



П.М. Замятін, В.М. Лихман,
О.Ф. Невзорова,
В.Ф. Омельченко,
В.П. Невзоров, Л.В. Провар

ДУ «Інститут загальної та
невідкладної хірургії НАМН
України»

© Колектив авторів

ЗМІНИ УЛЬТРАСТРУКТУРИ КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ПАЦЮКІВ ПІСЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ ТУПОЇ ТРАВМИ ЖИВОТА РІЗНОЇ СИЛИ

Резюме. Електронно-мікроскопічним дослідженням клітин підшлункової залози пацієнтів з модельованою травмою різної сили показана динаміка розвитку дистрофічного та деструктивного процесів. Ведучим фактором цих порушень є мітохондріальна дисфункція, яка прогресує в часі. Ступінь виразності ультраструктурних порушень знаходиться в прямій залежності від сили механічної дії на черевну стінку. При травмі, яка супроводжується розчавленням тканини на субклітинному рівні, на внутрішньоклітинному рівні катаболічні процеси превалюють над синтетичними.

Ключові слова: *травматичний шок, ультраструктура підшлункової залози, мітохондріальна дисфункція.*

Вступ

Останніми роками значно зросла кількість техногенних катастроф, підвищився побутовий травматизм, зокрема травм органів черевної порожнини [1, 4, 5, 7]. Тому проблема травматичних ушкоджень органів травного тракту, при якій спостерігаються складні біомеханічні ушкодження набуває не тільки медичної, але й соціальної значимості [2, 6].

Актуальність проблеми ушкоджень органів травного тракту визначається високим рівнем летальності [3, 8]. На жаль, дані літератури не дають повного відображення цілої низки важливих аспектів проблеми політравми з переважаними ушкодженнями органів травного тракту, оскільки роботи носять описовий характер і лише частково розкривають особливості діагностичної та лікувальної тактики.

Мета роботи

Визначити морфологічний субстрат поліорганної недостатності при ушкодженні органів травного тракту шляхом вивчення стану клітин підшлункової залози на ультраструктурному рівні.

Матеріали та методи досліджень

Дослідження проведено на статевозрілих і старих білих щурах лінії Wistar з масою тіла 0,14-0,16 кг. В експерименті для відтворення травматичного ушкодження тканин підшлункової залози використовували універсальний пристрій для відтворення травматичних ушкоджень. За допомогою пристрою шляхом серії ударів наносилися ушкодження підшлункової залози визначеного ступеня тяжкості заздалегідь наркотизованим і фіксованим у верстаті щурам. Прицільну дозовану травму наносили з двох зустрічних напрямків силою до 120 кг/см² за допомогою ударників спеціальної конструкції.

Взяття матеріалу для електронно-мікроскопічного дослідження проводили під час виведення експериментальних тварин із досліду через 10 та 120 хвилин. Шматочки тканини підшлункової залози фіксували в глютаральдегіді та чотириокису осмію. Тканину зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації та ацетоні, просочували в суміші епоксидних смол (епон-аралдит) і розміщали в блоки за загальноприйнятими методиками. З отриманих блоків на ультрамікромомі УМТП-6 робили ультратонкі зрізи, які після контрастування цитратом свинцю вивчали під електронним мікроскопом ЕМВ-100БР при прискорювальній напрузі 75 кв.

Результати досліджень та їх обговорення

Дослідження ультраструктури екзокринних панкреатоцитів і центроацинозних клітин показали, що через 10 хвилин після нанесення поверхневої травми розвиваються різні компенсаторно-адаптаційні і дистрофічні процеси, ступінь і глибина виразності яких варіює у широких межах. В цілому, зміни носили компенсаторний характер, характерний для стресової реакції.

При електронно-мікроскопічному дослідженні тканини підшлункової залози експериментальних тварин з модельованою поверхневою травмою через 120 хвилин розвивалися дистрофічні, а в частині кліток і деструктивні субмікроскопічні зміни ультраструктур екзокринних панкреатоцитів і центроацинозних клітин.

