

Активність креатинфосфокінази (КФК), лактатдегідрогенази (ЛДГ) у новонароджених з синдромом аспірації меконію,  $M \pm m$ 

Вік, доба	Основна група (n = 18)	Група порівняння (n = 14)	Контрольна група (n = 13)	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>
креатинфосфокіназа (КФК) (Од/л)					
0-5	866,97±320,38	764,59±184,14	130,00±19,55	<0,01	<0,5
5-10	407,15±182,93	389,73±150,30	53,81±13,23	<0,01	<0,5
лактатдегідрогеназа (ЛДГ) (Од/л)					
0-5	2410,39±623,07	1627,31±151,03	726,86±112,87	<0,01	<0,01
5-10	1349,24±367,58	953,33±103,02	624,12±82,6	<0,01	<0,01

p<sub>1</sub> - достовірність різниць між контрольною та основною групамиp<sub>2</sub> - достовірність різниць між основною групою та групою порівняння

Як видно, у новонароджених обох груп відмічається достовірне збільшення активності креатинфосфокінази та лактатдегідрогенази порівнянно з немовлятами групи контролю, що вказує на транзиторну ішемію міокарду. Поряд з цим відмічається значна різниця у показниках лактатдегідрогенази у дітей основної групи та групи порівняння, що лише вказує на важкість перенесеної гіпоксії, що супроводжується цитолізмом та виходом ферментів в кров'яне русло.

Також потрібно відмітити, що спостерігається підвищена активність ферментів у новонароджених з синдромом аспірації меконію з тенденцією до зниження впродовж усього раннього неонатального періоду, що лише опосередковано підтверджує напруженість вуглеводного компоненту в метаболічних процесах.

## ВИСНОВКИ

У новонароджених, що перенесли перинатальну гіпоксію виявляється дезадаптація серцево-судинної системи, що характеризується функціональними, метаболічними змінами, підвищенням кардіоспецифічних ферментів. Адже гіпоксія викликає генералізоване порушення багатьох органів та систем, що потребує розглядати її як єдиний енергетичний дистрес-синдром. Порушення носять транзиторний характер, на що вказують рівні ферментів в динаміці у обстежених дітей. Але чітко видно, що новонароджені з синдромом аспірації меконію мають більш глибокі зміни у метаболізмі, що потребує тривалої реабілітації та відновлення клітинних структур.

Поступила 15.02.2010

УДК 616.72-002.77-058.86:616.127:611:611-018.1:59.082

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2010

## МОРФОГЕНЕЗ СТРУКТУРЫ КЛЕТОК И СОСУДОВ МИОКАРДА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ С МОДЕЛИРОВАННЫМ ЮРА

Н.Н.Каладзе, А.К.Загоруйко, Л.А.Кутузова, Н.Ю.Новиков

Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского, г. Симферополь

## РЕЗЮМЕ

В статье проанализированы морфологические изменения сердечно-сосудистой системы при моделировании ювенильного ревматоидного артрита на 24 белых чистопородных крысах «Wistar». Проведено морфологическое исследование миокарда у животных с экспериментально вызванным ЮРА в зависимости от методов лечения - гормональная терапия и метаболитическая коррекция. Дистрофические и деструктивные процессы миокарда в условиях данного эксперимента свидетельствуют о необходимости метаболитической коррекции.

**Ключевые слова:** ювенильный ревматоидный артрит, эксперимент, миокард, крысы, метаболитическая коррекция.

## SUMMARY

In the article morphological cardiovascular system analyzed the experimentally caused juvenal rheumatoid arthritis on the 24 white breed «Wistar» rats. It was carried out morphological research of hearts of animals with rheumatoid arthritis depending on the methods of treatments – hormonal therapy and metabolic correction. Dystrophy and disturbance of cardiovascular system of this experiment testifies to necessity of metabolic correction.

