

## ПОРУШЕННЯ УЛЬТРАСТРУКТУРИ КЛІТИН СТРАВОХОДУ З МОДЕЛЬОВАНОЮ СТРИКТУРОЮ СТРАВОХОДУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова (м. Вінниця)

\*ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії НАМН

України ім. проф. В. Т. Зайцева» (м. Харків)

Дана проблема тісно пов'язана з науково-дослідною роботою кафедри хірургії № 1 Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова «Розробка та удосконалення новітніх технологій в хірургічному лікуванні та профілактиці післяопераційних ускладнень у хворих з захворюваннями органів черевної та грудної порожнини», № державної реєстрації 0113U007692 по спеціальності 14.01.03 – хірургія.

**Вступ.** За останні роки зросла кількість хворих на стенозуючі захворювання стравоходу [1, 2, 5]. Незважаючи на зростання великої кількості сучасних методів діагностики та лікування, його результати є не досить втішними, так як післяопераційна летальність складає 3,5 – 30% [3, 6, 7]. Для обґрунтування єдиної патогенетичної тактики лікування стриктур стравоходу та покращення його результатів нами було запропоноване моделювання стриктури стравоходу в експерименті та вивчення ультраструктурних змін слизової оболонки самої стриктури, які до цих пір мало вивчені [4].

**Метою** нашої роботи було дослідити динаміку ультраструктурних змін стінки стравоходу в нормі та при першому ступені його стриктури.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експеримент виконувався на білих щурах, самцях, масою від 250 до 300 г. Експерименти проводили у відповідності до загальних принципів експериментів над тваринами, ухваленими І національним конгресом з біоетики (Київ, 2001р.) і узгодженими з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986р.). Перед дослідженням тварини проходили карантин у віварії протягом тижня, утримувались в однакових умовах, отримували однаковий харчовий раціон. Ніякої спеціальної передопераційної підготовки тваринам не проводили. Всього було прооперовано 16 щурів. Операції проводили під кетаміновим наркозом: внутрішньоочеревинно вводився 2% розчин кетаміну з розрахунку 0,2 мл на 100 г ваги тварини.

Всім тваринам дослідної групи (10 щурів) створювалась модель стриктури стравоходу першого ступеня. У своїх дослідах ми створювали модель стриктури стравоходу наступним чином: після

пошарового розкриття передньої черевної стінки виконували перев'язку абдомінального відділу стравоходу (його нижньої третини) на дорослому підключичному катетері. У контрольній групі (6 щурів) виконували розкриття передньої черевної стінки з наступним її пошаровим зашиванням. Тварин виводили з досліду через 3, 4, 5 діб шляхом передозування кетаміну і виконували забір матеріалу для ультраструктурного дослідження.

Матеріалом для електронно-мікроскопічного дослідження були висічені шматочки тканини слизової оболонки ділянки самої стриктури стравоходу щурів з модельованою стриктурою першого ступеня.

Шматочки тканини відразу після забору розміщували у 2,5% забуференому розчині глутаро-формальдегідного фіксатора при температурі 4° С для попередньої фіксації. Після промивання у буферному розчині тканину перенесли для остаточної фіксації в 1% забуферений розчин чотирьохокисі осмію на 3-4 години. Зневоднення проводили в спиртах зростаючої концентрації та ацетоні. Тканину уклали в суміш епоксидних смол (епон-аралдіт) за загальноприйнятими методиками. Полімеризацію блоків здійснювали в термостаті при температурі 60° С протягом двох діб. З отриманих блоків на ультрамікромомі УМТП-3 виготовляли ультратонкі зрізи, монтували їх на електrolітичні сіточки і, після контрастування цитратом свинцю, вивчали під електронним мікроскопом ЕМВ – 100 БР при напрузі 75 кВ, що прискорюється.

