

УДК 616.127:616-001.17-091.8

УЛЬТРАСТРУКТУРА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ТЯЖЕЛОМ ОЖГОВОМ ШОКЕ

Савченко С.В.¹, Ощепкова Н.Г.¹, Новоселов В.П.¹, Бгатова Н.П.², Кузнецов Е.В.¹,
Летягин А.Ю.²

¹ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, e-mail: dr.serg62@yandex.ru;

²НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, e-mail: n_bgatova@ngs.ru

Цель исследования: изучить характер ультраструктурных изменений, лежащих в основе механизмов развития острой сократительной недостаточности миокарда при тяжелом ожоговом шоке. Проводился ультраструктурный анализ образцов миокарда левого желудочка сердца при проведении раннего секционного исследования умерших пациентов с тяжелой ожоговой травмой в областном комбустиологическом центре. Исследование миокарда проводили у погибших (N=5) от тяжелого ожогового шока (3 мужчин и 2 женщин; возрастная категория 32–44 года). Все погибшие имели термические ожоги 2–4-й степени площадью от 50% до 80%, полученные на пожарах, т.е. от действия пламени. При развитии ожогового шока были выявлены изменения ультраструктуры кардиомиоцитов в виде отека клеток, увеличения межфибрillлярных пространств, снижения объемной плотности миофibrилл и их внутренней дезорганизации, а также полиморфизм митохондрий с очаговыми повреждениями крист и повышение объемной плотности лизосом. Кроме того, отмечены снижение объемной плотности миофibrилл в сочетании с увеличением объемной плотности лизосом, а также накопление липидных включений и развитие аутофагии, что связано с процессом повреждения клеточных органелл кардиомиоцитов при ожоговом шоке. Внутриклеточная деградация кардиомиоцитов миокарда левого желудочка развивается в результате гипоксических, микроциркуляторных и токсических воздействий при ожоговом шоке.

Ключевые слова: ожоговый шок, патоморфология, ультраструктура, миокард, микроскопия.

PATHOMORPHOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL ASSESSMENT OF THE MYOCARDIUM IN BURN SHOCK

Savchenko S.V.¹, Oshchepkova N.G.¹, Novoselov V.P.¹, Bgatova N.P.², Kuznetsov E.V.¹,
Letyagin A.Y.²

¹Novosibirsk State Medical University Novosibirsk, Novosibirsk, e-mail: dr.serg62@yandex.ru;

²Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal State Budget Scientific Institution «Federal Research Center – Branch of Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences», Novosibirsk, e-mail: n_bgatova@ngs.ru

Objective: to study the nature of ultrastructural changes underlying the mechanisms of development of acute myocardial contractile insufficiency in severe burn shock. Ultrastructural analysis of left ventricular myocardial samples was performed during an early sectional study of deceased patients with severe burn injury in the regional combustiology center. Myocardial examination was performed in the victims (N=5) from severe burn shock (3 men and 2 women; age category 32–44 years). All the victims had thermal burns of 2-4 degrees, with an area of 50% to 80%, obtained from fires, i.e. from the action of the flame. During the development of burn shock, changes in the ultrastructure of cardiomyocytes were revealed, in the form of cell edema, an increase in inter-fibrillar spaces, a decrease in the volume density of myofibrils and their internal disorganization, as well as mitochondrial polymorphism with focal crist damage and an increase in the volume density of lysosomes. In addition, there was a decrease in the volume density of myofibrils in combination with an increase in the volume density of lysosomes, as well as the accumulation of lipid inclusions and the development of autophagy, which is associated with the process of damage to the cellular organelles of cardiomyocytes in burn shock. Intracellular degradation of cardiomyocytes of the left ventricular myocardium develops as a result of hypoxic, microcirculatory and toxic effects in burn shock.

Keywords: burn shock, pathomorphology, ultrastructure, myocardium, microscopy.

Тяжелая ожоговая травма по-прежнему характеризуется высокими показателями летальности, которые в первые сутки после термического воздействия связаны с развитием

ожогового шока [1–4]. Ожоговый шок принято относить к одному из самых тяжелых видов шока [5]. Это обусловлено тем, что ожоговый шок сопровождается интенсивной болевой импульсацией из пораженных в результате термического воздействия раневых поверхностей, выраженной плазмапотерей за счет сгущения крови, а также тяжелейшей интоксикацией [6, 7]. Одновременно в ответ на термическую травму с развитием ожогового шока отмечаются выраженная активация симпатоадреналовой системы, а также системный воспалительный ответ [6, 8].

