

Е.В. Кихтенко

Влияние хронической внутриутробной гипоксии на процессы запрограммированной клеточной гибели и полиплоидизации пинеалоцитов в эпифизах плодов и новорожденных

Харьковский национальный медицинский университет

Ключевые слова: хроническая внутриутробная гипоксия, эпифиз, плод, новорожденный.

Гормоны эпифиза мозга принимают активное участие в стресс-протекторных реакциях плодового организма при хронической внутриутробной гипоксии, что морфологически выражается в интенсификации процессов полиплоидизации пинеалоцитов и усилении процессов клеточной гибели.

Вплив хронічної внутрішньоутробної гіпоксії плода на процеси запрограммованої клітинної загибелі й поліплоїдизації пинеалоцитів в епіфізах плодів та новонароджених.

О.В. Кихтенко

Гормони епіфіза мозку беруть активну участь у стрес-протекторних реакціях плодового організму при хронічній внутрішньоутробній гіпоксії, що морфологічно виражається в інтенсифікації процесів поліплоїдизації пинеалоцитів і посиленні процесів клітинної загибелі.

Ключові слова: хронічна внутрішньоутробна гіпоксія, епіфіз, плід, новонароджений.*Патологія.* – 2009. – Т.6., №1. – С. 36-38

Influence of fetal chronic intrauterine hypoxia on processes of the programmed cellular death and pinealocytes polyploidy in epiphyses of fetuses and newborns.

E.V.Kihtenko

The cerebral epiphysis hormones takes active participation in stress-protective action of fetal organism at chronic intrauterine hypoxia, that has morphofunctional expresses in intensification of pinealocytes polyploidy processes and increasing of processes of the programmed cellular death.

Key words: chronic intrauterine hypoxia, epiphysis, fetus, newborn.*Patologia.* 2009; 6(1): 36-38

В современной перинатальной патологии хроническая внутриутробная гипоксия плода занимает ведущее положение. Частота данного осложнения по данным различных авторов сопровождается от 40 до 80 % беременностей [4, 5]. Не удивительно, что масса исследований направлены на поиски различных фармакологических веществ, обладающих протекторными свойствами при гипоксии. Особенно актуально звучит проблема защиты формирующегося мозга в условиях хронической внутриутробной гипоксии. Среди огромного спектра существующих ноотропных препаратов в последнее время все больше внимания уделяется гормону шишковидной железы (эпифиза) – мелатонину. Доказано его протекторное действие при ишемии мозга в экспериментах на животных, с большим успехом данный гормон применяется в неврологической клинике в комплексной терапии ишемических инсультов [2]. Однако вопрос об участии гормонов и биологически активных пептидов эпифиза в стресс-лимитирующих и стресс-организующих реакциях плодового организма при внутриутробной гипоксии остается открытым.

Целью данного исследования явилось изучение процессов запрограммированной клеточной гибели и процессов полиплоидизации в пинеалоцитах эпифизов плодов и новорожденных, выношенных в условиях хронической внутриутробной гипоксии.

Материал и методы исследования. Для достижения поставленной цели была изучена исследуемая группа, представленная 45-ю случаями аутопсии плодов и новорожденных сроком гестации 16-40 недель, выношенных

в условиях хронической внутриутробной гипоксии и погибших анте-, интра- или постнатально (на протяжении первых 5-10 минут жизни) от острой асфиксии. Все исследуемые плоды и новорожденные в зависимости от гестационного срока были разделены следующим образом: плоды сроком гестации 20 недель и менее (7 наблюдений), 21-25 недель (8 наблюдений), 26-30 недель (10 наблюдений), 31-35 недель (8 наблюдений), 36 недель и более (12 наблюдений). Группу сравнения составили плоды и новорожденные (54 случая), выношенные в условиях физиологически протекавшей беременности, и также погибших от асфиксии. Острая асфиксия во всех случаях была обусловлена нарушением маточно-плацентарного или пуповинного кровообращения (преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, тромбоз пуповинных сосудов, тугое обвитие пуповины и т.д.).

Для морфологического исследования во время аутопсии брались эпифизы и фиксировались в растворе нейтрального формалина, после чего они подвергались стандартной парафиновой проводке. Из приготовленных таким образом блоков изготавливались серийные срезы толщиной 4-5 x10-6м, которые окрашивались методом Фельгена-Россенбека. Изучение микропрепаратов проводилось на микроскопе Olympus BX-41 с последующей видеомикроскопической цитофотометрией и кариометрией с помощью программы Olympus DP-Soft [1, 8].

Перед проведением плоидометрии прежде всего на исследуемых гистологических препаратах был получен «истинный стандарт плоидности» [8]. Для этого значения оптической плотности ДНК в ядрах малых лимфоцитов

в зеленой части спектра умножались на значения площади их ядер. Средняя величина полученных произведений принята за диплоидный набор хромосом (2С). В дальнейшем в каждом исследуемом плодовом эпифизе мозга определялась ploидность 30 клеток (произведение значения оптической плотности ДНК в ядре и значения площади ядра делили на показатель, свойственный «истинному стандарту ploидности»).