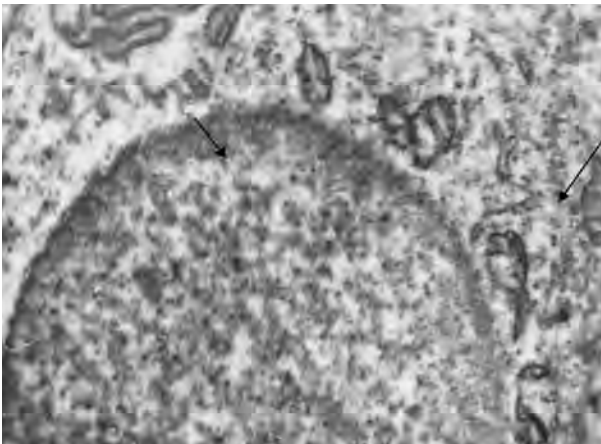
Для контролю якості гістологічної обробки тканини використовували шматочки слизової оболонки стравоходу експериментальних тварин групи контролю.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Електронно-мікроскопічне дослідження клітин стравоходу інтактних щурів показало наявність задовільної гістологічної обробки тканини. Субмікроскопічна організація органел клітин слизової оболонки стравоходу відповідала сучасним уявленням. Пошкодження плазматичних і внутрішньоклітинних мембранних структур в препаратах не було.

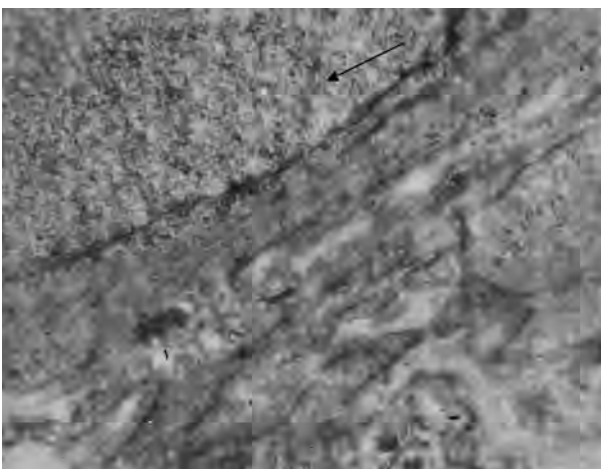
Вивчення субмікроскопічної організації базальних клітин незроговілого багатощарового епітелію слизової оболонки стравоходу щурів зі стриктурою



**Рис. 1.** Ультраструктура базальних епітеліоцитів багат шарового незроговілого епітелію стравоходу щурів зі стриктурою стравоходу першого ступеня. Конденсація ядерного хроматину (стрілка) вздовж ядерної мембрани, Ч39000.



**Рис. 2.** Ультраструктура базальних епітеліоцитів багат шарового незроговілого епітелію стравоходу щурів зі стриктурою першого ступеня. Розпушення ядерної мембрани (стрілка), просвітлення матриксу мітохондрій, Ч37000.



**Рис. 3.** Ультраструктура гладеньких міоцитів стравоходу щурів зі стриктурою першого ступеня. Деконденсований хроматин (стрілка) в ядрі, Ч54000.

першого ступеня виявило помірно виражені дистрофічні зміни органел, характерні для розвитку дистрофічного процесу. Ядра епітеліоцитів базального шару зберегли типову локалізацію в цитоплазмі і форму. Матрикс ядра містив рівномірно розсіяні по площині зрізу гранули деконденсованого хроматину (рис. 1).

Ядерна мембрана була множинно деформована. Перинуклеарні простори помірно і рівномірно розширені. По периферії матриксу ядра розташовувалися осміофільний конденсований хроматин. Частина епітеліоцитів мала ядра з сильно розпушеною мембраною. Мітохондрії помірно набрякли з електронно-прозорим матриксом і практично повною відсутністю крист. Зовнішня мембрана була піддана лізису (рис. 2).

Гранулярний ендоплазматичний ретикулум помірно розвинений, цистерни його розширені, кількість рибосом і полісом, як зв'язаних з його мембранами, так і вільно лежачих в цитоплазмі, значно знижена у порівнянні з групою інтактних експериментальних тварин. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі дещо гіпертрофований. Стопки його гладких мембран були деформовані і оточені невеликою кількістю дрібних і великих електронно-прозорих везикул. В ділянці його локалізації у деяких епітеліоцитах розташовувалися вторинні лізосоми і включення ліпідів.