У пациентов с тяжелым ожоговым шоком клинически отмечают очень быстрое развитие гемодинамических расстройств, что проявляется с первых минут после термической травмы выраженной тахикардией, которая прогрессирует по мере развития шока, при этом частота сердечных сокращений может превышать 120–140 ударов в 1 минуту [9]. Одновременно у пациентов с тяжелым ожоговым шоком отмечают снижение артериального и центрального венозного давления, обусловленное прогрессированием шока и сопровождающееся значительным снижением перфузии внутренних органов, а также нарастающей гипоксией и выраженными электролитными расстройствами. По мере перехода ожогового шока в стадию необратимого шока – рефрактерного – первоначально развивается систолическая, а затем и диастолическая сердечная недостаточность. Нередко отмечают нарушения сердечной деятельности за счет появившихся аритмогенных расстройств.

С целью обоснования механизмов развития сократительной недостаточности миокарда левого желудочка при ожоговом шоке целесообразно проведение исследования, предполагающего осуществление морфометрического анализа изменений ultraструктуры кардиомиоцитов.

Цель исследования: изучить характер ultraструктурных изменений кардиомиоцитов, лежащих в основе механизмов развития острой сократительной недостаточности миокарда при тяжелом ожоговом шоке.

Материал и методы исследования. Для проведения ultraструктурного анализа миокарда осуществляли забор образцов миокарда левого желудочка сердца при проведении раннего секционного исследования умерших пациентов с тяжелой ожоговой травмой в областном комбustиологическом центре.

Секционный материал для электронно-микроскопического исследования – миокард левого желудочка – забирался в морге при проведении ранних вскрытий, через 2 ч после констатации биологической смерти, у погибших ($N=5$) от тяжелого ожогового шока (3 мужчин и 2 женщин; возрастная категория 32–44 года). Все погибшие имели термические ожоги 2–4-й степени площадью от 50% до 80%, полученные на пожарах, т.е. от действия пламени. Смерть всех пациентов наступила в первые двое суток с момента получения ожоговой травмы. В

качестве контроля использовали аутопсийный материал, который был забран при проведении раннего вскрытия, через 2 ч после констатации биологической смерти, у доставленных «Скорой помощью» скоропостижно умерших мужчин ($N=3$) от «острой коронарной смерти» (возрастная категория 35–45 лет). Все аутопсии проводились в танатологическом отделе ГБУЗ НСО «Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы», куда были доставлены тела умерших.

