



В. В. Бойко, В. П. Невзоров,
В. Ф. Омельченко,
И. В. Криворотько,
Е. С. Проценко

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС С МОДЕЛИРОВАННОЙ ВЕНОЗНОЙ ИШЕМИЕЙ

ГУ «Институт общей
и неотложной хирургии
им. В. Т. Зайцева НАМН
Украины», г. Харьков

© Коллектив авторов

Резюме. Электронно-микроскопическими исследованиями показано, что перевязка венозного кровотока, рассечения и ушивания толстой кишки в 1-7 сутки нарастают дистрофические изменения органелл и перерастают в фазу деструктивных. К десятым суткам эксперимента на ультраструктурном уровне начинают развиваться процессы нарастания метаболической и репаративной активностей. Уже к 14 суткам эксперимента ультраструктура столбчатых эпителиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров восстанавливаются. Сохраняются лишь умеренно выраженные дистрофические изменения, которые лежат в пределах физиологической компенсации.

Ключевые слова: ультраструктура клеток толстой кишки, перевязка вен, ишемия, гипоксия.

Введение

Тяжелые абдоминальные кровотечения разной этиологии, как в брюшную полость, так и в просвет желудочно-кишечного тракта, осложненные геморрагическим шоком, остаются одной из сложных проблем современной хирургии и реаниматологии [2, 7]. Уровень смертности этих больных остается довольно высоким — более 30 % [4, 6].

Достижение гемостаза и стабилизация показателей гемодинамики является первостепенной задачей лечебной доктрины [3]. Наиболее распространенным подходом к лечению больных с массивной кровопотерей в состоянии геморрагического шока остается неотложная лапаротомия, которая направлена на окончательную остановку кровотечения. Большинство авторов признается необходимость быстрого первичного улучшения состояния гемодинамики и, по возможности, достижение временного гемостаза с целью выполнения минимально необходимых диагностических исследований, определение метода, объема и улучшение условий выполнения операции [4]. Для решения данной задачи предложены разные методы и подходы, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки.

Переосмысление на основании новых данных сформированных позиций, могли бы способствовать решению ряда вопросов. Однако в основе этого должна лежать объективизация информации, характеризующей патологический процесс.

Изменения ультраструктурной организации клеток кишки приводит к снижению секреции слизи, ослабевает защитный механизм слизистой оболочки, что способствует транслокации микроорганизмов [1, 5].

Цель работы

Изучить динамику перестроек органелл клеток толстой кишки крыс в зоне моделированного анастомоза путём рассечения и ушивания на фоне ишемии, вызванной перевязкой вен.

Материалы и методы исследований

Эксперимент проводили на крысах линии Вистар, которым накладывали толстокишечный анастомоз однорядным швом Викрил 4.0 на интактной кишке. Затем производили перевязку вены илеоколика, рассечение и ушивание толстой кишки аналогичным видом шва.

Экспериментальных животных выводили из эксперимента на 1, 3, 7, 10 и 14 сутки. Для электронно-микроскопического исследования иссекали ткани кишки, расположенные на 2–3 мм проксимальнее и дистальнее от линии раннее наложенного шва, что по данным многих исследователей является тем участком ткани, в котором наиболее информативно и полноценно отражаются процессы заживления в толстокишечном анастомозе.

Для контроля качества гистологической обработки материала использовали кусочки слизистой оболочки интактных животных.

Ткань слизистой оболочки толстой кишки после иссечения помещали на 2–3 часа в 2,5 % забуференный раствор глютарового альдегида для предварительной фиксации. После промывки в буферном растворе кусочки ткани переносили в 1 % забуференный раствор тетраэтоксиси осмия на 2–3 часа при температуре 4 °С для окончательной фиксации. Затем ткань обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне, пропитывали в смеси эпоксидных смол (эпон-аралдит) и заключали в блоки по общепринятым методикам. По-

лимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60 °С в течение двух суток.

Из полученных блоков на ультрамикротоме УМТП-3 изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и после контрастирования цитратом свинца изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100 БР при ускоряющем напряжении 75 кВ. Контролем качества гистологической обработки ткани служили кусочки слизистой оболочки толстой кишки интактных животных.