**Key words:** juvenil rheumatoid arthritis, experiment, cardiovascular system, rats, metabolic correction.

Ювенильный ревматоидный артрит (ЮРА) остается одной из актуальных проблем современной ревматологии в связи с высокой распространенностью, часто прогрессирующим течением и склонностью к хронизации процесса, сопровождающимся вовлечением внутренних органов, а так же сложностью лечения. Увеличение роста заболевания в Украине составляет до 5-19 случаев на 100 000 детского населения [1, 4, 8]. Трудность диагностирования, несоответствие клинических и морфологических проявлений сердечно-сосудистой системы, а также неопределенность данных при поражении сердца во многом определяют прогноз и течение заболевания у больных ЮРА [3, 5, 8, 11]. Характерно раннее развитие дистрофических изменений в миокарде, которые нарастают с прогрессиру-

ванием заболевания, однако морфологические изменения в сердце встречаются чаще, чем проявляются клинически [7, 9, 10]. Создание экспериментальной модели хронического аутоиммунного воспаления позволило изучить его влияние на состояние сердечно-сосудистой системы при ЮРА.

Целью нашей работы явилось изучение и выявление изменений в миокарде и сосудах у экспериментальных животных с моделированным ювенильным ревматоидным артритом на фоне проведенной гормонотерапии и метаболитической коррекции.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 24 белых чистопородных крысах «Wistar» 3-х месячного возраста весом 90-120 г., находившихся в стацио-

нарных условиях вивария. Все эксперименты на животных проводились с соблюдением международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1985), а также в соответствии «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» [2, 6].

Для моделирования ювенильного ревматоидного артрита применяли введение адьюванта Фрейнда. Так, как наша экспериментальная модель сопоставима к детскому возрасту человека, то нами были взяты белые крысы породы «Wistar» в возрасте 12-14 дней, весом 14-16г. Изначально экспериментальным животным вводили однократно, внутривенно 0,01мл адьюванта Фрейнда. Моделировался аутоиммунный процесс путем сенсибилизации организма животного в течении 20 дней. Затем в течении 13 недель вводился адьювант Фрейнда (1 мкг на 1 животное в течении суток) подкожно над суставом. У всех экспериментальных животных к 16-й неделе развивался полиартрит с преимущественной локализацией в тазобедренных, коленных и плечевых суставах, с менее выраженным поражением мелких сочленений. Клинически отмечалась болезненность суставов при пальпации, ограниченность движений, особенно в задних конечностях; снижение мышечного тонуса и дряблость мышц; отсутствие аппетита и потеря веса.

В зависимости от вида эксперимента животные были разделены на 4 группы. Первую группу составили животные с экспериментально вызванным ювенильным ревматоидным артритом (n = 6), не получавшая лечение. Вторую группу составили 6 животных в возрасте 16-ти недель с моделированным ЮРА путем введения преднизолона (глюкокортикоидная модель) на протяжении 4-х недель. В третью группу вошли животные (n = 6, возраст - 16 недель), которые на фоне моделированного ЮРА, получили метаболическую коррекцию препаратом «кардонат» в течении 4-х недель. Четвертую группу составили здоровые животные (n = 6) контрольной группы (КГ).

Забор материала проводился через 15 недель с момента моделирования РА и через 19 недель после лечения препаратами. Для морфологических исследований брались участки миокарда у 18-х больных животных с экспериментальной моделью ЮРА и с проведенным лечением, а также образцы миокарда от здоровых доноров-животных в качестве группы контроля.

Полутонкие срезы миокарда (1 мкм) изготавливали на ультратоме УМПТ-7 (Украина), просматривали и фотографировали на электронных микроскопах ПЭМ-100 (Украина). Увеличение подбиралось адекватно целям исследования и колебалось в пределах 20000 – 60000 крат.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные при электронной микроскопии морфологические результаты свидетельствуют о создании хронического аутоиммунного воспаления, характерного для ЮРА, а так же выявлении изменений в сердечно-сосудистой системе у экспериментальных животных.