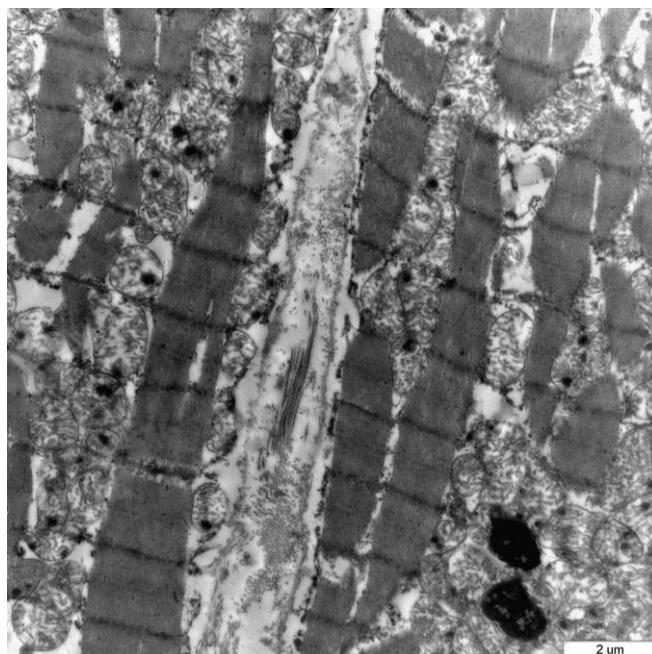
Для исследования ультраструктурной организации кардиомиоцитов фрагменты миокарда левого желудочка фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, дофиксировали в 1%-ном растворе OsO₄ на фосфатном буфере ($pH=7,4$), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон. Полутонкие срезы толщиной 1 мкм окрашивали толуидиновым синим и изучали под световым микроскопом «LEICA DM» (Германия). Ультратонкие срезы толщиной 70–100 нм контрастировали насыщенным водным раствором ацетат уранила и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1400 (Япония). При увеличении $\times 8000$ получали цифровые микрофотографии фрагментов цитоплазмы кардиомиоцитов. Кардиомиоциты морфометрировали с помощью компьютерной программы Image J. Определяли объемные плотности митохондрий, миофибрилл, цитоплазмы с эндоплазматической сетью и гликогеном, лизосом при использовании закрытой тестовой системы с 323 точками. Статистическую обработку полученных результатов производили с использованием пакета программ STATISTICA v. 6 (StatSoft Inc., США). Значимость различий оценивали, используя U-критерий Манна–Уитни, при уровне достоверности 95% ($p<0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение. При ультраструктурном анализе миокарда левого желудочка умерших в стадии ожогового шока были выявлены деструктивные изменения ультраструктуры кардиомиоцитов. В кардиомиоцитах левого желудочка наблюдали структурные изменения (табл.), связанные с достоверно значимым увеличением (на 63%) объемной плотности цитоплазмы клеток в сравнении с контролем за счет выраженного отека ($p<0,05$) (рис. 1). Наряду с отеком кардиомиоцитов значительно увеличились размеры межфибриллярных пространств – также за счет развивающегося отека вследствие острых расстройств кровообращения (рис. 2). При этом следует отметить, что объемная плотность миофибрилл снижалась на 36%. Кроме того, отмечено нарушение структурной целостности миофибрилл в виде их разволокнения. Выявлено нарушение структуры кардиомиоцитов в области вставочных дисков (рис. 3).

Результаты морфометрии кардиомиоцитов при ожоговом шоке ($M\pm SD$)

Группа	Митохондрии Vv	Цитоплазма Vv	Миофибриллы Vv	Лизосомы Vv
Контроль	36,57±3,28	11,61±2,47	50,77±2,52	0,84±1,23
Ожоговый шок	33,72±3,77	31,69±3,48*	32,49±4,16*	6,61±1,78*

Примечание: Vv – плотность структур * – отличия от соответствующих значений в контроле $p \leq 0,05$.



Rис. 1. Ультраструктура кардиомиоцита при ожоговом шоке.

Возрастание объемной доли цитоплазмы

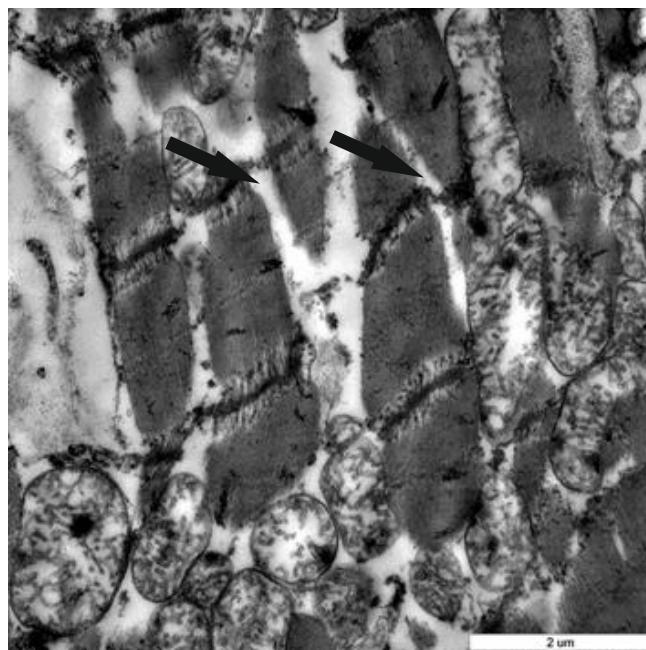


Рис. 2. Ультраструктура кардиомиоцита при ожоговом шоке.