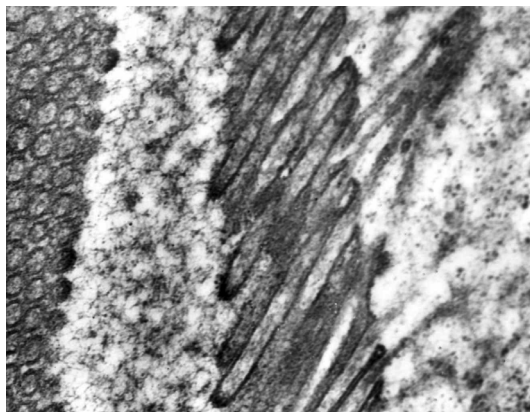
Результаты исследований и их обсуждение

Электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры ткани толстой кишки интактных экспериментальных животных показало удовлетворительную фиксацию материала, так как субмикроскопическая организация клеток соответствовала современным представлениям.

При электронно-микроскопическом исследовании через 24 часа после прерывания венозного кровотока ультраструктурная организация столбчатых эпителиоцитов толстой

кишки претерпевала умеренно выраженные изменения.

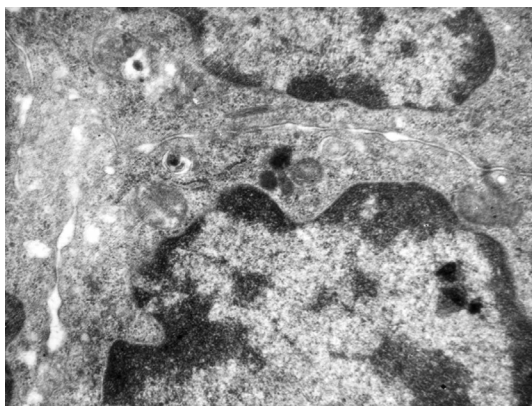
Гранулы деконденсированного хроматина ядра равномерно распределены. В этот срок наблюдения появляются очаги разрыхления ядерной мембраны. В цитоплазме располагались многочисленные митохондрии с мелкозернистым матриксом и большим количеством крист. Матрикс митохондрий приобретает электронно-прозрачный вид. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикула умеренно расширены, на мембранах выявляли многочисленные рибосомы. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи сильно гипертрофирован, гладкие мембраны теряют параллельную ориентацию, рядом с ними располагались первичные лизосомы. Гиалоплазма столбчатых эпителиоцитов приобретает низкую электронную плотность. Микроворсинки располагались параллельными рядами и не имели существенных нарушений. В просвете кишки, в непосредственной близости к микроворсинкам, располагался слой гликокаликса, который был местами очагово разрушен (рис. а).



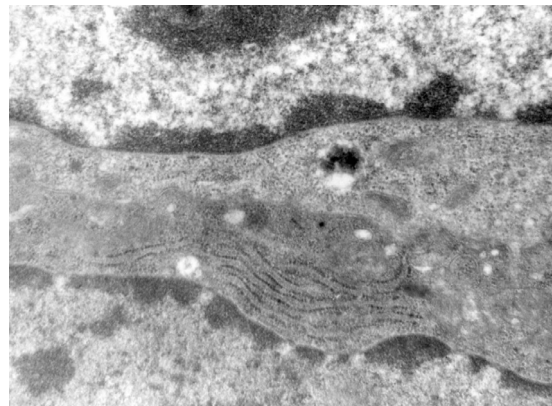
а



б



в



г

Рис. Ультраструктура столбчатых эпителиоцитов толстой кишки в различные сроки после перевязки вен, рассечения и ушивания: а – параллельная ориентация микроворсинок через 24 часа эксперимента. $\times 39\ 000$; б – нарыхление ядерной мембраны, деструкция митохондрий через семь суток эксперимента. $\times 33\ 000$; в – вторичные лизосомы в цитоплазме через десять суток эксперимента. $\times 35\ 000$; г – гиперплазия мембран гранулярного эндоплазматического ретикула через десять суток эксперимента. $\times 38\ 000$



Ядра эндотелиоцитов гемокапилляров имели вытянутую форму, хроматин ядер находился в конденсированной форме. Перинуклеарные пространства умеренно расширены. В цитоплазме обнаруживали в небольшом количестве митохондрии с единичными кристами. Мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулаума разрыхлены. Отростки эндотелиоцитов содержали единичные микропиноцитозные пузырьки. Цитоплазматическая мембрана разрыхлена и утолщена. В просвете капилляров обнаруживали агрегаты эритроцитов и аморфные бесструктурные массы.