Анализируя результаты электронномикроскопического исследования миокарда у животных первой группы с моделированным аутоиммунным процессом, обнаруживаются в кардиомиоцитах выраженные деструктивные изменения. Степень выраженности ультраструктурных изменений не зависит от отдела сердца и расположения кардиомиоцитов по отношению к сердечным слоям. На ультраструктурном уровне эти изменения заключаются в том, что митохондрии имеют преимущественно сферическую форму. Среди них преобладают митохондрии небольшого размера с просветленным матриксом. Определяются множественные разрывы и нарушение целостности митохондриальных мембран, вакуолизация и фрагментация подавляющего числа митохондрий. Кристы митохондрий укорочены, дезориентированы и фрагментированы, на них в большом числе наблюдаются кристаллические высокой электронной плотности включения. В большинстве митохондрий не удается проследить двухконтурность крист и мембран. При этом в матриксе подавляющего большинства митохондрий визуализируется хлопьевидный аморфный материал различной электронной плотности. Зачастую среди митохондрий располагаются миелиновидные структуры, сравнимые по размеру с крупной митохондрией.

Вблизи ядра регистрируется появление полисом и гиперплазия элементов комплекса Гольджи. Цистерны комплекса расширены, содержимое имеет различную электронную плотность (Рис.1, 2).

Рис. 1.

Электронная микрофотография. Дезориентация, фрагментация и укорочение крист митохондрий. В матриксе митохондрий - хлопьевидный аморфный материал (отмечено стрелками). Гиперплазия элементов комплекса Гольджи (отмечено пунктирными стрелками). Ув. 15 000.

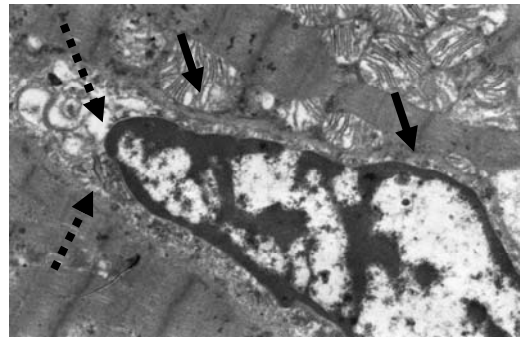
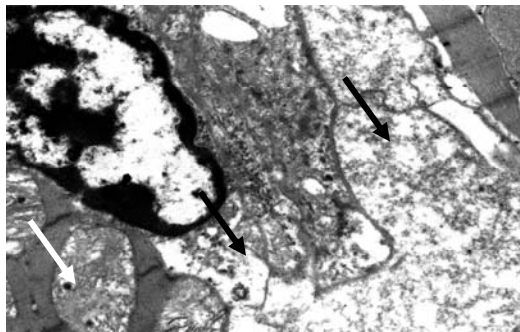


Рис. 2.

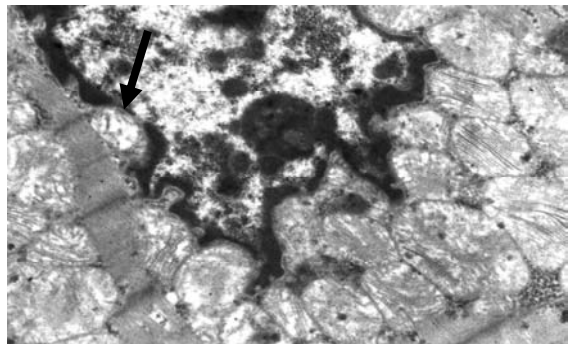
Электронная микрофотография. Разрыв мембран и вакуолизация митохондрий (отмечено стрелками). Ув. 15 000.



Ядра кардиомиоцитов занимают центральное положение в клетке. Ядерный хроматин конденсируется по периферии кариоплазмы. Кариолема формирует множество инвагинаций, отчего ее край приобретает неровные и фестончатые очертания. Гетерохроматин распределен преимущественно по периферии ядра. В центре ядра определяется зона полной деконденсации и незначительного размера глыбки конденсированного хроматина. Ядерные поры резко расширены. Они порой граничат с околоядерными вакуолями, расположенными в цитоплазме. Околоядерное межмембранное пространство определяется не на всем протяжении (Рис. 3).

Рис. 3.