Возрастание межфибрillлярных пространств (стрелки)

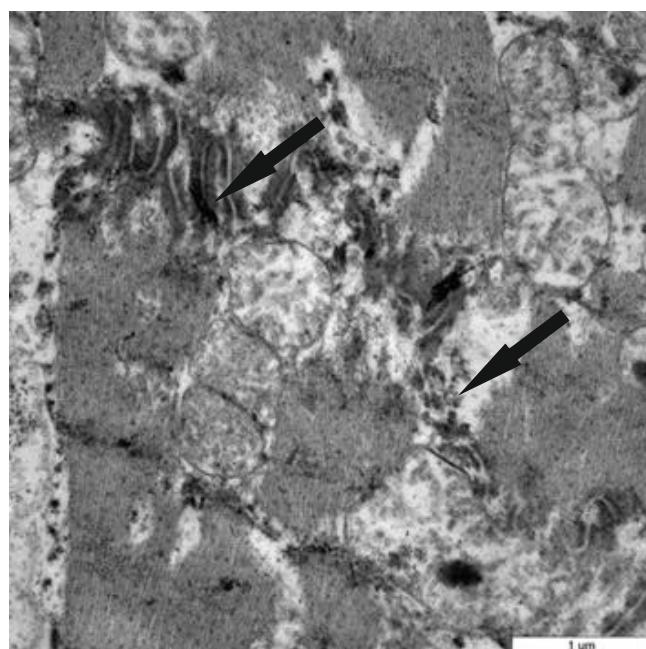


Рис. 3. Нарушение структуры вставочного диска (стрелки) при ожоговом шоке

При ожоговом шоке в кардиомиоцитах левого желудочка обращал на себя внимание полиморфизм митохондрий, проявляющийся в значительной разнице их размеров в пределах одной клетки. В митохондриях отчетливо была видна очаговая деструкция крист этих органелл (рис. 4). При этом объемная плотность митохондрий достоверно не изменялась.

Описанные изменения кардиомиоцитов левого желудочка сердца связаны со снижением энергообразующей, сократительной и белок-синтетической функцией при их

альтерации в результате развития ожогового шока. Это является закономерным и обусловлено повышенными метаболическими затратами миокарда левого желудочка сердца в связи с выраженными расстройствами гемодинамики, вызванными ожоговым шоком.

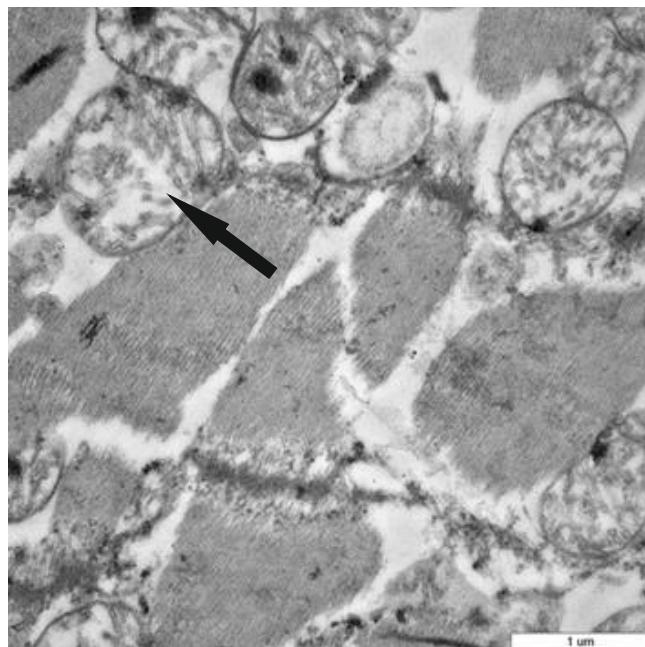


Рис. 4. Очаговая деструкция крист митохондрий в кардиомиоците при ожоговом шоке (стрелка)

При ожоговом шоке проведение ультраструктурного анализа кардиомиоцитов позволило выявить увеличение на 27% объемной плотности лизосом (рис. 5). Лизосомы при этом имели достаточно крупные размеры и часто содержали липофусцин (табл.).