На третьи сутки эксперимента нарастает степень выраженности дистрофических нарушений столбчатых эпителиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров.

Ядра столбчатых эпителиоцитов содержали преимущественно конденсированный хроматин. Митохондрии были набухшие, часть крист подвергалась очаговой деструкции. Вместе с тем, на мембранах гранулярного эндоплазматического ретикулаума определяется большое количество рибосом. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи остается гипертрофированным. Существенных изменений в ультраструктуре эндотелиоцитов, по сравнению с предыдущим сроком наблюдения не выявлено.

На седьмые сутки эксперимента в ультраструктурной организации столбчатых эпителиоцитов и эндотелиоцитов гемокапилляров наблюдали ярко выраженные дистрофические изменения с элементами деструкции.

Наблюдалась умеренно выраженная конденсация гранул хроматина, которые собирались в осмиофильные глыбки и концентрировались в виде узкой полоски вдоль ядерной мембраны. Перинуклеарные пространства были расширены. Ядерная мембрана подвергалась разрыхлению (рис. б).

Митохондрии сильно набухали, количество крист в них существенно уменьшалось, по сравнению с группой интактных крыс. Матрикс митохондрий приобретал грубо волокнистое строение. В отдельных митохондриях наблюдали локальные просветления матрикса и очаговый лизис крист.

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулаума резко расширены и заполнены электронно-прозрачной субстанцией. На поверхностях мембран практически отсутствовали рибосомы. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи гипертрофирован и окружен большим количеством первичных лизосом. В этой же области цитоплазмы сравнительно часто обнаруживали включения липидов и вторичные лизосомы.

Цитоплазматическая мембрана приобретала разрыхленный вид и была утолщенной. Микроворсинки теряли регулярную ориентацию.

Цитоплазма эндотелиоцитов гемокапилляров становилась электронно-прозрачной и содержала сильно набухшие митохондрии с небольшим количеством крист и электронно-прозрачный матрикс. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулаума представляли собой крупные вакуоли, на их мембранах иногда присутствовали единичные рибосомы. В отростках цитоплазмы эндотелиоцитов располагались единичные микропиноцитозные пузырьки. Разрыхлению подвергались цитоплазматическая мембрана, наружные мембраны и кристы митохондрий, а также мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулаума.

К 10-м суткам эксперимента в ультраструктурной организации клеток толстой кишки наблюдались изменения двоякого характера. Большая часть клеток содержала умеренно выраженные дистрофические изменения органелл. Степень выраженности дистрофических нарушений была существенно ниже, чем в предшествующие сроки наблюдения. Одновременно с этим появлялись клетки, ультраструктурная организация которых позволяла констатировать повышение функциональной активности.

Ядра столбчатых эпителиоцитов толстой кишки имели типичную структуру без существенных изменений. Сохранялось значительное расширение цистерн эндоплазматической сети, которые были заполнены веществом средней электронной плотности. Существенно возросло количество связанных рибосом. В цитоплазме обнаруживались многочисленные свободные рибосомы и полисомы. Очаговый лизис и фрагментация мембран гранулярного эндоплазматического ретикулаума отсутствовал.

Митохондрии столбчатых эпителиоцитов были набухшими, матрикс имел среднюю электронную плотность и мелко гранулярную структуру. Количество крист несколько увеличилось, относительно предыдущего срока эксперимента.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи гипертрофирован, его гладкие мембраны параллельно ориентированы и окружены многочисленными мелкими везикулами. Восстанавливается регулярность ориентации микроворсинок на апикальной поверхности. В цитоплазме присутствовали в отдельных эпителиоцитах вторичные лизосомы (рис. в).

