» м. Чернівці знаходились 117 новонароджених, яких розподілили на дві клінічні групи. Основну групу сформували 87 пацієнтів із діагнозом «Неонатальний сепсис» (НС). Групу порівняння склали 30 новонароджених, у яких спостерігалася перинатальна патологія та в яких інфекційно-запальний процес було спростовано. Для дослідження оцінки інтенсивності ОМБ використовували метод І.Ф. Мещишина.

*Результати досліджень.* Запальна відповідь у новонароджених із НС супроводжується надмірною активацією оксидантної системи з підвищенням інтенсивності ОМБ. Вміст продуктів ОМБ, а саме – альдегід- і кетопохідних динітрофенілгідразонів (АКДНВГ), як крупно, так і дрібнодисперсного характеру в периферійній крові за їх реакцією з 2,4-динітрофенілгідразиним відрізнявся й залежно від виразності міокардіальної дисфункції, що проявлялася потребою новонароджених в інотропній підтримці у процесі лікування.

*Висновки.* Визначення вмісту продуктів ОМБ плазми крові у новонароджених із сепсис-індукованою міокардіальною дисфункцією в процесі лікування дозволить не тільки визначати тяжкість ураження, але й оптимізувати тактику ведення і оцінювати її ефективність за динамікою сироваткового вмісту зазначених показників.

**Ключові слова:** діти, міокардіальна дисфункція, оксидативний стрес, запальна відповідь, цитоморфологічне дослідження.

## **Oxidative stress – a pathogenetic component of sepsis-induced myocardial dysfunction.**

*Koloskova O.K., Kretsu N.M.*

**Abstract.** *Introduction.* Sepsis is a life-threatening organ dysfunction caused by the body's unregulated response to infection. Numerous factors, such as disturbances in myocardial hemodynamics and energy metabolism, oxygen free radicals, myocardial inhibitors, and cardiomyocyte death are among the main elements that cause myocardial dysfunction. It is oxidative stress caused by an imbalance between reactive oxygen species and endogenous antioxidants in response to damage that can lead to cardiotoxicity.

*The aim is to evaluate the state of oxidative modification of proteins (OMP) of blood plasma in newborns with sepsis-induced myocardial dysfunction to optimize treatment tactics.*

*Materials and methods:* To realize the goal, 117 newborns were under our observation at the neonatal departments of the Chernivtsi Regional Children's Clinical Hospital, who were divided into two clinical groups. The main group was formed by 87 patients diagnosed with «Neonatal sepsis» (NS). The comparison group consisted of 30 newborns in whom perinatal pathology was observed and in whom the infectious-inflammatory process was denied. To study the assessment of the intensity of OMP was used the method by I.F. Meshchysyn.

*Research results.* The inflammatory response in newborns with NS is accompanied by excessive activation of the oxidant system with an increase in the intensity of OMP. The content of OMP products, namely aldehyde- and keto-derivatives of dinitrophenylhydrazones, both coarsely and finely dispersed in the peripheral blood



according to their reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine, also differed depending on the severity of myocardial dysfunction, which was manifested by the need of newborns for inotropic support during treatment.

**Conclusion.** Determining the content of blood plasma OMP products in newborns with sepsis-induced myocardial dysfunction in the course of treatment will allow not only to determine the severity of the lesion, but also to optimize management tactics and evaluate its effectiveness based on the dynamics of the serum content of these indicators.

**Key words:** children, myocardial dysfunction, oxidative stress, inflammatory response, cytomorphological study.

### Вступ

Сепсис – це небезпечна для життя дисфункція органів, спричинена нерегульованою реакцією організму на інфекцію. Наразі це основна причина захворюваності та смертності у відділеннях інтенсивної терапії у всьому світі [1]. Серце є одним із важливих органів-мішеней при сепсисі, і велика кількість досліджень показали, що близько 50% пацієнтів із сепсисом демонструють розвиток серцевої дисфункції [2]. Чітко встановлено, що пацієнти із сепсисом із серцевою дисфункцією мають значно вищі показники смертності порівняно з пацієнтами без серцевої дисфункції [3].

