

## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 616.26-053.31.-091

### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРУДОБРЮШНОЙ ПЕРЕГОРОДКИ ПРИ ВРОЖДЕННОЙ ДИАФРАГМАЛЬНОЙ ГРЫЖЕ

### MORPHOLOGICAL FEATURES OF DIAPHRAGM AT CONGENITAL DIAPHRAGMATIC HERNIA

Е. В. Аврелькина, Л. П. Перетьяко

E. V. Avrelkina, L. P. Peretyatko

*ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства  
им. В. Н. Городкова» Минздравсоцразвития России, г. Иваново*

**Аннотация.** Проведено гистологическое и морфометрическое исследование диафрагмы у плодов и новорожденных с врожденной диафрагмальной грыжей. Установлено влияние местных патогенных факторов, в частности, прессорного действия смещенных органов на формирование порока развития. Выявлены структурные изменения на пораженной стороне от агенезии до выраженной гипотрофии мышечного компонента в грудобрюшной перегородке с отсутствием или атрофией мышечных волокон, ядерным полиморфизмом, с достоверным уменьшением всех морфометрических параметров, находящихся в прямой сильной корреляционной связи.

**Abstract.** We have carried out histologic and morphological research of diaphragm at fetuses and newborns with congenital diaphragmatic hernia. The influence of local pathogenic factors, in particular, pressing effect of the displaced organs on malformation has been established. We have also revealed the structural changes on the affected side from agenesis to evident hypotrophia of muscular component in diaphragm with absence or atrophy of muscular fibres, nuclear polymorphism, with authentic reduction of all the morphometric parameters which are in direct correlation.

**Ключевые слова:** *врожденная диафрагмальная грыжа, грудобрюшная перегородка, морфометрия, гематоксилин-эозин.*

**Keywords:** *congenital diaphragmatic hernia, diaphragm, morphometry, hematoxylin-eosin.*

**Актуальность исследуемой проблемы.** Врожденная диафрагмальная грыжа (ВДГ) встречается с частотой один случай на 2–5 тысяч родов. Родители детей с таким диагнозом сталкиваются с бесчисленными социальными и медицинскими проблемами, включая существенный риск смерти, достигающий 70–90 % случаев [5]. Встречающиеся в публикаци-

ях сообщения о достаточно вариабельном проценте выживших детей с указанным пороком должны интерпретироваться с осторожностью, поскольку противоречивые данные, вероятнее всего, объясняются тем, что не учитываются случаи досрочного прерывания беременности при ВДГ. Благоприятные исходы при ВДГ ведут к росту детской инвалидности и развитию в дальнейшем хронической патологии со стороны органов дыхания [3], когнитивным и нейромоторным нарушениям [2], желудочно-пищеводным рефлюксам [7], рецидивам грыжи и снижению слуха [6] и сопровождаются низкой прибавкой веса [3]. Врожденная диафрагмальная грыжа требует дорогостоящего лечения [3]. Любое применение современных методов реабилитации, как и увеличение срока пребывания в больнице ребенка, имеет определенное экономическое выражение. В случаях без применения экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЕСМО) лечение достигает 98 000 \$ на выжившего ребенка. Использование экстракорпоральной мембранной оксигенации сопровождается существенным увеличением стоимости терапии и порой превышает 365 000 \$ [4].

Относительная редкость заболевания затрудняет создание обоснованной тактики лечения, поскольку ни один медицинский центр не имеет достаточного количества пациентов, позволяющего сделать определенные выводы. Лечение детей с ВДГ в основном совершенствуется благодаря полученным данным в эксперименте и на базе ретроспективных обзоров из клиник с небольшим числом пациентов, владеющих различными алгоритмами терапии. Многочисленные факторы усложняют интерпретацию любых исследований. С одной стороны, учреждения отличаются своей направленностью, поэтому описание пациентов, группировка случаев и диапазон тяжести в этой когорте больных практически несопоставимы. С другой стороны, ряд центров не выполняют хирургическую коррекцию дефекта у «неперспективных» больных, тогда как другие владеют и осуществляют оперативное лечение, и поэтому разные подходы влияют на сравнительные показатели. Громоздкие системы стратификации риска в одних медицинских центрах не применимы для других клиник. Несмотря на многолетний клинический опыт, анализируемые ошибки и активный поиск альтернативных путей лечения с использованием усовершенствованной дыхательной аппаратуры и лапароскопических операций, результаты лечения неоднозначны, а многие вопросы медицинского и юридического плана остаются до сих пор нерешенными. Медленное решение проблемы связано с недостаточными знаниями патогенеза ВДГ и медленным проникновением результатов фундаментальных исследований в терапию. Качественная морфологическая оценка структурных изменений позволит получить новые практические знания, позволяющие критически оценить известные клинические сведения.

