

УДК: 616-053.2

Шкурупій Д.А.

УЛЬТРАСТРУКТУРНИЙ ПОШУК ПАТОГЕНЕТИЧНИХ ЛАНОК РОЗВИТКУ СИНДРОМУ ПОЛІОРГАННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ У НОВОНАРОДЖЕНИХ, ПОМЕРЛИХ ВІД НАСЛІДКІВ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ІНФІКУВАННЯ

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Методом електронної мікроскопії було проведено дослідження аутопсичного матеріалу скелетних м'язів 11 новонароджених, померлих з ознаками синдрому поліорганної недостатності від наслідків перинатального інфікування. Встановлена наявність морфологічних змін в скелетних м'язах померлих новонароджених: зміни форми ядра, конденсація хроматину, зміни форми клітин, конденсація цитоплазми, поява міжфібрилярної вакуолізації, зміна форми, розмірів і дезорганізація крист мітохондрій. Були наявні ознаки апоптозу.

Ключові слова: новонароджені, синдром поліорганної недостатності, скелетні м'язи, електронна мікроскопія

Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи курсу анестезіології та інтенсивної терапії ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» «Поліорганна недостатність у новонароджених: фактори ризику, механізми розвитку, принципи профілактики та інтенсивної терапії», № держреєстрації: 0107U006285.

Вступ

Критичні стани являють собою універсальний процес, основними ланками якого є тканинна гіперфузія і, як наслідок – порушення доставки кисню, цитопатична гіпоксія і порушення клітинного енергозабезпечення [1]. Останній стан розвивається не лише внаслідок обмеження надходжень енергомістких речовин, а й внаслідок мітохондріальної дисфункції, суть якої полягає в порушенні окислювального фосфорилування в мітохондріях. При цьому, таке порушення може розвиватися не лише у відповідь на гіпоксію, а й на ендотоксемію і гіперпродукцію цитокінів з порушенням як функції так і структури мітохондрій. Гіперцитокінемія, особливо – така, що пов'язана з інфекцією, є невід'ємною частиною патогенезу синдрому системної запальної відповіді, септичного шоку і синдрому поліорганної недостатності (СПОН). Отже, мітохондріальну дисфункцію можна розглядати як одну з ланок формування СПОН. Підтвердженням цього є клінічні прояви мітохондріальної дисфункції, які характеризуються поліморфністю, поліорганністю [2].

В неонатальному періоді відбувається адаптація до позаутробних умов існування, інтенсивно проходять процеси росту і фізичного розвитку. Тому новонароджені мають високий рівень основного обміну, а відтак – і високу потребу в адекватному клітинному енергозабезпеченні [3]. Зважаючи на це, мітохондріальні порушення можуть бути принципово значимими для формування СПОН у новонароджених.

Визначення морфологічних ознак мітохондріальних ушкоджень зазвичай проводять у тканині скелетних м'язів, оскільки саме тут є одна з найбільших в організмі кількість мітохондрій [4].

Мета дослідження

Визначення патогенетичних ланок формування СПОН у новонароджених, померлих від наслідків перинатального інфікування, шляхом електронно-мікроскопічної діагностики.

Об'єкт і методи дослідження

Для проведення електронної мікроскопії протягом 2008 року під час проведення аутопсії був проведений забір тканин міжреберних скелетних м'язів у 11 дітей, померлих від наслідків перинатального інфікування.

Секційний матеріал фіксували глютар-альдегідом на фосфатному буфері, ущільнювали в епоксидній смолі, напівтонкі зрізи і фарбували їх поліхромним барвником, виготовляли ультратонкі зрізи, контрастували їх уранілацетатом і проводили мікроскопічне до-

слідження за допомогою електронного мікроскопу МБР-100. Дослідження проводили на базі лабораторії електронної мікроскопії кафедри гістології, цитології та ембріології Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія». Перед початком дослідження був отриманий дозвіл комісії з етичних питань та біоетики даного закладу.

Оцінювали форму і структуру органел міосимпласту і міосателітоциту, констатували наявність мітохондріальних субсарколемальних скупчень в міосимпласті, вакуолізацію міжфібрилярних проміжків. Кількість змін підраховували серед 100 об'єктів в полі зору [5].