Септична кардіоміопатія була вперше описана в 1921 році Е. Ромбергом у його Lehrbuch der Krankheiten des Herzens und der Blutgefäße (Підручник із хвороб серця і кровоносних судин) як septische akute Myokarditis (гострий септичний міокардит). У широкому сенсі її можна визначити як гостру серцеву дисфункцію, не пов'язану з ішемією, яка проявляється різними проявами: аритміями, порушенням роботи лівого та/або правого шлу-

ночка під час систоли чи діастоли, зі зниженням серцевого викиду або без нього [4,5].

Для підтримки нормальної роботи серця необхідна певна кількість кардіоміоцитів. Загибель клітин у серці є згубною, оскільки більшість дорослих кардіоміоцитів є термінально диференційованими та нерегенеративними клітинами з обмеженою здатністю виконувати ключові функції [6].

Численні фактори, такі як порушення гемодинаміки та енергетичного обміну міокарда, вільні радикали кисню, інгібітори міокарда та загибель кардіоміоцитів є одними із основних елементів, що викликають дисфункцію міокарда. Хоча багато чого залишається невідомим, протягом останніх десятиліть значні дослідження покращили розуміння його основних патофізіологічних механізмів, включаючи надмірну запальну реакцію, дисрегуляцію вегетативної нервової системи, ендотеліальну дисфункцію, серцеву аутофагію та апоптоз, порушення регуляції кальцію та метаболічне перепрограмування (рис. 1).

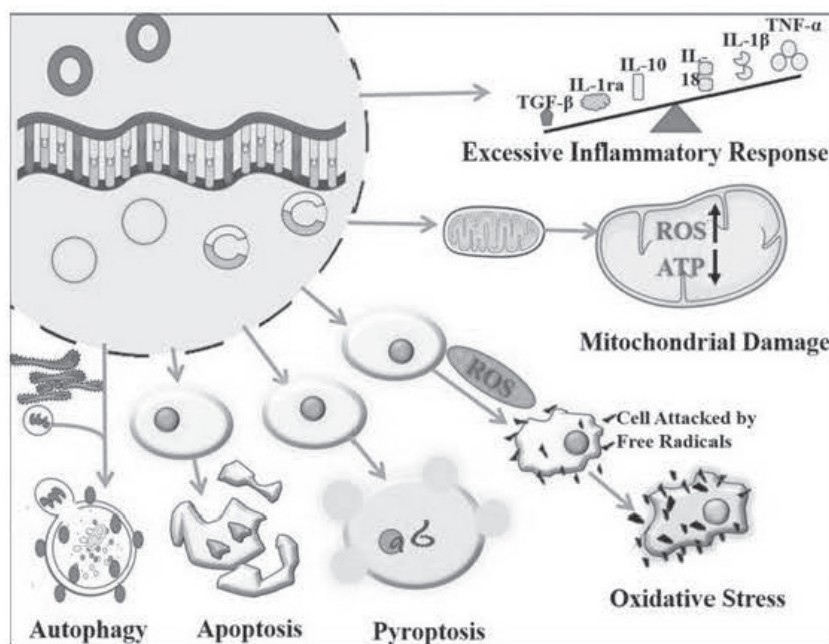


Рис. 1. Механізм ураження міокарда, індукованого сепсисом  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9342248/>



Патологічний механізм серцевої дисфункції, викликаній сепсисом, є складним і багатофакторним. Запалення та окислювальний стрес демонструють глибоку взаємодію, підживлюючи один одного та сприяючи виникненню шкідливих порочних кіл при різних захворюваннях, включаючи сепсис [7]. Згідно з сучасними поглядами, саме окислювальний стрес – це стан, за якого метаболіти окислювачів проявляють токсичну дію внаслідок їх гіперпродукції або накопичення через змінений клітинний механізм захисту. Окислювальний стрес при серцевій недостатності або під час ішемії/реперфузії виникає як результат надмірного утворення та/або накопичення вільних радикалів та продуктів їх окислення. Вільні радикали, що утворюються під час окислювального стресу, можуть ініціювати перекисне окислення ліпідів, а також окислювати білки до неактивних станів і викликати розриви ланцюга ДНК [8]. Новонароджені діти ж складають особливу групу ризику щодо розвитку вільнорадикальних уражень, яким притаманна фізіологічна недостатність систем антиоксидантного захисту, які потребують застосування високих концентрацій кисню під час проведення реанімаційних заходів та подальшого лікування дихальної недостатності, а кожне підвищення оцінки за шкалою Апгар на 1 бал асоціюється зі зниженням на 40% ймовірності неефективності лікування дофаміном [9].