В учебной литературе существует подробное описание неизменной диафрагмы человека, которая представляет собой куполообразное мышечно-апоневротическое образование, разделяющее грудную и брюшную полости. Структура диафрагмы представлена системой поперечно-полосатых мышц и соединительной ткани, которые, начинаясь от грудины, ребер и поясничных позвонков, заканчиваются в центре, образуя сухожильный центр. Литературные сведения относительно изменений диафрагмы при ВДГ достаточны только в плане многочисленных описаний на макроскопическом уровне. Согласно имеющимся классификациям, диафрагмальные грыжи [Б. В. Петровский, 1973; С. Я. Долецкий, 1960] в зависимости от механизма, срока формирования и патогенеза условно классифицируются на ложные и истинные, врожденные и приобретенные, травматические и нетравматические пороки. В зависимости от локализации дефекта выделяют грыжи заднего и переднего отделов, купола и пищеводного отверстия диафрагмы. Однако в доступных литературных источниках отсутствует какое-либо морфологическое описание компонентов диафрагмы у плодов и детей с ВДГ.

**Материал и методы исследований.** С целью изучения структурных особенностей грудобрюшной перегородки при врожденном пороке развития на тканевом и клеточном уровнях исследовали симметричные фрагменты диафрагмы у плодов и новорожденных с подтвержденным при патологоанатомическом исследовании диагнозом ВДГ (10 случаев) и в группе контроля (10 случаев). Материал фиксировали в 10 %-м нейтральном формалине, осуществляли проводку согласно классическим схемам, заливали парафином, с готовых блоков получали срезы толщиной 4–5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином Эрлиха с докраской эозином и заключали в канадский бальзам [1]. Гистостереометрию осуществляли на оцифрованных обзорных препаратах с использованием автоматизированной программы «Scope Photo 3.0» и «Image Tool 3.0». В диафрагме определяли: процентное содержание мышечной ткани, число мышечных волокон в единице площади, диаметр мышечного волокна, количество мышечных ядер на единицу площади и в одном волокне, расстояние между ядрами и площадь ядра мышечных волокон. Срезы исследовали при 400-кратном увеличении в 5 полях зрения с использованием светового микроскопа «Альтами № А1010». Цифровой материал был обработан статистически с использованием стандартного пакета программного обеспечения «Excel-2010». Вычисляли средние арифметические значения, ошибку средних арифметических. Достоверность различий между параметрами оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни и коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Гистологическое исследование позволило выявить нарушение развития мышечной ткани в диафрагме при ВДГ. В сохранившихся фрагментах диафрагмы на стороне дефекта при полном отсутствии мышечной ткани обнаружена только зрелая волокнистая соединительная ткань (2 случая) или незначительное количество атрофированных мышечных волокон (6 случаев). В двух образцах мышечных волокон несколько больше. Ядра мышечных клеток в зоне порока развития диафрагмы отличаются большим полиморфизмом по сравнению с подобными в неизмененных отделах изучаемого органа. Кроме того, во всех отделах диафрагмы основной группы достоверно снижены основные морфометрические параметры со стороны мышечных волокон и их ядер, подтверждающие частичную атрофию и гипотрофию мышечной ткани (табл. 1).

При сравнении морфометрических показателей из разных участков диафрагмы от детей с ВДГ выявлено, что на пораженной стороне достоверно уменьшен общий объем мышечной ткани ( $p < 0,01$ ), количество волокон ( $p < 0,01$ ), диаметр одного волокна ( $p < 0,01$ ) и общее количество ядер в единице площади ( $p < 0,01$ ). Вероятнее всего подобные изменения мышечной части диафрагмы связаны с атрофией от давления (рис. 1А), вызванной компрессионным действием органов брюшной полости, расположенных в грыжевом дефекте или проникающих в плевральную полость.

На стороне дефекта диафрагм основной группы с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена выявлена сильная положительная функциональная связь между объемом мышечной ткани, с одной стороны, и количеством волокон на единицу площади ( $r_s = 0,952$ ,  $p < 0,05$ ), общим количеством ядер на единицу площади ( $r_s = 0,939$ ,  $p < 0,05$ ), расстоянием между ядрами ( $r_s = 0,697$ ,  $p < 0,05$ ) – с другой. Однотипная зависимость выявлена между расстоянием от одного ядра к другому, площадью одного мышечного ядра ( $r_s = 0,758$ ,  $p < 0,05$ ) и общим количеством ядер на единицу площади ( $r_s = 0,77$ ,  $p < 0,05$ ). Сильная положительная функциональная связь имеет место и между следующими показателями: общим количеством ядер на единицу площади и количеством мышечных волокон ( $r_s = 0,842$ ,  $p < 0,05$ ), диаметром волокна и площадью ядра в мышечной клетке ( $r_s = 0,758$ ,  $p < 0,05$ ) (схема 1). Функциональная связь в других отделах диафрагмы при ВДГ недостоверна.