Гладкі міоцити (рис. 3) мали ядра подовженої форми. У матриксі ядра були відсутні грудочки конденсованого хроматину. Гранули деконденсованого хроматину рівномірно розсіяні по матриксу. Ядерна мембрана розпушена з множинними дуже дрібними інвагінаціями, містила невелику кількість вогнищ лізису.

Мітохондрії мали округлу або циліндричну форму і були заповнені дрібно гранулярним матриксом, який володів низькою електронною щільністю. Зовнішні мембрани і кристи мітохондрій осередково зруйновані. Ендоплазматичний ретикулум був представлений у вигляді електронно-прозорих цистерн. Його мембрани були деформовані. У безпосередній близькості від цитоплазматичної мембрани розташовувалися поодинокі мікропіноцитозні міхурці, заповнені речовиною з різною електронною щільністю.

У цитоплазмі виявлялися пучки філаментів, паралельно орієнтованих до довгої вісі міоциту.

Електронно-мікроскопічне дослідження ультраструктурної організації ендотеліоцитів кровоносних капілярів власної пластинки слизової оболонки стравоходу щурів зі стриктурою першого ступеня виявило зміни, характерні для зниження активності метаболічних процесів, які здійснюються внутрішньоклітинними мембранами і органелами.

У просвіті окремих капілярів виявлявся детрит, що складався з фрагментів цитоплазматичних мембран і безструктурних аморфних мас, а також дегенеративно змінених органел. Цитоплазма ендотеліоцитів кровоносних капілярів мала низьку електронну щільність. Ядерна мембрана ендотеліоцитів утворювала чисельні дрібні деформації. Ядерний

хроматин знаходився в конденсованому стані і локалізувався в периферичних відділах матриксу. Де конденсований хроматин у вигляді дрібних гранул був дифузно розсіяний у центральній ділянці ядра, яка володіла зниженою електронною щільністю. Мітохондрії ендотеліоцитів кровоносних капілярів були набряклими, їх матрикс мав середню електронну щільність. Кристи мітохондрій орієнтовані вздовж довгої вісі органел. Часто можна було спостерігати розпушення зовнішніх мембран і крист мітохондрій. Гранулярний ендоплазматичний ретикулум ендотеліоцитів представлений у вигляді невеликої кількості електронно-прозорих везикул, на мембранах яких прикріплена невелика кількість рибосом. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі слабо розвинутий, його мембрани дезорганізовані і деформовані. У цитоплазмі відростків ендотеліоцитів виявлялися поодинокі мікропіноцитозні міхурці. Цитоплазматична мембрана ендотеліальних клітин була осміюфільною і розпушеною.

**Заключення.** Проведене електронно-мікроскопічне дослідження субмікроскопічної організації базальних, шипуватих, поверхневих епітеліоцитів багат шарового незроговілого епітелію, гладеньких міоцитів м'язової пластинки і скорочувальних елементів м'язового шару стравоходу щурів з модельованою стриктурою першого ступеня виявило комплекс дистрофічних і деструктивних порушень.

Субмікроскопічна організація клітин багат шарового незроговілого епітелію характеризується набуханням мітохондрій і осередковою деструкцією та деформацією зовнішніх мембран і крист. Такі ультраструктурні зміни є результатом розвитку мітохондріальної дисфункції, яка істотним чином порушує внутрішньоклітинну біоенергетику клітин стравоходу і призводить до зниження активності репаративних, метаболічних і синтетичних внутрішньоклітинних процесів, що непрямо підтверджується зменшенням кількості рибосом і полісом у цитоплазмі, а також розпушенням і вогнищевим лізисом мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулума.

Наявність деформацій ядерної мембрани, мембран мітохондрій, мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулума і пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі пояснюється включенням резервних внутрішньоклітинних механізмів, пов'язаних з явищами п'єзобіосинтезу

(матеріали заявки на відкриття № А577, від 9 червня 2012 р.). Клітини в умовах недостатності енергетичного забезпечення метаболічних процесів використовують енергію п'єзоефекта, що виникає при деформації мембран, які являються рідкими кристалами.

Ультраструктурні зміни органел гладеньких міоцитів і поперечнопосмугованих м'язових волокон в ділянці стриктури стравоходу свідчать про зниження скорочувальної можливості цих клітин.