Статистична обробка даних проводилась за допомогою методів описової статистики. Враховували абсолютні значення показників, кількість досліджень (n), обчислювали середнє арифметичне (M), помилку репрезентативності (m), медіану (Me), кuartильний розмах (50L, 50U). Використовували програмне забезпечення Statistica 6.0. [6].

Результати досліджень та їх обговорення

У померлих новонароджених виявлялись зміни характеристик як ядер міосателітоцитів, так і міосимпластів. В нормі ядра міосимпласту розташовуються біля внутрішнього шару сарколеми, мають чітку округлу форму з рівномірним хроматиновим забарвленням на периферії. Ядра міосателітоцитів також мають чітку округлу форму, світле забарвлення, займають більшу площу клітини, рівномірно відтісняючи цитоплазму з органелами на периферію [7, 8]. В досліджуваному матеріалі ядра міосимпластів приймали неправильні форми з нерівномірною електронною щільністю за рахунок дифузного відкладення хроматину. В середньому кількість таких ядер на 100 ядер в полях зору складала $42,63 \pm 3,42$ (Me=41,0; 50L=35,0; 50U=54,0; n=11). Такі зміни є свідченням порушення генетичного апарату клітини, зокрема – порушення процесу транскрипції [9].

Саркоплазма в нормі повинна мати рівномірну електронну щільність, більшу її частину мають займати міофібрили з чітко визначеною посмугованістю. В міосателітоцитах померлих новонароджених спостерігались не лише зміни форми клітини і її ядра, а й нерівномірну електронну щільність цитоплазми. Такі зміни реєструвались у померлих новонароджених в середньому в $52,09 \pm 3,05$ клітинах на 100 міосателітоцитів в полях зору і свідчили про порушення трансмембранного обміну [7, 8].

Мітохондрії скелетних м'язів в нормі рівномірно роз-

ташовуються проміж міофібрил, біля сарколеми, в цитоплазмі міосателітоцитів, є електронно-щільними структурами з пластинчастими кристами шириною 0,5-1 мкм. На відміну від цього у померлих новонароджених спостерігались порушення їх форми, розмірів, дезорганізація крист, яка проявлялась у вигляді просвітлення зображення мітохондрій, що є свідченням органічного і функціонального ураження цих органел [9, 10]. Серед померлих новонароджених такі зміни спостерігались 42,55±3,17 мітохондрії серед 100 цих органел в полях зору (Me=44,0; 50L=31,0; 50U=51,0; Σr=126,0; n=11).

В ряді випадків біля сарколеми спостерігались скупчення розширених і світлих мітохондрій. Подібна картина спостерігається при світловій мікроскопії за умови забарвлення матеріалу барвником Гоморі, дістала назву синдрому «рваних м'язових волокон» і вважається патномонічною для мітохондріальних цитопатій [11]. Кількість таких скупчень була підрахована за вивченням 10 полів зору 10 зрізів одного гістологічного блоку. Виявлення субсарколемальних скупчень змінених мітохондрій серед померлих новонароджених в середньому складало 2,91±0,55 випадках (Me=3,0; 50L=1,0; 50U=4,0; n=11).

В ряді міосателітоцитів померлих новонароджених окрім описаних вище змін спостерігались порушення цілісності цитоплазматичної та ядерної мембрани, конденсація та вакуолізація цитоплазми, конденсація хроматину, фрагментація ядра. В середньому такі зміни були виявлені в 31,18±4,75 клітинах на 100 міосателітоцитів в полі зору (Me=25,0; 50L=21,0; 50U=36,0; n=11). В середньому у 9,27±1,15 випадків з 10 полів зору 10 зрізів одного гістологічного блоку була виявлена наявність вакуолізації міжфібрилярних проміжків (Me=9,0; 50L=7,0; 50U=12,0; n=11). Такі зміни можуть бути розцінені як морфологічні еквіваленти апоптозу [10].

Висновки

У новонароджених, померлих від наслідків перинатального інфікування, в тканині скелетних м'язів:

1. Порушується трансмембранний обмін, про що свідчать зміни форми клітин, конденсація цитоплазми і поява міжфібрилярних вакуолей;

2. Наявна мітохондріальна цитопатія у вигляді субсарколемальних скупчень змінених мітохондрій, дезорганізації їх крист і порушень форми;

3. Фіксуються зміни порушення цілісності клітинних мембрани, конденсація та вакуолізація цитоплазми, фрагментація ядра і конденсація хроматину, що може розцінюватись як морфологічний еквівалент апоптичних процесів і змін генетичного апарату клітин;

4. Вказані порушення слід вважати ланками формування СПОН у новонароджених із перинатальним інфікуванням.