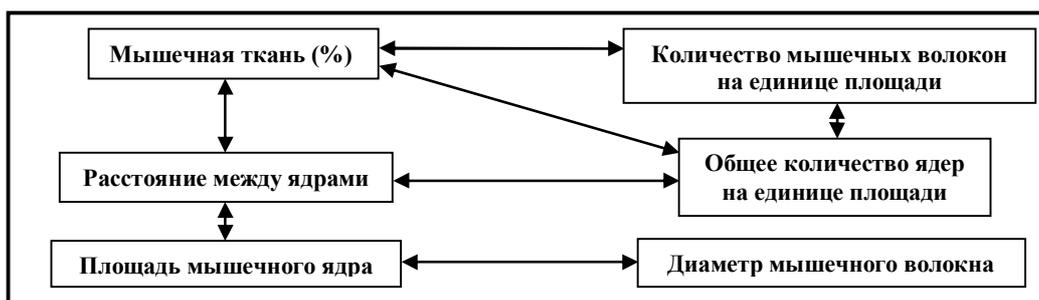


Схема 1. Ранговая корреляционная связь в одноименных фрагментах диафрагмы у плодов и новорожденных с врожденной диафрагмальной грыжей и без аномалии развития

Необходимо отметить, что в интактных отделах поврежденной диафрагмы наблюдаются проявления, связанные с компенсаторной гипертрофией мышечной ткани (рис. 1Б; табл. 1). Например, в контрлатеральном, переднем и паравертебральном отделах диафрагмы основной группы значительно больше диаметр одного мышечного волокна, площадь ядра (особенно в переднем и контрлатеральном отделах) по сравнению с одноименными показателями в сохранившихся участках диафрагмы на стороне грыжевого дефекта. При ВДГ в загрудинном и паравертебральном отделах диафрагмы расстояние между ядрами увеличивается. Параметр достоверно больше, чем одноименный показатель в контрольной группе (рис. 1В). Кроме того, в загрудинном отделе изучаемого органа у плодов с ВДГ большей вариабельностью отличается такой параметр, как расстояние между ядрами. Уменьшается и количество ядер в перерасчете на одно мышечное волокно. Последние морфометрические параметры достоверно отличаются от подобных контрольной группы (табл. 1).

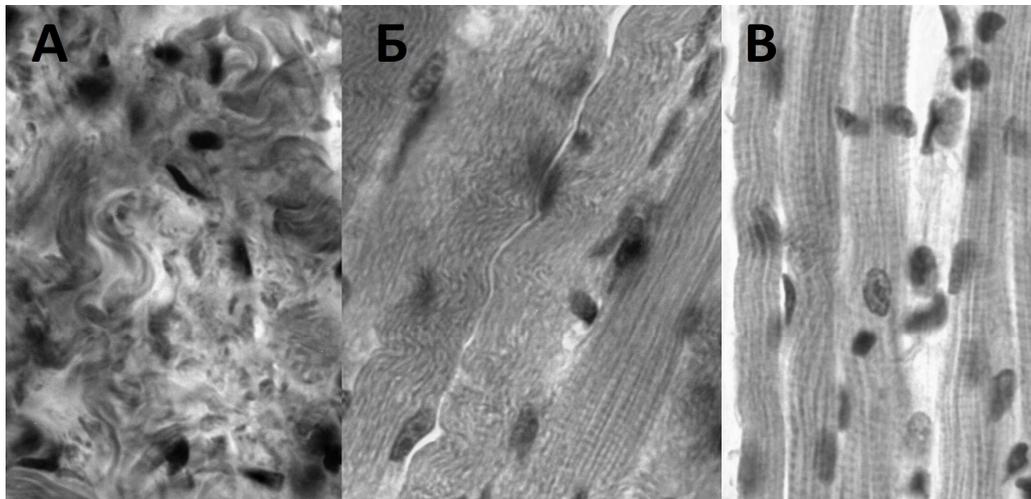


Рис. 1. Структура диафрагмы у плода с врожденной диафрагмальной грыжей на стороне дефекта (А), контрлатеральной стороне (Б), в неизменном органе (В). Окраска гематоксилином и эозином. СМ. Ув. 400

**Морфометрические параметры структурных элементов грудобрюшной перегородки у плодов с врожденной диафрагмальной грыжей и без аномалии развития**