Хроматин ядра знаходився переважно в конденсованому стані. Центральна частина ядра практично не містила глибок хроматину. Ядерна мембрана була сильно розпушеною і мала дрібні осередки лізису. Значно зменшилася кількість крист у мітохондріях. Вони



були скороченими, дезорганізованими. Найбільш істотним деструктивним порушенням піддавався гранулярний ендоплазматичний ретикулум.

Істотно зменшується кількість рибосом, що зв'язані з мембранами гранулярного ендоплазматичного ретикулума (рис. 1).

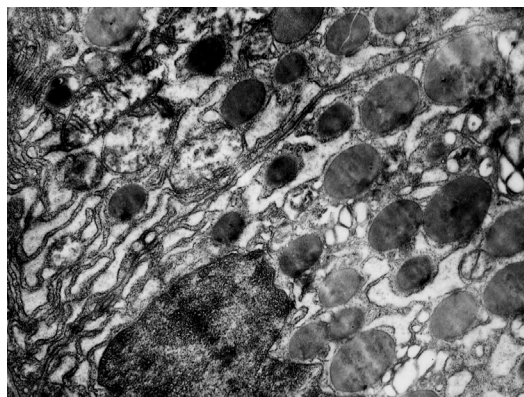


Рис. 1. Ультраструктура екзокринних панкреатоцитів шурів через 120 хвилин після моделювання поверхневої травми. Лізис окремих крист у мітохондріях, просвітління матрикса. x 35000

Гладенькі мембрани комплексу Гольджі були дезорганізованими та втрачали властиву їм рівнобіжну орієнтацію, у безпосередній близькості розташовувалися первинні лізосоми, гранули зимогену і включення ліпідів.

Аналогічні порушення ультраструктурної архітекτονіки цитоплазматичних органел спостерігалися й у субмікроскопічній організації центроацинозних клітин підшлункової залози через 120 хвилин після моделювання поверхневої травми у експериментальній тварини.

Гіалоплазма центроацинозних клітин розріджена і має електронно-прозорий вигляд. Значна частина мітохондрій істотно розбухає, їх матрикс стає проясненим, зменшується кількість крист. Виявляються мітохондрії з частковою деструкцією ділянок зовнішньої мембрани і крист.

Розширення цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулума супроводжується осередковим розпушенням його мембран і зменшенням кількості рибосом. Відповідно знижується і кількість вільних рибосом та полісом у цитоплазмі. Виявляються вторинні лізосоми і дрібні включення ліпідів (рис. 2).

Субмікроскопічна організація екзокринних панкреатоцитів і центроацинозних клітин підшлункової залози через 10 хвилин після травми середньої сили здобувала риси, що характерні для переходу дистрофічного процесу в деструктивну фазу (рис. 3).

Центральна частина матрикса ядра виглядала електронно-прозорою і містила поодинокі гранули деконденсованого хроматину. Ядерна мембрана значної кількості екзокринних

панкреатоцитів була розпушеною, порушеною і дуже часто мала дрібні і численні осередки лізису.

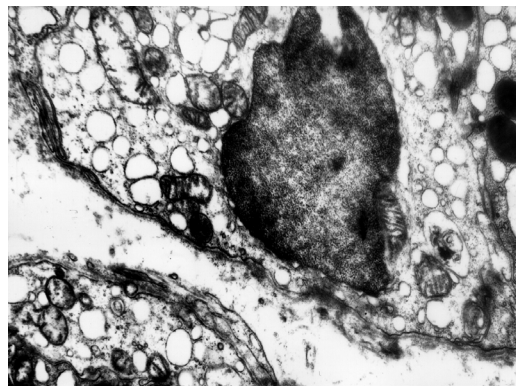


Рис. 2. Ультраструктура центроацинозних клітин шурів через 120 хвилин після моделювання поверхневої травми. Вторинні лізосоми. x 39000