Будучи клітинами з високим метаболізмом, кардіоміоцити підтримують високий рівень клітинного запасу фосфокреатину та аденозинтрифосфату (АТФ), необхідних для безперервної серцевої діяльності. Масштабний процес утворення АТФ із вуглецевого субстрату, який у серці здебільшого залежить від жирних кислот, також призводить до виробництва активних форм кисню (АФК) та активних форм азоту мітохондріальним ланцюгом транспортування електронів. Це виробництво АФК переважно у формі супероксиду ( $O_2^-$ ). Супероксид утворюється шляхом неповного одноелектронного відновлення кисню головним чином у комплексах I і III [10] і має високу реакційну здатність. За нормальних мітохондріальних умов  $O_2^-$  під-

дається швидкій дисмутації спонтанно або мітохондріальною супероксиддисмутазою до перекису водню ( $H_2O_2$ ).  $H_2O_2$  виходить із мітохондрій у цитоплазму, де вона відносно розчинна, і в цитоплазмі зазнає подальшого каталізу до води ( $H_2O$ ) і кисню ( $O_2$ ) каталазою, глутатіонпероксидазами, глутатіоном, тіоредоксином і пероксиредоксину [11]. Крім того, було показано, що тіоредоксинредуктаза-2 контролює тіоредоксин-2 і пероксиредоксин-3 і, таким чином, контролює викид  $H_2O_2$  з мітохондрій незалежно від відновлення глутатіону [12]. Однак за певних обставин  $H_2O_2$  у поєднанні з ендogenousним виробництвом оксиду вуглецю (CO) і оксиду азоту (NO) служать важливими окислювально-відновними сигналами для антиоксидантного захисту та для механізмів відновлення клітин. Метаболічно активна тканина, така як міокард, може бути особливо чутливою до АФК. Наприклад, запальний каскад, викликаний місцевим виробництвом TNF- $\alpha$ , призводить до пошкодження мітохондріальної ДНК, перекисного окислення ліпідів і окислення білка. Усі ці окислені продукти є потенційними стимулами в подальшому для індукції клітинного апоптозу [13].

### Мета дослідження

Метою роботи було оцінити стан окислювальної модифікації білків (ОМБ) плазми крові у новонароджених із сепсис-індукованою міокардіальною дисфункцією для оптимізації підтримуючої метаболічної лікувальної тактики.

### Матеріали та методи

Для реалізації поставленої мети під нашим спостереженням на базі неонатальних відділень ОКНП «Чернівецька обласна дитяча клінічна лікарня» м. Чернівці знаходилися 117 новонароджених, яких розподілили на дві клінічні групи. Основну групу сформували 87 пацієнтів із діагнозом «Неонатальний сепсис» (НС). Групу порівняння склали 30 новонароджених, у яких спостерігалася перинатальна патологія та в яких інфекційно-запальний процес було спростовано. Загальна характеристика груп порівняння наведена у таблиці 1.



Таблиця 1

## Загальна характеристика груп порівняння

Показник			I група (n=87)	Група порівняння (n=30)	p
Гестаційний вік, тижні		M±m	35,3±0,39	36,5±0,48	p>0,05
Маса тіла при народженні, г		M±m	2561,2±102,37	2879,3±134,52	p>0,05
Довжина тіла при народженні, см		M±m	47,3±0,72	49,3±0,77	p>0,05
Стать	хлопчик	абс. (%)	53 (60,9)	18 (60,0)	p>0,05
	дівчинка	абс. (%)	34 (39,1)	12 (40,0)	p>0,05
Народження шляхом кесаревого розтину		абс. (%)	37 (42,5)	8 (26,7)	p>0,05

Примітка: p – критерій Стьюдента.

За основними характеристиками групи вважали співставимими. Залежно від інотропної підтримки, яку новонароджені отримували через гемодинамічну нестабільність, представники I групи були поділені на дві підгрупи: 36 (41,4 %) новонароджених, які знаходились на інотропній дотації увійшли до складу IA підгрупи, решта – 51 (58,6 %) пацієнт – сформували ІБ підгрупу.