Структурные элементы	Средние значения		U <sub>эмп</sub>
	Основная группа, n=10	Группа контроля, n=10	
1	2	3	4
<b>На стороне грыжевого дефекта</b>			
Мышечная ткань, %	29,6±0,03	79,04±0,01 **	4
Количество мышечных волокон, уд. ед.	4,94±0	21,82±0,03**	3
Общее количество ядер на единицу площади, уд. ед.	24,14±0	78,43±0,03**	1
Среднее квадратичное отклонение площади ядра, мкм	6,43±0,04	9,98±0,04*	26
<b>Контралатеральная сторона</b>			
Количество мышечных волокон, уд. ед.	13,63±0	21,82±0,03**	15,5
Диаметр волокна, мкм	13,73±0,03	8,65±0,04**	13
Общее количество ядер на единицу площади, уд. ед.	54,82±0,04	78,43±0,03**	14
Площадь ядра, мкм <sup>2</sup>	28,52±0,01	24,57±0,02**	26
<b>Грудной отдел</b>			
Мышечная ткань, %	73,01±0,01	79,62±0,04*	25
Количество мышечных волокон, уд. ед.	11,96±0,03	21,3±0**	5
Диаметр волокна, мкм	12,98±0,02	8,1±0,01**	3
Общее количество ядер на единицу площади, уд. ед.	39,18±0,04	82,7±0**	3
Расстояние между ядрами, мкм	24,5±0,03	17,8±0,03*	24
Среднее квадратичное отклонение расстояния между ядрами, мкм	18,01±0,03	9,72±0*	22
Площадь ядра, мкм <sup>2</sup>	35,8±0,02	28,58±0,05*	21
Количество ядер в одном мышечном волокне, уд. ед.	2,91±0,04	4,41±0,04*	22
<b>Поясничный отдел</b>			
Количество мышечных волокон, уд. ед.	12,59±0,05	22,5±0**	3,5
Диаметр волокна, мкм	18,17±0,04	8,21±0,02**	0
Общее количество ядер на единицу площади, уд. ед.	51,95±0,01	81,95±0**	9
Расстояние между ядрами, мкм	26,86±0	17,66±0,02**	25

Примечание. Статистическая достоверность различий (U-критерий Манна-Уитни): p<0,05 - \*; p<0,01 - \*\*

**Резюме.** Таким образом, грудобрюшная перегородка у детей и новорожденных с врожденными диафрагмальными грыжами в области грыжевого дефекта имеет следующие структурные особенности: агенезию мышечных волокон в 20 % случаев, полную или частичную гипоплазию в сочетании с атрофией у 80 % пациентов с полиморфизмом и деформацией ядер, достоверным уменьшением изучаемых морфометрических параметров, находящихся в прямой сильной корреляционной связи. Выдвинуто предположение о влиянии на формирование мышечного компонента диафрагмы компрессии, вызванной смещением органов брюшной полости.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Микроскопическая техника.* Руководство для врачей и лаборантов / под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Петрова. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.
2. *Hou, Y. J.* Trisomy 18 syndrome with incomplete Cantrell syndrome / Y. J. Hou, F. L. Chen, Y. Y. Ng, J. M. Hu, S. J. Chen, J. Y. Chen, P. H. Su // *Pediatr. Neonatol.* – 2008. – Vol. 49. – I. 3. – P. 84–87.
3. *Hunt, R. W.* Patterns of cerebral injury in a series of infants with congenital diaphragmatic hernia utilizing magnetic resonance imaging / R. W. Hunt, M. J. Kean, M. J. Stewart, T. E. Inder // *J. Pediatr. Surg.* – 2004. – Vol. 39. – I. 1. – P. 31–36.
4. *Klaassens, M.* The etiology of congenital diaphragmatic hernia: Still largely unknown? / M. Klaassens, A. de Klein and D. Tibboel // *European Journal of Medical Genetics.* – 2009. – Vol. 52. – I. 5. – P. 281–286.
5. *Lally, K. P.* CDH Study Group. Treatment evolution in high-risk congenital diaphragmatic hernia: ten years' experience with diaphragmatic agenesis / K. P. Lally, P. A. Lally, K. P. Van Meurs et al. // *Ann. Surg.* – 2006. – V. 244. – I. 4. – P. 505–513.
6. *Manuylov, N. L.* Ovarian development in mice requires the GATA4-FOG2 transcription complex / N. L. Manuylov, F. O. Smagulova, L. Leach and S. G. Tevosian // *Development.* – 2008. – Vol. 135. – N. 15. – P. 3731–3743.
7. *Trachsel, D.* Long-term pulmonary morbidity in survivors of congenital diaphragmatic hernia / D. Trachsel, H. Selvadurai, D. Bohn, J. C. Langer, A. L. Coates // *Pediatric Pulmonology.* – 2005. – Vol. 39. – I. 5. – P. 433–439.