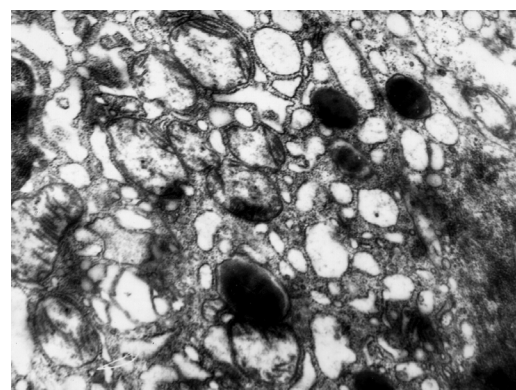


Рис. 3. Ультраструктура екзокринних панкреатоцитів шурів через 10 хвилин після моделювання травми середньої сили. Розширення цистерн ендоплазматичного ретикулума, деструкція крист мітохондрій. x 34000

Істотно зменшувалася кількість мітохондрій, матрикс їх ставав грубо грудкуватим, кристи були істотно укороченими, дезорганізованими і містили велику кількість дрібних осередків лізису. Досить часто зустрічалися екзокринні панкреатоцити з ознаками фрагментації мембран гранулярної ендоплазматичної сітки. У цитоплазмі екзокринних панкреатоцитів іноді зустрічалися вторинні лізосоми і включення ліпідів. Гіалоплазма екзокринних панкреатоцитів була сильно розрідженою.

Порушення ультраструктурної архітектоніки цитоплазматичних органел спостерігалися й у субмікроскопічній організації центроацинозних клітин. Ядерна мембрана була сильно розпушеною, часто зустрічалися осередки її лізису. Спостерігалось значне набрякання мітохондрій з просвітлінням матриксу і зменшенням кількості крист. Зустрічалися мітохондрії з частковим лізисом зовнішньої мембрани і крист. Значне розширення цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулума супроводжувалося розпушенням їхніх мембран

і осередковим їх лізисом, зменшувалася кількість вільних рибосом і полісом у цитоплазмі. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі був скороченим і в області його локалізації виявлялася велика кількість первинних і вторинних лізисом, а також дрібні включення ліпідів.

Електронно-мікроскопічне дослідження тканини підшлункової залози щурів з моделюваною травмою середньої сили через 120 хвилин виявило субмікроскопічні зміни ультраструктур екзокринних панкреатоцитів і центроацинозних клітин, які характерні для розвитку деструктивного процесу, що супроводжується розпадом цитоплазматичних органел і внутрішньоклітинних включень.

Ядра екзокринних панкреатоцитів здобували пікнотичний вигляд із глибокими інвагінаціями ядерної мембрани. Центральна частина ядра практично не містила глибок хроматину. Ядерна мембрана була розпушеною, зникла чітка контурованість каріолемми, найчастіше виявлялися ділянки лізису. Матрикс мітохондрій був грубо грудкуватим із зонами просвітління. Зменшувалася кількість крист, вони були укороченими і дезорганізованими.

Найбільш істотним деструктивним змінам піддавався гранулярний ендоплазматичний ретикулум. У переважній більшості екзокринних панкреатоцитів можна було спостерігати фрагментацію шорсткуватих мембран ендоплазматичної мережі. Різко зменшувалася кількість рибосом, які пов'язані з мембранами гранулярного ендоплазматичного ретикулума. Значна кількість екзокринних панкреатоцитів містила фрагментований гранулярний ендоплазматичний ретикулум. У цитоплазмі клітин практично були відсутні рибосоми. У безпосередній близькості від комплексу Гольджі розташовувалися первинні і вторинні лізисом, включення ліпідів і гранули зимогену (рис. 4).