Для дослідження оцінки інтенсивності ОМБ використовували метод І.Ф. Мецишина [14]. Принцип методу ґрунтується на тому, що в процесі окисної модифікації білків плазми (сироватки) крові в радикалах залишків аліфатичних амінокислот утворюються альдегідні й кетонні групи. Останні взаємодіють із 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4-динітрофенілгідразону, що мають характерний спектр поглинання. Альдегідо і кетонпохідні нейтрального характеру реєстрували при 370 нм, а основного характеру – при 430 нм.

Дослідження проводили з врахуванням основних принципів Гельсінської декларації з біомедичних досліджень та положень GCH ICH і наказу МОЗ України від 23.09.2009 р. № 690 зі змінами, внесеними згідно з Наказом МОЗ України від 12.07.2012 р. №523, із дотриманням етичних принципів та рекомендацій із залученням людей як суб'єктів, викладених у Белмонтській доповіді. Протокол обстеження дітей, обсяг обстеження, карта поінформованої згоди затверджені етичною комісією БДМУ (Протокол № 7 від 19.04.2018). Дослідження проводилося за поінформованої згоди батьків пацієнтів. Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою методів варіаційної статистики з

обчисленням середньої арифметичної величини (M) та стандартної похибки середньої (m). Показники клініко-епідеміологічного ризику оцінювали за обчисленням відношення шансів події (ВШ) та відносного ризику (ВР) з урахуванням їх 95% довірчих інтервалів (95% ДІ), а також показника атрибутивного ризику (АР). Статистичну обробку фактичних даних проводили за допомогою програми StatSoft Statistica v 6.0, при відомому числі спостережень (n). Критичний рівень значущості «P» при перевірці статистичних гіпотез у даному дослідженні вважали при p < 0,05.

## Результати досліджень

Клінічні прояви сепсису в новонароджених переважно неспецифічні і характеризувалися сукупністю декількох локусів інфекції (55,2 %), серед яких найбільш частими була патологія дихальної системи у вигляді дихального дистресу та вродженої пневмонії, ураження центральної нервової системи, шлунково-кишкового тракту, у вигляді некротизуючого ентероколіту та зниження толерантності до вигодовування та ураження серцево-судинної системи, яке проявлялося необхідністю в призначенні до стартового лікування НС інотропних препаратів.

Важкість стану новонароджених при поступленні, оцінка якого одразу проводилась згідно з інтегральною констеляційною бальною шкалою nSOFA, обумовлювалася переважно проявами респіраторного дистресу та кардіоваскулярної дисфункції. І саме наявність кардіоваскулярних порушень на тлі перебігу НС статистично достовірно погіршувало тяжкість перебігу інфекційного процесу, що відображувалось загальною сумою балів

за шкалою nSOFA  $\geq 3$  бали, оскільки клініко-епідеміологічного ризик даної події становив: ВШ = 10,57 (95 % ДІ: 4,61–24,22), ВР = 2,36 (95 % ДІ: 1,16–4,77), АР = 49 %.

Результати досліджень показали, що запальна відповідь у новонароджених із НС су-

проводжується надмірною активацією оксидантної системи з підвищенням інтенсивності ОМУ порівняно з умовно здоровими народженими дітьми. Показники ступеня ОМБ у периферійній крові новонароджених груп порівняння представлені у таблиці 2.

Таблиця 2

**Вміст продуктів окислювальної модифікації білків у периферійній крові у новонароджених груп порівняння**

Клінічна група	АКДНФГ основного характеру, Е 430 ммоль/г білка	АКДНФГ нейтрального характеру, Е 370 ммоль/г білка
I група (n=87)	72,56 $\pm$ 3,22	2,11 $\pm$ 0,67
II група (n=30)	36,19 $\pm$ 2,14	1,25 $\pm$ 0,06
p	p<0,05	p>0,05

Примітка: p – критерій Стьюдента.

Встановлено, що вміст продуктів окислювальної модифікації білків, а саме – альдегід-і кетоподібних динітрофенілгідрозонів (АКДНВГ), як крупно, так і дрібнодисперсного характеру в периферійній крові за їх реакцією з 2,4-дині-

трофенілгідразинном відрізнявся й залежно від виразності міокардіальної дисфункції, що проявлялася потребою новонароджених в інотропній підтримці у процесі лікування (рис. 2).

