

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ КЛІТИН КРОВІ У ДІТЕЙ З РОЗПОВСЮДЖЕНИМ ГНІЙНИМ ПЕРИТОНИТОМ

У. М. Галюк, О. Л. Личковська, О. М. Мота, П. Б. Покотило

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів, Україна)

Вступ. Розповсюджений гнійний перитоніт (РГП), спричинений деструктивними формами апендициту, – одна з вагомих проблем екстреної дитячої хірургії та інтенсивної терапії [1]. Неприятливий перебіг даної патології може спричинити розвиток абдомінального сепсису, смертність від якого залишається високою, не дивлячись на вагомий прогрес в антибіотикотерапії невідкладних станів, впровадженні нових методик хірургічного ведення даної групи пацієнтів. Прогноз при РГП значною мірою залежить від якості та вчасності проведеної інтенсивної терапії, спрямованої на запобігання розвитку системної запальної реакції організму (SIRS – systemic inflammatory response syndrome), що, своєю чергою, приводить до синдрому поліорганної недостатності (MODS – multiple organ dysfunction syndrome) та несе загрозу для життя дитини [2, 3, 4].

В умовах інтоксикації, гіпоксії, важких порушень водно-електролітного балансу, кислотно-лужної рівноваги і, відповідно, всіх видів обміну, перенапруження та зриву адаптаційних реакцій організму, неминучим є негативний вплив на стан клітин крові з порушенням внутрішньоклітинного метаболізму, змінами ультраструктури. З одного боку, ці зміни будови і функції є наслідком критичного стану, з іншого – причиною порушення газообміну, змін реактивності та декомпенсації функції органів і систем.

Метою даної роботи було дослідження ультраструктури клітин крові у дітей з ознаками септичного шоку на фоні РГП апендикулярного походження.

Основна частина. Дослідження ультраструктури клітин крові проведено у 15 дітей у віці 6–12 років, які знаходилися на лікуванні в реанімаційному відділі Львівської обласної дитячої клінічної лікарні з приводу розповсюдженого апендикулярного гнійного перитоніту з ознаками септичного шоку І–ІІ. Забір крові проводили на стандартний розчин «Глюцигер» з додаванням глютаральдегіду та параформальдегіду. Після центрифугування осад фіксували 2% розчином OsO_4 на монофосфатному буфері. Після повторного центрифугування та відмивання осаду останній зневоднювали в етиловому спирті та ацетоні наростаючих концентрацій. В подальшому заливали осад в епон-аралдит. Зрізи контрастували в 2% розчині уронілацетату, згодом у розчині цитрату свинцю. Вивчення та фотографування матеріалу проводили за допомогою мікроскопу УЕМВ-100К при прискорючій напрузі 75 кВ і збільшенні на екрані мікроскопа 2000×–124000×.

В умовах септичного стану електронно-мікроскопічний аналіз кров'яного осаду показав, що він складається в основному з еритроцитів, гранулоцитів та значно меншої кількості лімфоцитів. Еритроцитарна маса представлена в основному клітинами неправильної форми, в основному стоматоцитами

і ехіноцитами. Зустрічаються також поодинокі еритроцити, які мають звичайну форму двовигнутого диску. Утворення стоматоцитів пов'язують зі зниженням здатності еритроцитів до деформації, тобто при обмеженні їх адаптивних можливостей, спричиненому, наприклад, поліцитемією [7]. Ехіноцити (шишкоподібні клітини) представлені клітинами, що мають численні видовжені вирости. Гіалоплазма виявлених нами ехіноцитів мала низьку електронну щільність. Плазмолема, що їх оточує, на значних ділянках розпушена, місцями відсутня, в результаті чого периферичні шари цитоплазми дезорганізовані. Їх окремі елементи відшаровані від основної маси. Усі еритроцити неправильної форми мали ділянки, де плазмолема не лише дезорганізована, але й зовсім відсутня. Відомо, що ехіноцит при потраплянні в нормальне середовище може швидко повернутися в дискоцитну форму. Однак, описані вище ехіноцити відповідають незворотнім змінам. Подібні форми еритроцитів мають обмежену здатність до деформації, що впливає на характер міжклітинних контактів та може проявитися внутрішньосудинною агрегацією, сладжем, порушенням газообміну та гіпоксією. Еритроцити можуть бути гетероморфними за своєю електронною щільністю. Найбільшу електронну щільність мали еритроцити невеликих розмірів з поодинокими пальцеподібними виростами. Еритроцити з низькою електронною щільністю мали всі ознаки дезорганізації цитоплазми з утворенням численних грудочок електроннощільного матеріалу. Це може свідчити про деструктивні (некротичні, а не апоптичні) зміни в еритроцитах, спричинені токсинемією, вираженими порушеннями як позаклітинного, так і внутрішньоклітинного гомеостазу [5, 6, 8].