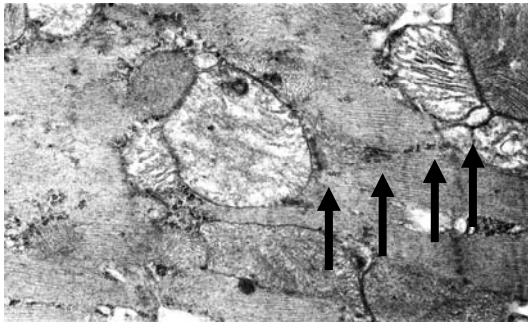
Электронная микрофотография. Кариолема формирует множество инвагинаций. Ядерные поры расширены, граничат с вакуолями (отмечено стрелками). Ув. 15 000.



Наблюдается расширение саркоплазматических ретикулярных канальцев, очаговый лизис саркоплазматического матрикса, отек миокардиальной стромы, разобщение и лизис миофибрилярных пучков, что является свидетельством выраженного повреждения. Z-линии неравномерной электронной плотности, во многих случаях деструктурированы и представляют собой цепочки поперечно ориентированного электронноплотного глобулярного материала (Рис. 4.).

Рис. 4.

Электронная микрофотография. Z-линии неравномерной электронной плотности, деструктурированы, представляют собой цепочки поперечно ориентированного электронноплотного глобулярного материала (отмечено стрелками). Ув. 15 000.

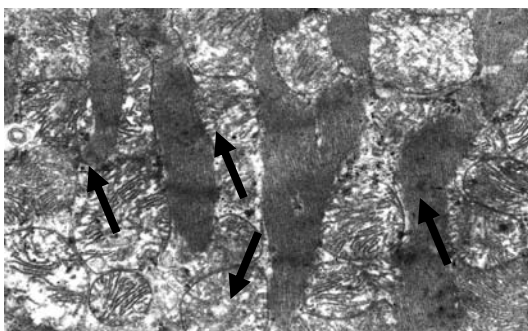


Местами деструктурированы и сами мышечные филаменты. Сократительные фибриллы при этом сохраняют упорядоченное расположение актиновых и миозиновых нитей лишь частично. Участок цитоплазмы клетки, занимаемый ими ранее, просветлен и содержит разрозненные, фрагментированные и ориентированные хаотично фибриллы. М-линии прослеживаются во всех препаратах, но при этом не всегда сохраняют свою четкость. И - диски за счет деструкции и отделения нитей актина от Z-линий имеют также множество просветлений. Капилляры выглядят заустевшими, цитоплазма эндотелиоцитов заполнена множеством просветлений, вакуолями. Нередкой находкой оказались множественные разрывы апикальной плазмалеммы эндотелиальных клеток, разрывы кариолеммы с деструкцией большинства внутриклеточных органелл.

Во второй группе глюкокортикоидной модели, созданной при лечении преднизолоном, деструктивные изменения выражены в гораздо меньшей степени, однако в той же мере сохраняются явления дезорганизации стромы миокарда и самих миокардиоцитов. Наблюдается вакуолизация подавляющего числа митохондрий, а также дезориентация, фрагментация и укорочение крист митохондрий (Рис. 5.).

Рис. 5.

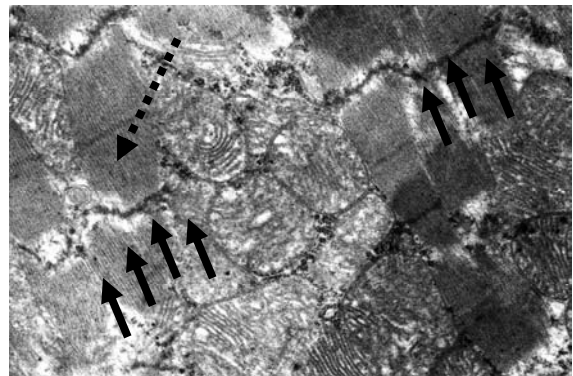
Электронная микрофотография. Дезориентация, фрагментация и укорочение крист митохондрий (отмечено стрелками). Ув. 20 000.