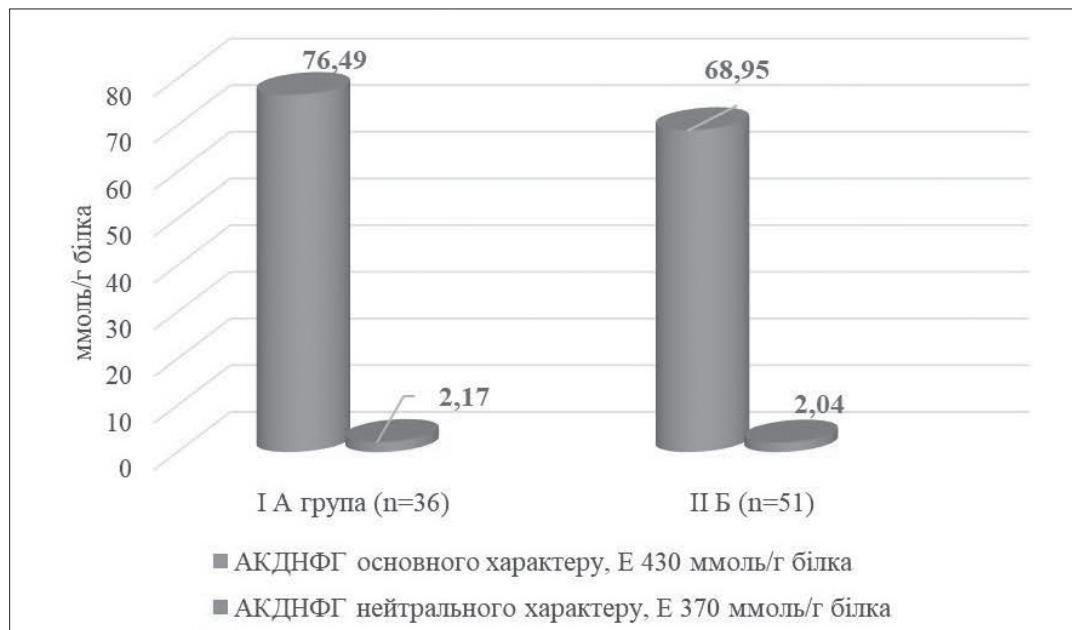


Рис. 2. Вміст продуктів ОМБ у периферійній крові новонароджених залежно від потреби в інотропній підтримці.

Таким чином, на нашу думку, виявлені тенденції ймовірно відображають виразніші процеси деструкції кардіоміоцитів у хворих, які сформували ІА підгрупу, що збігається з сучасними поглядами на роль окисного стресу в розвитку сепсис-індукованої міокардіальної дисфункції, внаслідок надмірного вироблення кисневих радикалів і мітохондріальної дисфункції [15].

Важливими для нас представлялися також і дані цитоморфологічного вивчення стану міокарда, оскільки незважаючи на проведенне лікування в основній групі спостереження з діагнозом: Неонатальний сепсис, стадія септикопемії з розвитком поліорганної невідповідності померли 4 новонароджених у віці 10, 13, 15 та 39 днів. Середній вміст АКДНФГ основного харак-



теру,  $E 430$ , у даній групі новонароджених становив  $89,62 \pm 6,21$  ммоль/г білка, а АКДНФГ нейтрального характеру,  $E 370 - 2,71 \pm 0,09$  ммоль/г білка відповідно. Так, при мікроскопічному дослідженні секційного матеріалу, забарвленого гематоксилін-еозином, патоморфологічні зміни міокарда відзначались повнокрив'ям, ознаками стазу, сладжу, агрегацією еритроцитів, еритроцитарними та гіаліновими мікротромбами в мікроциркуляторному руслі, а також дрібновогнищевими крововиливами. В інтерстиції простежувалися ознаки мукоїдного набряку, фрагментація м'язових волокон та гідропічна дистрофія кардіоміоцитів, що додатково підтвердило значимість окисного стресу на апоптоз та загибель клітин міокарда.