Значні зміни відбуваються також з клітинами гранулоцитарного ряду. Поряд зі значною дегрануляцією, спостерігається дезорганізація внутрішньоклітинних мембран, іноді навіть розпад цитоплазми. Особливо значних змін зазнають нейтрофіли. Ядерна оболонка нейтрофілів в багатьох місцях дезорганізована або відсутня. У місцях відсутності ядерної оболонки хроматин пластівцями простягається в цитоплазму. Цитоплазма представлена масами електронно-світлої гіалоплазми, що розпадається, де виявляються краплі жиру. Цитоплазматичні гранули мають малі розміри, містять невелику кількість електронно-щільної речовини. У ряді нейтрофілів виявляються гарнули без вмісту. Біля ділянок гіалоплазми з ознаками розпаду виявлено мікроевезикули. Клітини з описаною вище ультраструктурою відповідають II ступеню активності нейтрофілів, або гіперактивності [9]. Такий стан нейтрофілів, на думку авторів, приводить до вичерпання мембраносинтетичних ресурсів, руйнування мембран, неефективної витрати бактеріцидних факторів на субстрати, що не підлягають

знищенню. Еозинофіли зазнають аналогічних змін, але не таких виражених у порівнянні з нейтрофілами. У лімфоцитів відзначається нерівномірний розподіл хроматину, що представлений в основному гетерохроматином. Ядерна оболонка у багатьох місцях відсутня. У цитоплазмі виявляється гіпертрофований апарат Гольджі, велика кількість юних мітохондрій, лізосом, рибосом, везикул. Плазмолема, так само, як і всі інші внутрішньоклітинні мембрани, має ознаки дезорганізації. Такі зміни ультраструктури відповідають лімфоцитам, що приймають активну участь в імунній відповіді. Деструктивні зміни внутрішньоклітинних мембран, які виявлено в лімфоцитах дітей з РГП, описані рядом авторів і при іншій патології і можуть розглядатися як наслідок глибоких змін клітинного метаболізму, порушення репаративних процесів, і особливо енергозабезпечуючої та білоксинтезуючої систем клітини.

Висновки

В умовах абдомінального сепсису з ознаками шоку І–ІІ ступеня клітини крові зазнають значних ульт-

траструктурних змін, які є причиною порушення газообміну, змін реактивності та декомпенсації функції органів і систем.

Еритроцити неправильної форми, в основному – це стоматоцити і ехіноцити, в яких наявні ділянки, де плазмолема не лише дезорганізована, але й зовсім відсутня.

Ультраструктурні зміни гранулоцитів свідчать про їх гіперактивацію, що приводить до вичерпання мембраносинтетичних ресурсів, руйнування мембран, неефективної витрати бактерицидних факторів.

У лімфоцитах дезорганізовані ядерні оболонки та внутрішньоклітинні мембрани, нерівномірний розподіл хроматину, гіпертрофований апарат Гольджі, велика кількість юних мітохондрій, лізосом, рибосом, везикул, що є проявом напруження та декомпенсації енергозабезпечуючої та білоксинтезуючої систем.

Література

1. Mureşan MG, Balmoş IA, Badea I, Santini A. Abdominal Sepsis: An Update. *J Crit Care Med* (Targu Mures). 2018;4(4):120-125. DOI: <https://doi.org/10.2478/jccm-2018-0023>.
2. Russo A, Falcone M, Gutiérrez-Gutiérrez B, Calbo E, Almirante B, Viale PL, et al. Predictors of outcome in patients with severe sepsis or septic shock due to extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Int J Antimicrob Agents*. 2018;55(5):577-585. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.06.018>.
3. Sartelli M, Abu-Zidan FM, Catena F, Griffiths EA, Di Saverio S, Coimbra R, et al. Global validation of the WSES Sepsis Severity Score for patients with complicated intra-abdominal infections: a prospective multicentre study (WISS Study). *World J Emerg Surg*. 2015;10(1):61. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13017-015-0055-0>.
4. Hadley GP. Intra-abdominal sepsis - Epidemiology, aetiology and management. *Seminars in Pediatric Surgery*. 2014;23(6):357-362. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2014.06.008>.
5. Moroz VV, Golubev AM, Afanasyev A.V, Kuzovlev AN, Sergunova VA, Gudkova OE, et al. The Structure and Function of a Red Blood Cell in Health and Critical Conditions. *General Reanimatology*. 2012;8(1):52-60. DOI: <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-52>.
6. Yatsenko OV, Yatsenko VP. Porivnyal'nyy analiz osoblyvostey deformabil'nosti erytrotytiv v systemi «maty-plid» pry hravitatsynomu navantazheni. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*. 2014;2(3):215-219. [in Ukrainian].
7. Kidalov VN, Syasin NI, Khadartsev AA. On the question concerning the physiological significance of changes of the form, ultrastructure and fluorescence of erythrocytes of peripheral blood during their transformation into echynocytes. *Journal of New Medical Technologies*. 2005;12(2):6-10. DOI: <https://doi.org/10.24411/issn.1609-2163>.
8. Lang KS, Lang PA, Bauer C, Duranton C, Wieder T, Huber SM, et al. Mechanisms of Suicidal Erythrocyte Death. *Cell Physiol Biochem*. 2005;15(5):195-202. DOI: <https://doi.org/10.1159/000086406>.
9. Galankin VN, Saprykin VP. Ultrastructural characterization of neutrophilic leukocytes in the blood of patients with sepsis. *Patol Fiziol Eksp Ter*. 1996;3:13-18.