Ядра кардиомиоцитов сохраняют свою форму и занимают центральное положение в клетке. Кариолемма ровная, околоядерное пространство визуализируется в виде тонкой электроннопрозрачной каймы. В ядрах большинства кардиомиоцитов наблюдается конденсация гетерохроматина по периферии кариоплазмы. Отек миокардиальной стромы выражен в меньшей степени, чем в предыдущей группе и носит очаговый характер. Z-линии электронноплотные, прослеживаются во всех препаратах, сохраняют свою направленность и четкость. Размер таких просветлений, имеющих вид размытых, проходящих параллельно Z-линиям, полос, составляет 400 или 500 нм (Рис. 6.).

Рис. 6.

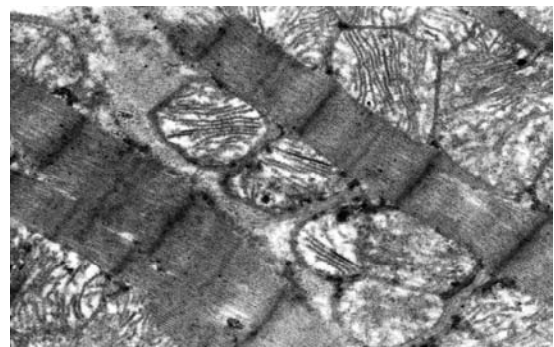
Электронная микрофотография. Отделение от Z-линии нитей актина (отмечено стрелками). Пунктирной линией показаны миелиновоподобные структуры. Ув. 20 000.



Изменения в миокарде пациентов третьей наблюдаемой группы, получивших метаболическую коррекцию препаратом «кардонат», по сравнению с двумя предыдущими, оказываются мало значимыми и носят поверхностный, но обратимый характер. В области интредигитаций и десмосом кардиомиоциты прочно соединены между собой. Отек миокардиальной стромы не выражен, визуализируется лишь в виде незначительных очаговых просветлений. Ядра сохраняют свою форму, занимают центральное положение в клетке, хорошо выявляется расположенный по периферии, а в центре ядра – в виде нескольких ядрышек, гетерохроматин. Ядерные поры и околоядерное пространство визуализируются достаточно ясно. Митохондрии плотно упакованы между миофибриллами, представлены как небольшие округлыми формами, так и гигантскими, вытянутыми на большую дистанцию органеллами (Рис. 7.).

Рис. 7.

Электронная микрофотография. Гигантские митохондрии. Ув. 15 000.

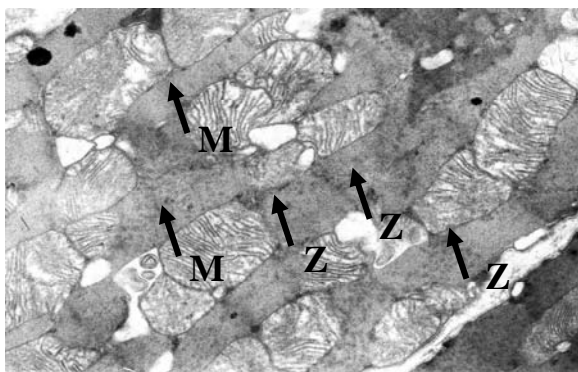


Подобная картина создает ощущение существования единой митохондриальной межфибрилярной сети, субъединицы которой отделены друг от друга внутренними мембранами. Митохондриальные мембраны и кристы сохраняют двухконтурность и направленность. В нескольких препаратах обнаруживается дезориентация и укорочение крист, очаговое просветление матрикса митохондрий, а также миелиновоподобные структуры.

Z – линии и M – линии выражены хорошо, сохраняют четкость, прослеживаются во всех препаратах. Встречаются электронносветлые участки разволокненных дезорганизованных фибрилл саркомера, размерами до 200 нм. Локализованы такие участки в саркомере, относительно Z – линий и M – линий, в равной степени одинаково и без видимой периодичности (Рис. 8).

Рис. 8.

Электронная микрофотография. Z – линии и M – линии выражены хорошо, сохраняют четкость, прослеживаются во всех препаратах (показаны стрелкой). Ув. 20 000.