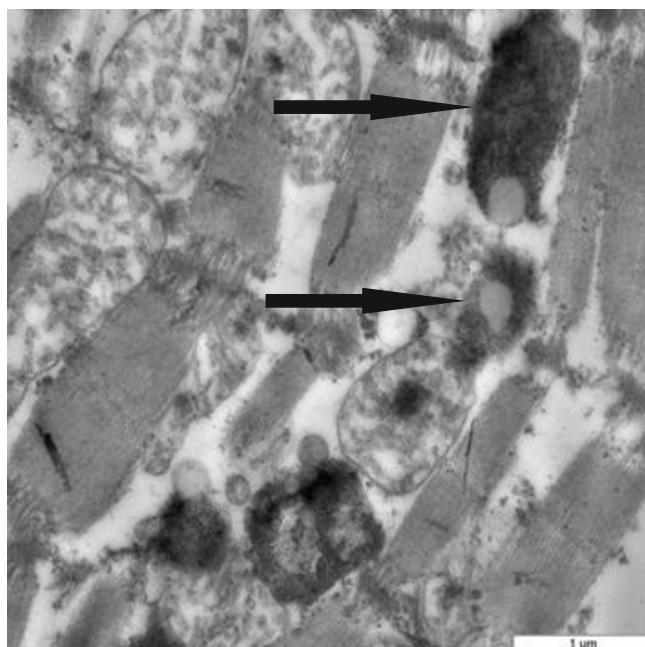


Рис. 5. Крупные лизосомы с липофусцином в межфибрillярном пространстве кардиомиоцита при ожоговом шоке (стрелки)

С учетом выявленных ультраструктурных изменений кардиомиоцитов при ожоговом шоке можно рассуждать об активации аутофагии как важного процесса деградации посредством участия лизосом. Процесс аутофагии в миокарде при ожоговом шоке, вероятно, следует рассматривать как важный клеточный процесс, направленный на поддержание клеточного и энергетического гомеостаза в связи с деструктивными изменениями миофибрillярного аппарата кардиомиоцитов. Об этом свидетельствуют полученные при ультраструктурном анализе данные об увеличении содержания в клетках лизосом и одновременно наблюдаемом снижении объемной плотности миофибрill, что может свидетельствовать о деградации поврежденных миофибрill в лизосомах.

Наряду с описанными изменениями хочется подчеркнуть важность аутофагии с участием лизосом как компенсаторного процесса, направленного на поддержание структурно-функционального состояния кардиомиоцитов, в связи с процессом повреждения клеточных органелл при ожоговом шоке. Об этом свидетельствуют образование и накопление липофусцина, что связано с процессом повреждения мембран органелл, при этом повышение его содержания часто наблюдается в митотически неактивных клетках, такими являются кардиомиоциты [10, 11].

При трансмиссионной электронной микроскопии срезов миокарда в случаях тяжелой термической травмы, осложнившейся ожоговым шоком, обращало на себя внимание наличие в просвете большого количества капилляров – клеток крови, занимающих весь просвет сосудов. Это было связано с острыми расстройствами кровообращения, обусловленными выраженным сгущением крови в результате плазмопотери в области распространенных глубоких ожоговых ран. Следует отметить, что это были не только деформированные эритроциты, но и клетки лейкоцитарного ряда, например нейтрофильные лейкоциты или плазмоциты (рис. 6).

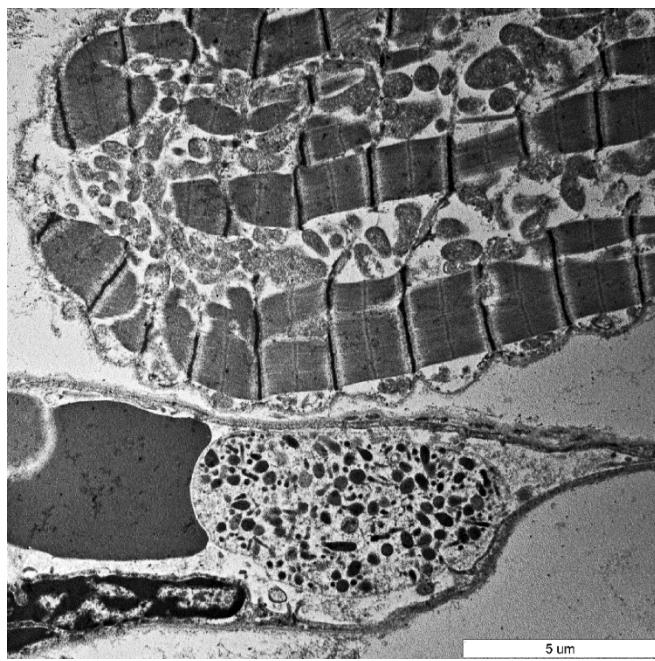


Рис. 6. Нейтрофил и эритроцит в просвете кровеносного капилляра миокарда при ожоговом шоке