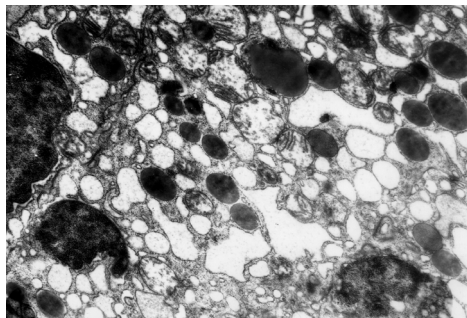


Рис. 4. Ультраструктура екзокринних панкреатоцитів щурів через 120 хвилин після моделювання травми середньої сили. Вакуолізація й осередковий лізис мембран гранулярної ендоплазматичної мережі, зовнішніх мембран і крист мітохондрій. x 35000

В апікальному відділі цитоплазми екзокринних панкреатоцитів суттєво зменшувалося число секреторних гранул. Зростала

ступінь виразності ультраструктурної архітекτονіки цитоплазматичних органел у щурів через 120 хвилин після нанесення травми середньої сили і у центроацинозних клітинах підшлункової залози. Спостерігалася переважна локалізація конденсованого хроматину в безпосередній близькості до ядерної мембрани. Каріолемма найчастіше була осередково зруйнованою. Кількість мітохондрій у цитоплазмі центроацинозних клітин різко знижувалася. Зустрічалися мітохондрії з частковим лізисом зовнішньої мембрани і крист. Вакуолізація цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулума нерідко супроводжувалася осередковою деструкцією мембран. На мембранах гранулярної ендоплазматичної мережі виявлялися поодинокі рибосоми. В області локалізації гіпертрофованого пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі виявлялися у великій кількості первинні лізисом, аутофагосоми і включення ліпідів. Гіалоплазма центроацинозних клітин була сильно проясненою. Ультраструктура клітин підшлункової залози щурів з моделюваною травмою, яка супроводжується розчавленням тканини: через 10 хвилин після нанесення травми в екзокринних панкреатоцитах та центроацинозних клітинах розвивалися деструктивні процеси. Ядра екзокринних панкреатоцитів здобували пікнотичний вигляд. Ядерна мембрана містила велику кількість осередків руйнування. У центральній частині матрикса ядра хроматину не утримувалися гранули.

Мітохондрії були набряклими, мали електронно-прозорий матрикс і здебільшого лізовані кристи. Дуже велика кількість мітохондрій була з осередково зруйнованими зовнішніми мембранами. Мембрани гранулярного ендоплазматичного ретикулума були фрагментовані і не мали зв'язаних з ними рибосом. В області локалізації пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі у цитоплазмі розташовувалися численні вторинні лізисом (рис. 5).

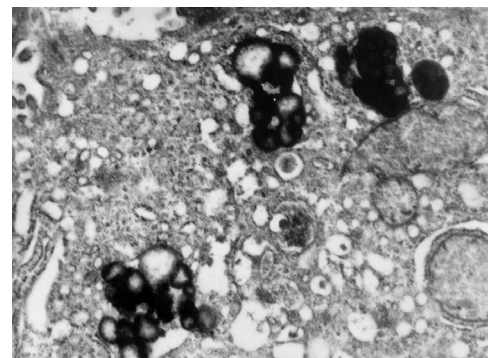


Рис. 5. Ультраструктура екзокринних панкреатоцитів щурів через 10 хвилин після моделювання травми з розчавленням. Численні вторинні лізисом в цитоплазмі. x 36000



Гіалоплазма екзокринних панкреатоцитів була набряклою і мала електронно-прозорий вигляд. Цитоплазматична мембрана розпушена, місцями зруйнована. Аналогічні порушення виявлені й в органеллах центроацинозних клітин. У них осередковому лізису піддавалися усі внутрішньоклітинні мембранні комплекси. Через 120 хвилин після моделювання травми, що супроводжується розчавленням підшлункової залози, у паренхімі розвивалися аутолітичні процеси на рівні внутрішньоклітинних мембран.

Ядерні мембрани екзокринних панкреатоцитів були частково лізованими, а найчастіше спостерігався і їхній тотальний лізис. Гранулярний ендоплазматичний ретикулум фрагментований. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджи скорочений. У цитоплазмі виявляються ділянки некрозу.