#### ВЫВОДЫ

1. Обнаруженные изменения клеток и сосудов сердечной мышцы при ювенильном ревматоидном артрите в сравнении с контрольной группой здоровых животных свидетельствуют о преобладании дистрофических и деструктивных процессов, приводящих к необратимой структурной перестройке миокарда. Деструкция митохондрий, необратимое нарушение целостности сократительного комплекса, дегенеративные изменения ядер кардиомиоцитов, глубокие патоморфологические изменения стромы и преобладающие деструктивные изменения в эндотелии капилляров приводят к разрушению мышечных волокон.

2. Использование гормонального лечения при данной патологии до определенной степени нивелирует указанные изменения. Но при этом во второй группе все же выявляются признаки необратимых ультраструктурных изменений. В первую очередь эти изменения регистрируются в митохондриях и сократительном аппарате кардиомиоцитов.

3. Отмечена положительная динамика в третьей наблюдаемой группе с применением метаболической терапии препаратом «кардонат». Определяются незначительные изменения кардиомиоцитов, а также обратимые процессы наиболее энергетически зависимых органелл - митохондрий и в меньшей степени сократительного аппарата клеток. В большей части кардиомиоцитов преобладают ультраструктурные изменения адаптивного характера.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Амосова Е.Н. Клиническая кардиология: в 2-х т. – К.: Здоров'я, 2002. – Т. 2. – 989 с.
2. Западнюк В.И. Лабораторные животные / В.И. Западнюк, И.П. Западнюк, Е.А. Захария. – К.: Выща школа, 1985. – 385 с.
3. Котельникова Г.П. Поражение сердца при ревматоидном артрите // Ревматоидный артрит. – М.: Медицина, 2002. – С. 89-90.
4. Макаров Л.М. ЭКГ в педиатрии. – М.: Медпрактика, 2006. – 544с.
5. Нагорная Н.В., Пшеничная Е.В. Ранняя диагностика хронической сердечной недостаточности у детей с нарушениями ритма сердца и проводимости. // Здоровье ребенка. – 2007. – №3(6). – С. 22-26.
6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожем'якін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова. – Київ. «Авіцена», 2002. – 156 с.
7. Раденска-Лоповок С.Г. Морфологические методы исследования и диагностики в ревматологии В кн.: Ревматические болезни (руководство по внутренним болезням) под ред. В. А. Насоновой и Н. В. Бунчука. М.: Медицина, 1997. С. 80-94.
8. Ревматоидный артрит у детей. / Под ред. Е.М. Лукьяновой, Л.И. Омельченко. – К.: «Книга плюс», 2002. – 176 с.
9. Дурко В.В., Котельникова Г.Н., Раденска-Лоповок С.Г. Поражение сердца и сосудов при ревматоидном артрите // Лечащий врач. – 2003. – №3.
10. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза / под ред. В.В. Поворознюка. К.: МОЗ Украины. – 2005. – С. 17-20.
11. Baker P.B., Bansal G. Boudoulas H. et al. Floppy mitral valve chordae tendineae: histopathologic alterations // Hum. Pathology. – 1998. – Vol. 19. – P. 507-512.

Поступила 16.01.2010

УДК 616.72 – 002 – 053.4.6

© КАЛАДЗЕ Н.Н., САВЕЛКО Н.В., ДУСАЛЕЕВА Т.М., 2010

## ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ БОЛЬНЫХ ЮВЕНИЛЬНЫМ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Н.Н. Каладзе, Н.В. Савелко, Т.М. Дусалева

Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, г. Симферополь

#### РЕЗЮМЕ

Обследован 171 больной ювенильным ревматоидным артритом. Определяли рост, массу тела, индекс массы тела, структурно-функциональный возраст костной системы. Сделаны выводы, что у больных ювенильным ревматоидным артритом показатели физического развития ниже среднепопуляционных нормативных показателей. Наиболее низкие показатели выявлены у детей с суставно-висцеральной формой и быстро прогрессирующим течением заболевания.

**Ключевые слова:** ювенильный ревматоидный артрит, физическое развитие, структурно-функциональный возраст костной системы.