Перспективи подальших досліджень

У даному напрямку полягають в розробці лікувально-профілактичних заходів, спрямованих на корекцію вище наведених патогенетичних механізмів.

Література

1. Альтернативные компоненты коррекции микроциркуляторно-митохондриальной дисфункции у больных с тяжелым сепсисом и септическим шоком: Методические рекомендации / [Мосенцев Н.П., Усенко Л.В., Мальцева Л.А. и др.]. – Днепропетровск, 2008. – 32 с.
2. Поздняков О.М. Митохондриальные цитопатии / О.М. Поздняков, А.А. Бабакова, Б.М. Гехт // Журнал неврологии и психиатрии. – 2007. – №2. – С.64-69.
3. Brever E.D. Pediatric experience with intradialytic parenteral nutrition and supplemental tube feeding / E.D. Brever // American Journal of Kidneys Disease. – 1999. – V. 50, №1. – P. 205-207.
4. Клембовский А. И. Клиническая морфология в педиатрии / А. И. Клембовский, В.С. Сухоруков // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2001. – №6. – С. 6–11.
5. Автандилов Г.Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспекте морфометрии / Автандилов Г.Г. – М.: Медицина, 1984. – 288 с.
6. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ STATISTICA / Реброва О.Ю. – М.: Медиасфера, 2002. – 312 с.
7. Гистология [5-е изд.] / [Афанасьев Ю.И., Юрина Н.А., Котовский Е.Ф. и др.]. – М.: Медицина, 2002. – 744 с.
8. Патология: Руководство / [Пальцева М.А., Паукова В.С., Улумбекова Э.Г. и др.]. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 960 с.
9. Egger G. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy / G. Egger, G. Liang A., Aparicio [et al]. // Nature. – 2004. – №429. – P. 457-463.
10. Фільченко О.О. Апоптоз і рак: від теорії до практики / О.О. Фільченко, Р.С. Стойка. – Тернопіль: ТДМУ, 2006. – 524 с.
11. Иллариошкин С.Н. Алгоритм диагностики митохондриальных энцефаломиопатий / С.Н. Иллариошкин // Нервные болезни. – 2007. – №3. – С. 23-26.

Реферат

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ ПОИСК ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЗВЕНЬЕВ РАЗВИТИЯ СИНДРОМА ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У НОВОРОЖДЕННЫХ, УМЕРШИХ ОТ ПОСЛЕДСТВИЙ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ИНФИЦИРОВАНИЯ Шкурупи Д.А..

Ключевые слова: новорожденные, синдром полиорганной недостаточности, скелетные мышцы, электронная микроскопия

Методом электронной микроскопии было проведено исследование аутопсического материала скелетных мышц 11 новорожденных, умерших с признаками синдрома полиорганной недостаточности от последствий перинатального инфицирования. Установлено наличие морфологических изменений в скелетных мышцах умерших новорожденных: изменения формы ядра, конденсація хроматина, изменение формы клеток, конденсація цитоплазмы, появление межфибрилярной вакуолизации, изменение формы, размеров и дезорганизация крист митохондрий. Имелись признаки апоптоза.

Summary

ULTRASTRUCTURAL SEARCH OF PATHOGENETIC LINKS INVOLVED INTO THE DEVELOPMENT OF MULTIPLE ORGAN FAILURE IN NEWBORNS WHO DIED OF PERINATAL INFECTION CONSEQUENCES

Shkurupiy D.A.

Key words: newborns, multiple organ failure, skeletal muscles, electronic microscopy.

The paper presents the results of electronic microscopy used to study skeletal muscles autopsy material taken from 11 newborns that died with the signs of multiple organ failure caused by perinatal infection. The morphological changes in the skeletal muscles of the newborns including the changing of nucleus shape, cytoplasm condensation, appearance of intrafibrillary vacuolation as well as the changing in form, sizes of mitochondrial cristae and their disorganization were found out. The signs of apoptosis were also registered