Весь полученный цифровой массив данных подвергался статистической обработке с использованием программы и Microsoft-Excel и формул альтернативного анализа [6, 7].

Результаты и их обсуждение. Результаты проведенной ploидометрии представлены в таблице.

Таблица

Результаты ploидометрии пинеалоцитов эпифизов плодов и новорожденных различного срока гестации

Срок гестации (в неделях)	Группа сравнения			Исследуемая группа		
	<2С	2С	>2С	<2с	2с	>2с
16-20	7,1±2,6	89,6±3,1	3,3±1,8	7,4±2,6	89,3±3,1	3,3±1,8
21-25	8,2±2,7	88,7±3,2	3,1±1,7	12,9±3,4	83,8±3,7	3,3±1,8
26-30	10,6±3,1	86,2±3,4	3,2±1,8	19,0±3,9	76,6±4,2	4,4±2,1
31-35	11,4±3,2	85,1±3,6	3,5±1,8	27,7±4,8*	65,5±4,8*	6,8±2,5
36-40	14,4±3,5	81,9±3,9	3,7±1,9	30,3±4,6*	62,1±4,9*	7,6±2,5

Где * - вероятность разницы двух средних достоверна (P>95%) между исследуемой группой и группой сравнения

Как видно число полиплоидных клеток в группе сравнения по мере увеличения срока гестации практически не изменяется. В то время как в исследуемой группе их число увеличивается прямо пропорционально степени зрелости плода. У зрелых плодов и новорожденных (сроком гестации 36 недель и более), выношенных в условиях хронической внутриутробной гипоксии, число полиплоидных пинеалоцитов в 2 раза превышает аналогичный показатель группы сравнения (рис. 1).

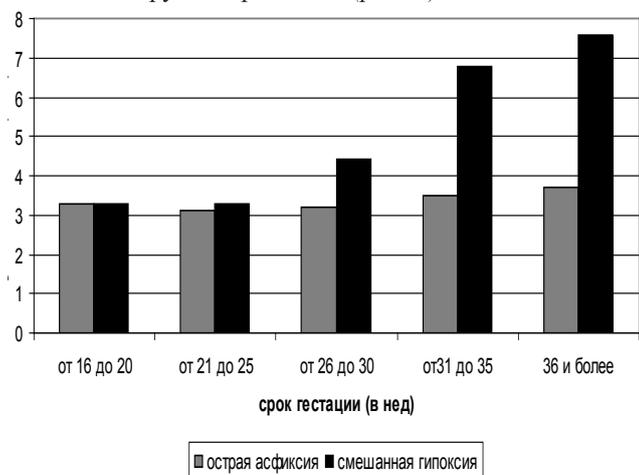


Рисунок 1. Удельный вес пинеалоцитов с полиплоидными ядрами в эпифизах мозга плодов и новорожденных различного гестационного возраста

Увеличение полиплоидных пинеалоцитов имеет свой биологический смысл, так как считается, что полиплоидные клетки играют полезную роль при стрессовых ситуациях, потому что они более устойчивы и для них характерна повышенная биосинтетическая активность [10]. Таким образом, полиплоидизацию можно рассматривать как проявление адаптации пинеалоцитов эпифиза к условиям хронической внутриутробной гипоксии.

При анализе содержания клеток, имеющих набор хромосом менее 2С, в группе сравнения обращает на себя внимание постепенное их увеличение по мере созревания плода (табл.). В исследуемой группе удельный вес таких клеток нарастает значительно и у зрелых плодов и новорожденных (36 недель и более) этот показатель более чем в два раза превышает аналогичный показатель группы сравнения (рис. 2).

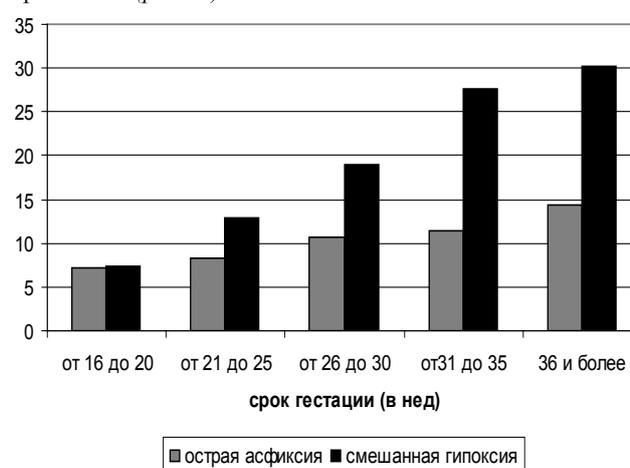


Рисунок 2. Удельный вес пинеалоцитов, имеющих менее, чем диплоидный набор хромосом, в эпифизах мозга плодов и новорожденных различного гестационного возраста

Считается, что это клетки, которые гибнут путем некроза или апоптоза [1]. Данное мнение подтверждается результатами микроскопического исследования. В пинеалоцитах исследуемой группы часто обнаруживаются морфологические признаки апоптотической гибели: феномен маргиналии хроматина (конденсация хроматина под нуклеолеммой), изменение ядра в виде тутовой ягоды [3, 9]. Интенсификация процессов массовой клеточной гибели в эпифизах мозга плодов и новорожденных свидетельствует об истощенности функций части пинеалоцитов, которая возникает в результате повреждающего воздействия хронической внутриутробной гипоксии.