### Висновки

У новонароджених із проявами сепсис-індукованої міокардіальної дисфункції спостерігається активація процесів ОМБ плазми крові за рахунок альдегід-і кетоніоходних динітрофенілгідразонів, як основного, так і нейтрального характеру. На нашу думку, визначення вмісту продуктів ОМБ плазми крові у новонароджених із сепсис-індукованою міокардіальною дисфункцією в процесі лікування, дозволить не тільки визначити тяжкість ураження, але й оптимізувати тактику ведення і оцінювати її ефективність за динамікою сироваткового вмісту зазначених показників.

### REFERENCES

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Cooper-Smith CM, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) JAMA. 2016;315:801–810. doi: 10.1001/jama.2016.0287.
2. L'Heureux M, Sternberg M, Brath L, Turlington J, Kashiouris MG. Sepsis-induced cardiomyopathy: A comprehensive review. *Curr Cardiol Rep.* 2020; 22(35). doi: 10.1007/s11886-020-01277-2.
3. Landesberg G, Gilon D, Meroz Y, Georgieva M, Levin PD, Goodman S, Avidan A, Beerli R, Weissman C, Jaffe AS, Sprung CL. Diastolic dysfunction and mortality in severe sepsis and septic shock. *Eur Heart J.* 2012;33:895–903. doi: 10.1093/eurheartj/ehr351.
4. Beesley SJ, Weber G, Sarge T, Nikravan S, Grissom CK, Lanspa MJ, Shahul S, Brown SM. Septic cardiomyopathy. *Crit. Care Med.* 2018; 46:625–634. doi: 10.1097/CCM.0000000000002851.
5. Martin L, Derwall M, Al Zoubi S, Zechendorf E, Reuter DA, Thiemermann C, Schuerholz T. The septic heart: Current understanding of molecular mechanisms and clinical implications. *Chest.* 2019;155:427–437. doi: 10.1016/j.chest.2018.08.1037.
6. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, Zdunek S, Barnabé-Heider F, Walsh S, Zupicich J, Alkass K, Buchholz BA, Druid H, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science.* 2009;324:98–102. doi: 10.1126/science.1164680.
7. Kakihana Y, Ito T, Nakahara M, Yamaguchi K, Yasuda T. Sepsis-induced myocardial dysfunction: Pathophysiology and management. *J. Intensive Care.* 2016;4:22. doi: 10.1186/s40560-016-0148-1.
8. Neri M, Fineschi V, Di Paolo M, Pomara C, Riezzo I, Turillazzi E, Cerretani D. Cardiac oxidative stress and inflammatory cytokines response after myocardial infarction. *Curr Vasc Pharmacol.* 2015;13(1):26–36. doi: 10.2174/15701611113119990003. PMID: 23628007.
9. Dobrianskyi DO. Perekysne okyslennia lipidiv, antyoksydantnyi zakhyst i leheneve urazhennia u novonarozhnykh ditei. *PAH.* 2000;6:15–21. (in Ukrainian).
10. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem. J.* 2009;417:1–13. doi:10.1042/BJ20081386.
11. Aon MA, Cortassa S, Marbán E, O'Rourke B. Synchronized whole cell oscillations in mitochondrial metabolism triggered by a local release of reactive oxygen species in cardiac myocytes. *J. Biol. Chem.* 2003; 278:44735–44744. doi:10.1074/jbc.M302673200.
12. Stanley BA, Sivakumaran V, Shi S, McDonald I, Lloyd D, Watson WH, et al. Thioredoxin reductase-2 is essential for keeping low levels of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> emission from isolated heart mitochondria. *J. Biol. Chem.* 2011;286:33669–33677. doi:10.1074/jbc.M111.284612.
13. Bartz RR, Suliman HB, Piantadosi CA. Redox mechanisms of cardiomyocyte mitochondrial protection. *Front Physiol.* 2015;6:291.
14. Meshchyshyn IF. Metod vyznachennia oksyniuvalnoi modyfikatsii bilkiv plazmy (syrovatky) krovi. *Bukovynskyi medychnyi visnyk.* 1998; 2(1):156–8. (in Ukrainian).
15. Poggi C, Dani C. Sepsis and oxidative stress in the newborn: from pathogenesis to novel therapeutic targets. *Oxid Med Cell Longev [Internet].* 2018[cited 2022 Aug 29];2018:9390140.