Електронно-мікроскопічне дослідження порушень ультраструктурної організації екзокринних панкреатоцитів і центроацинозних клітин шурів показало, що в підшлунковій залозі протягом 10 хвилин розвивається дистрофічний процес на субклітинному рівні, найбільш істотним фактором якого є розвиток мітохондріальної дисфункції, що структурно виражається в набряканні мітохондрій зі зменшенням числа крист, а надалі і лізисі зовнішніх мембран і крист. Наслідком порушення біоенергетики є синтетична активність, яка прогресивно знижується, що структурно виявляється в розширенні цистерн гранулярної ендоплазматичної мережі і зменшенні числа як зв'язаних з нею, так і вільно розташованих рибосом і полісом у цитоплазмі.

У клітках підшлункової залози через 120 хвилин після моделювання поверхневої травми спостерігається тенденція переходу дистрофічного процесу в деструктивну фазу, що супроводжується осередковим лізисом ядерної і мітохондріальної мембран, вакуолізацією і частковою фрагментацією гранулярної ендоплазматичної мережі, різким збільшенням у цитоплазмі кількості панкреатоцитів і аутофагосом.

У групі експериментальних тварин через 10 хвилин після моделювання травми середньої сили дистрофічні зміни ультраструктурної організації кліток підшлункової залози переходять у деструктивну фазу, що виявляється в частковому лізисі ядерної оболонки і зовнішньої мембрани мітохондрій, фрагментації мембран гранулярної ендоплазматичної мережі, різкому зменшенні числа вільних і зв'язаних рибосом.

Через 120 хвилин після травми середньої сили в екзокринних панкреатоцитах і центроацинозних клітинах розвиваються деструктивні порушення у вигляді осередкового лі-

зису внутрішньоклітинних мембран. Виявлені порушення структури мітохондрій свідчать про наростання біоенергетичного дефіциту, у результаті якого починається превалювання катаболічних процесів над синтетичними і репаративними. Це побічно підтверджується ультраструктурними перебудовами пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджи, що гіпертрофується й в області його локалізації збільшується кількість первинних і вторинних лізисом.

У групі експериментальних тварин з моделюваною травмою великої сили з розчавленням паренхіми вже через 10 хвилин у клітках підшлункової залози виявлені порушення ультраструктур свідчать про те, що велика кількість екзокринних панкреатоцитів і центроацинозних клітин вичерпали свої компенсаторні резерви і починається розпад внутрішньоклітинних мембранних систем.

Таким чином, за допомогою електронно-мікроскопічних досліджень були встановлені виражені зміни структури мембран мітохондрій, ендоплазматичної мережі, рибосом, апарата Гольджи та їхньої функції. Через 120 хвилин експерименту цей процес завершується і переважна більшість екзокринних панкреатоцитів і центроацинозних клітин знаходяться в стані некробіозу.

У групі тварин з тяжкою травмою відзначалися більш виражені порушення мікроциркуляції в судинах мікроциркуляторного русла, що приводило до поглиблення ішемічної поразки клітин, чутливих до аноксії тканин з наступним розвитком ендогенної інтоксикації.

Проведеними дослідженнями встановлено пріоритетність порушень біоенергетичних процесів, що викликають дистрофічні зміни органелл, і, зв'язаних з додатковим включенням, компенсаторних механізмів регенерації.

Проведені експериментальні дослідження значно розширили уяву про патогенез ушкоджень, що відбуваються, підтвердили пріоритетність метаболічних порушень у тканинах підшлункової залози при травмі та дозволили дати прогностичну оцінку подальшого розвитку патологічного процесу та в наступному обґрунтувати тактику ведення постраждалих з травмами черевної стінки.

Висновки

1. При поверхневій травмі в клітинах підшлункової залози спостерігається розвиток дистрофічного процесу, ступінь прояву якого знаходиться в межах фізіологічної компенсації.

2. Експериментально модельована травма середньої сили спричиняє пошкодження клітин підшлункової залози як дистрофічного, так і деструктивного характеру. В клітинах розвивається мітохондріальна дисфункція,



яка тягне за собою порушення синтезуючого апарату.