Увеличение клеток с полиплоидными ядрами и нарастание удельного веса пинеалоцитов, имеющих менее чем диплоидный набор хромосом приводят к уменьшению количества клеток с нормальным содержанием хроматина в ядрах (табл.). При этом в исследуемой группе число клеток с диплоидным набором хромосом у плодов и новорожденных сроком гестации 36 недель и более (то есть к моменту рождения) в 1,3 раза меньше, чем в группе сравнения.

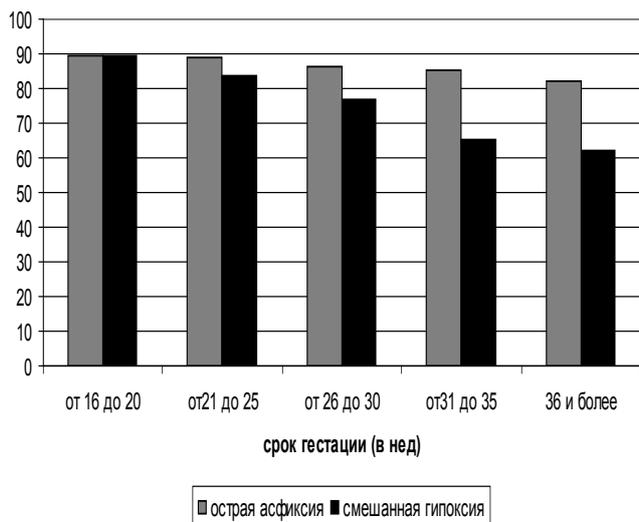


Рисунок 3. Удельный вес пинеалоцитов, имеющих нормальное содержание хроматина в ядрах, в эпифизах мозга плодов и новорожденных различного гестационного возраста

Выводы. Гормоны эпифиза принимают активное участие в защитно-приспособительных реакциях организма плода при воздействии хронической внутриутробной гипоксии, что морфологически проявляется интенсификацией процессов полиплоидизации и массовой клеточной гибели. Явление полиплоидизации носит адаптативный характер; усиление клеточной гибели, вероятно, является следствием истощенности функций части пинеалоцитов.

Сведения об авторе:

Кихтенко Елена Валерьевна – к. мед. н., доцент, докторант кафедры патологической анатомии Харьковского национального медицинского университета.

Адрес для переписки:

61022, Харьков, пр. Ленина, 4. Харьковский государственный медицинский университет. Приемная комиссия. Кихтенко Е.В.: 8 (057) 707-73-28, 707-73-33, м. 80673045870, E-mail: kihtenko@ukr.net

Литература:

1. Автандилов Г.Г., Саниев К.Б. Плоидометрия в повышении качества патогистологической диагностики // Архив патологии. – 2002. – Т.64., №3. С.31-33.
2. Арушанян Э.Б. Гормон эпифиза мелатонин – новое ноотропное средство? // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005, № 3. – С. 74-79.
3. Бойчук С.В., Мустафин И.Г., Фассахов Р.С. Апоптоз: характеристика, методы изучения и его роль в патогенезе atopических заболеваний // Казанский медицинский журнал. – 2000. – №3. – С.217-222.
4. Отелли В.А., Хожай Л.И., Гилерович О.Г., Коржевский Д.Е. и соавт. Повреждающие воздействия в критические периоды пренатального онтогенеза как фактор, модифицирующий структурное развитие головного мозга и поведенческие реакции после рождения // Вестн. РАМН. – 2002, №12, - С. 32-35.
5. Патологическая анатомия болезней плода и ребенка. Руководство для врачей. В 2 т. Т. 1. / Под ред. Т.Е. Ивановской, Л.В. Леоновой. – М.: Медицина, 1989. – 384 с.
6. Райскина М.Е., Акялене Д.М. Статистическая обработка медицинских данных. – Вильнюс: Моклас, 1989. – 101 с.
7. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 2000. – 256 с.
8. Ташкэ К. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию. – Бухарест, 1980. 191с. Ташкэ К. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию. – Бухарест, 1980. 191с.
9. Туманский В.А. Селективная гибель специализированных клеток // Патология. – 2005, №1. – С. 10-18.
10. Hanselman R.G., Oberringer M. Polyploidization: A janus-faced mechanism // Med. hypotheses. – 2001. –Vol.56, №1. – P. 58-64.