Субмикроскопическая архитектура эндотелиоцитов микроциркуляторного русла толстой кишки и гладких миоцитов мышечного



слоя не подвергалась существенной трансформации. Выявленные дистрофические изменения органелл этих клеток носили компенсаторный характер и находились в физиологических пределах.

Наряду с описанными трансформациями столбчатых эпителиоцитов и эндотелиоцитов микроциркуляторного русла на десятые сутки эксперимента в препаратах встречаются клетки с признаками активации репаративных и синтетических процессов.

Ядра столбчатых эпителиоцитов содержали крупные ядрышки. В цитоплазме располагались многочисленные митохондрии с перетяжками и имеющие гантелевидную форму. Наблюдалась гиперплазия мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, которая сопровождалась увеличением числа связанных с ними рибосом (рис. г).

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи в этих клетках представлен стопками параллельно расположенных гладких мембран, которые окружены большим количеством мелких электронно-прозрачных везикул.

Наблюдается восстановление регулярности локализации микроворсинок и непрерывный слой гликокаликса. В цитоплазме отсутствовали вторичные лизосомы и включения липидов.

На 14-е сутки после перевязки вен, рассечения и ушивания толстой кишки восстанавливается типичная ультраструктурная архитектура органелл клеток столбчатых эпителиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров. В цитоплазме отростков эндотелиоцитов кровеносных капилляров располагаются многочисленные микропиноцитозные везикулы.

Описанные изменения в субмикроскопической архитектонике клеток толстой кишки через сутки после перевязки венозного кровотока, рассечения и ушивания появляются изменения стрессорного характера в виде набухания митохондрий с дезорганизацией крист, расширения цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума и гипертрофии пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи.

Через трое суток в этой группе крыс развиваются выраженные дистрофические процессы с наличием элементов деструкции внутриклеточных мембран, как столбчатых эпителиоцитов, так и эндотелиоцитов кровеносных капилляров.

Через семь суток дистрофические изменения органелл нарастают, что структурно проявляется сильным набуханием митохондрий, появлением в матриксе и участков просветления. Степень расширения цистерн эндоплазматической сети увеличивается и граничит с

вакуолизацией. Нарастает гипертрофия пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. В отдельных клетках появляются очаги деструкции внутриклеточных мембранных структур.

К десятым суткам эксперимента нарушения ультраструктур клеток толстой кишки двояки. У части столбчатых эпителиоцитов преобладали процессы метаболической активности, структурным проявлением которых были делящиеся формы митохондрий, увеличение количества рибосом и полисом, а также гиперплазия мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума. Эти изменения можно объяснить включением резервных механизмов внутриклеточной компенсации в ответ на нарушение венозного кровотока и оперативного вмешательства. При этом у небольшой части клеток в ультраструктурной организации сохраняются деструктивные изменения в виде очагового лизиса мембран митохондрий и эндоплазматической сети.

К 14 суткам эксперимента ультраструктура столбчатых эпителиоцитов и эндотелиоцитов капилляров в основном восстанавливается. Сохраняются лишь умеренно выраженные дистрофические изменения, такие как набухание митохондрий, расширение цистерн эндоплазматического ретикулума, уменьшение электронной плотности цитоплазмы, которые являются следствием развития компенсаторно-адаптационных реакций. Эти изменения лежат в физиологических пределах.

Выводы

1. Через сутки после перевязки венозного кровотока, рассечения и ушивания изменения в субмикроскопической архитектонике клеток толстой кишки, появляются изменения стрессорного характера.

2. Через семь суток дистрофические изменения органелл нарастают и перерастают в фазу деструктивных, что структурно проявляется появлением очагов деструкции внутриклеточных мембранных структур.

3. К десятым суткам эксперимента развиваются процессы нарастания метаболической активности, структурным проявлением которых являются делящиеся формы митохондрий, увеличение количества рибосом и полисом, а также гиперплазия мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума.