Ультраструктура миокарда контроля характеризовалась плотным расположением миофибрилл, вокруг которых были видны митохондрии с большим содержанием крист. Между тяжами митохондрий и миофибрилл располагались цистерны эндоплазматической сети, полисомальные рибосомы и гликоген.

Заключение. При развитии ожогового шока были выявлены изменения ультраструктуры кардиомиоцитов в виде отека клеток, увеличения межфибриллярных пространств, снижения объемной плотности миофибрилл и их внутренней дезорганизации, а также полиморфизм митохондрий с очаговыми повреждениями крист и повышение объемной плотности лизосом. Кроме того, отмечены снижение объемной плотности миофибрилл в сочетании с увеличением объемной плотности лизосом, а также накопление липидных включений и развитие аутофагии, что связано с процессом повреждения клеточных органелл кардиомиоцитов при ожоговом шоке. Внутриклеточная деградация кардиомиоцитов миокарда левого желудочка развивается в результате гипоксических, микроциркуляторных и токсических воздействий при ожоговом шоке.

Список литературы

1. Аминов У.Х., Хакимов Э.А., Карабаев Ж.Ш., Некбаев Х.С., Шаханов Ш.С. Летальность при ожоговой болезни: 4 съезд комбустиологов России. М., 2013. С. 12-14.

2. Crowe C.S, Massenburg B.B, Morrison S.D, Naghavi M., Pham T.N, Gibran N.S. Trends of Burn Injury in the United States: 1990 to 2016. *AnnSurg.* 2019. vol. 270. no. 6. P. 944-953.
3. Rae L., Fidler P., Gibran N. The Physiologic Basis of Burn Shock and the Need for Aggressive Fluid Resuscitation. *Crit. Care Clin.* 2016.vol. 32. no. 4. P. 491-505.
4. Chaudhary I. Burns: frequency and mortality related to various age groups. *J. Surg. Pakistan (International).* 2009. vol. 14. no. 2. P. 67-71.
5. Атясов Н.И., Семкин В Я. Оперативное лечение последствий глубоких ожогов кожного покрова // Травматология и ортопедия России. 1994. № 4. С. 60-63.
6. Mashreky S.R., Shawon R.A., Biswas A., Ferdoush J., Unjum A., Rahman A.K. Changes in burn mortality in Bangladesh: Findings from Bangladesh Health and Injury Survey (BHIS) 2003 and 2016. *Burns.* 2018. vol. 44. no. 6. P. 1579-1584.
7. Haik J., Liran A., Tessone A., Givon A., Orenstein A., Peleg K. Israeli Trauma Group. Burns in Israel: demographic, etiologic and clinical trends, 1997-2003. *Isr. Med. Assoc. J.* 2007. vol. 9. no. 9. P.659-662.
8. Черняк М.Д., Островский Н.В. Психовегетативные особенности у больных с термической травмой // Актуальные проблемы травматологии и ортопедии: материалы научной конференции. Часть II «Термическая травма». Н. Новгород. 2001. С. 231-232.
9. Drozdz Ł., Madry R., Struzyna J. Wstrzas oparzeniowy, diagnostyka, monitorowanie i leczenie płynowe ciezkich oparzeń--nowe spojrzenie [Burn shock, diagnostics, monitoring and fluid therapy of severe burns--new look]. *Wiad Lek.* 2011. vol. 64. no. 4. P. 288-293.
10. Höhn A., Grune T. Lipofuscin: formation, effects and role of macroautophagy. *Redox Biol.* 2013. vol. 1. no. 1. P.140-144.
11. Kuballa P., Nolte W.M., Castoreno A.B., Xavier R.J. Autophagy and the immune system. *Annu. Rev. Immunol.* 2012. vol. 30. P. 611-646.