3. У експериментальних тварин із модельованою травмою живота з розчавленням паренхіми підшлункової залози субмікроскопічна

організація клітин зазнає переважно деструктивних змін у вигляді осередкового лізису мембран мітохондрій та гранулярного ендоплазматичного ретикулула.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аксарин А.А. Травмы живота: методические рекомендации / А.А. Аксарин, В.Э. Шнейдер. – Тюмень, 2000. – 46 с.
2. Замятин П.М. Ентеральна недостатність як ланка синдрому поліорганної недостатності у постраждалих з політравмою / П.М. Замятин // Медичні перспективи. – 2005. – Т. X, № 3. – С. 68–70.
3. Замятин П.Н. Принципы организации медицинской помощи при политравме / П.Н. Замятин // Проблемы медицинской науки та освіти. – 2006. – № 3. – С. 57–59.
4. Про значення своєчасної діагностики і лікування при травмі органів черевної порожнини як заходу запобігання летального кінця / О.П. Бабкіна, Ф.О. Лосєв, І.А. Зворигін, О.В. Кузьменко // Український журнал екстремальної медицини імені Г.О.Можаєва. – 2005. – Т. 6, № 2. – С. 43 – 45.
5. Рошін Г.Г. Післяопераційні ускладнення у потерпілих з ізольованою та поєднаною травмою / Г.Г. Рошін, О.В. Мазуренко, А.В. Мусяєнко // Клінічна хірургія. – 1998. – № 4. – С. 23 – 24.
6. Хирургическое лечение поврежденной селезенки при сочетанной закрытой торакоабдоминальной травме / Н.Н. Барамя, Н.Г. Антонюк, Я.Л. Заруцкий [и соавт.] // Клінічна хірургія. – 2000. – № 9. – С. 22 – 23.
7. Babior B.M. Phagocytes and oxidative stress / B.M. Babior // Amer. J. Med. – 2000. – V. 109, № 1. – P. 33 – 44.
8. Renz B.M. Unnecessary laparotomies for trauma: A prospective study of morbidity / B.M. Renz, D.V. Feliciano // J. Trauma. – 1995. – Vol. 38. – P. 350.

ИЗМЕНЕНИЯ
УЛЬТРАСТРУКТУРЫ
КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ
ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПОСЛЕ
МОДЕЛИРОВАНИЯ
ТУПОЙ ТРАВМЫ ЖИВОТА
РАЗЛИЧНОЙ СИЛЫ

*П.Н. Замятин, В.Н. Лыхман,
О.Ф. Невзорова,
В.Ф. Омельченко,
В.П. Невзоров, Л.В. Провар*

Резюме. Электронно-микроскопическим исследованием клеток поджелудочной железы крыс с моделированной травмой различной силы показана динамика развития дистрофического и деструктивного процессов. Ведущим фактором этих нарушений является прогрессирующая во времени митохондриальная дисфункция. Степень выраженности ультраструктурных нарушений находится в прямой зависимости от силы механического воздействия на брюшную стенку. При травме, сопровождающейся размождением ткани на субклеточном уровне, на внутриклеточном уровне катаболические процессы превалируют над синтетическими.

Ключевые слова: *травматический шок, ультраструктура поджелудочной железы, митохондриальная дисфункция.*

CHANGES IN THE
ULTRASTRUCTURE OF CELLS
IN THE PANCREAS OF RATS
AFTER BLUNT ABDOMINAL
TRAUMA SIMULATION OF
DIFFERENT STRENGTHS

*P.N. Zamyatin, V.M. Lykhman,
O.F. Nevzorova,
V.F. Omelchenko,
V.P. Nevzorov, L.V. Provar*

Summary. Electron microscopic examination of cells of the pancreas of rats with simulated injuries of varying strength shows the dynamics of degenerative and destructive processes. The leading factor in these disorders is the progressive mitochondrial dysfunction in time. The degree of severity of ultrastructural disorders is directly dependent on the strength of mechanical stress on the abdominal wall. In case of injury, accompanied by crushing of tissue at the subcellular level, at the intracellular level of catabolic processes prevail over the synthetic.

Key words: *traumatic shock, pancreatic ultrastructure, mitochondrial dysfunction.*