4. К концу эксперимента ультраструктура столбчатых эпителиоцитов и эндотелиоцитов капилляров восстанавливается. Сохраняются лишь умеренно выраженные дистрофические изменения глубина выраженности, которых лежит в пределах физиологической компенсации.



ЛИТЕРАТУРА

1. Белозеров И. В. Динамика ультраструктурных изменений клеток слизистой оболочки толстой кишки кролей в области установки спиралевидного стента / И. В. Белозеров, О. Ф. Невзорова, В. П. Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2009. – № 1 (32). – С. 39–42.
2. Бойко В. В. Методи прогнозування, профілактики й лікування неспроможності анастомозів після комбінованих операцій на органах малого тазу / В. В. Бойко, І. В. Криворотько, С. Б. Пеев // Актуальні питання невідкладної хірургії. – Харків, 2011.
3. Гончаренко О. В. Причини виникнення, патогенез і комплексна профілактика неспроможності швів кишечника / О. В. Гончаренко // Клінічна хірургія. – 1997. – № 9–10. – С. 24–25.
4. Распространенность острых ишемических поражений толстой кишки в структуре ургентной абдоминальной патологии и их классификация / В. В. Бойко, И. А. Тарабан, В. Г. Грома [и др.] // Актуальные вопросы хирургии: материалы XIV съезда хирургов Республики Беларусь. – Витебск, 2010. – С. 72–73.
5. Ультраструктурные изменения клеток толстой кишки больных с кишечным кровотечением ракового генеза после проведения внутриартериальной химиотерапии и окклюзии сосудов толстого кишечника / И. В. Белозеров, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова [и др.] // Харківська хірургічна школа. – 2009. – № 3 (34). – С. 56–61.
6. Kobayashi Y. Total pelvic exenteration with sacrectomy for recurrence of rectal cancer / Y. Kobayashi, Y. Moriya // Jpn. J. Clin. Oncol. – 2007. – № 37 (2). – P. 156–159.
7. Mortality, morbidity and functional outcome after ileorectal anastomosis / C. Elton, G. Makin, K. Hitos [et al.] // Br. J. Surg. – 2003. – № 90 (1). – P. 59–65.

ЗМІНИ УЛЬТРАСТРУКТУРИ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ З МОДЕЛЬОВАНОЮ ВЕНОЗНЮ ІШЕМІЮ

**В. В. Бойко, В. П. Невзоров,
В. Ф. Омельченко,
І. В. Криворотько,
О. С. Проценко**

Резюме. Електронно-мікроскопічними дослідженнями показано, що перев'язка венозного кровообігу, розсічення та ушивання товстої кишки в 1-7 добу нарощуються дистрофічні зміни органел і переростають на фазу руйнівних. До десятої доби експерименту на ультраструктурному рівні починаються розвиватися процеси росту метаболічної та репаративної активності. Вже на 14 добу експерименту ультраструктура стовпчастих епітеліоцитів та ендотеліоцитів кровоносних капілярів відновлюється. Зберігаються тільки помірно виражені дистрофічні зміни, які лежать в межах фізіологічної компенсації.

Ключові слова: ультраструктура клітин товстої кишки, перев'язка вен, ішемія, гіпоксія.

ALTERATIONS IN THE ULTRASTRUCTURE OF CELLS OF THE COLONIC MUCOSA OF RATS BY MEANS OF SIMULATED VENOUS ISCHEMIA

**V. V. Boyko, V. P. Nevzorov,
V. F. Omelchenko,
I. V. Krivorotko,
E. S. Protsenko**

Summary. Electron microscopic studies have shown that ligation of venous blood flow, dissecting and suturing of the colon in 1-7 hours increase organelles degenerative alterations and develop into destructive phase. By the tenth day of the experiment begins the development of the metabolic processes of growth and reparative activities on the ultrastructural level. By the 14 days of the experiment ultrastructure of columnar epithelial and endothelial cells of blood capillaries become restored. Only moderately pronounced degenerative alterations, which lie within the physiological compensation, is reserved.

Key words: ultrastructure of cells of the colon, vein ligation, ischemia, hypoxia.