Субмікроскопічні порушення ендотеліоцитів капілярного русла стравоходу характеризуються зменшенням електронної щільності цитоплазми внаслідок розвитку внутрішньоклітинного набряку, відсутністю в цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин мікропіноцитозних міхурців, що є характерним для зниження активності трансцелюлярного транспорту речовин, води і електролітів.

### Висновки.

1. Модельована у щурів стриктура стравоходу першого ступеня викликає комплекс дистрофічних і деструктивних порушень у субмікроскопічній організації базальних, шипуватих, поверхневих епітеліоцитів багат шарового незроговілого епітелію, гладких міоцитів м'язової пластинки і скорочувальних елементів м'язового шару.

2. Субмікроскопічна організація клітин багат шарового незроговілого епітелію піддається осередковій деструкції і деформації мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулума, зовнішніх мембран і крист мітохондрій.

3. Наявність деформацій ядерної мембрани, мембран мітохондрій, мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулума і пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі пояснюється включенням резервних внутрішньоклітинних механізмів, пов'язаних з явищами п'єзобіосинтезу.

4. Виявлені порушення субмікроскопічної архітектоніки клітин стравоходу щурів з модельованою стриктурою першого ступеня є зворотніми після усунення негативного фактора.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому необхідно дослідити ультраструктурні зміни клітин стравоходу при моделюванні його стриктури другого та третього ступеня в експерименті.

## Література

1. Багиров М. М. Применение тотальной и субтотальной эзофагопластики в лечении рубцового стеноза пищевода / М. М. Багиров, Р. И. Верещако // Клінічна хірургія. – 2008. – № 8. – С. 11-15.
2. Пластика пищевода толстой кишкой у больных с ожоговыми стриктурами пищевода / А. Ф. Черноусов, В. А. Андрианов, А. И. Чернооков [и др.] // Хирургия. – 2003. – № 7. – С. 50-54.
3. Саенко В. Ф. Восстановленные операции по поводу рубцовой послеожоговой стриктуры пищевода / В. Ф. Саенко, С. А. Андреев, П. Н. Кондратенко, С. Д. Мясоедов // Клінічна хірургія. – 2002. – № 5-6. – С. 4.
4. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника. Руководство / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – Москва: Медицина, 1996. – 544 с.
5. Хирургическое лечение сочетанных стриктур пищевода и желудка / Н. Р. Рахметов, Д. С. Жетимкаринов, В. А. Хребтов [и др.] // Хирургия. – 2003. – № 11. – С. 17-19.
6. Dantas R. O. Motility of the transverse colon used for esophageal replacement / R. O. Dantas, R. C. Matede // J. Clin Gastroenterol. – 2002. – Vol. 34, № 3. – P. 225-228.
7. Maish M. S. Indications and technique of colon and jejunal interposition for esophageal disease / M. S. Maish, C. Denschamps // Surg. Clin. North. Am. – 2005. – Vol. 85, № 3. – P. 505-514.

УДК 616-001.37-089.844

### **ПОРУШЕННЯ УЛЬТРАСТРУКТУРИ КЛІТИН СТРАВОХОДУ З МОДЕЛЬОВАНОЮ СТРИКТУРОЮ СТРАВОХОДУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

**Шапринський Є. В., Невзоров В. П., Невзорова О. Ф.**

**Резюме.** На моделі стриктури стравоходу першого ступеню у щурів представлений комплекс дистрофічних і деструктивних порушень субмікроскопічної організації базальних, шипуватих, поверхневих епітеліоцитів, гладких міоцитів м'язової пластинки і скорочувальних елементів м'язового шару. Показано, що у субмікроскопічній організації клітин багатозарового незроговілого епітелію наявна осередкова деструкція і деформація мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулула, зовнішніх мембран і крист мітохондрій. Виявлені порушення субмікроскопічної архітектоники клітин стравоходу щурів зі стриктурою першого ступеню є зворотними після усунення негативного фактора. Деформації ядерної мембрани, мембран мітохондрій, мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулула і пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі пояснюються включенням резервних внутрішньоклітинних механізмів, пов'язаних з явищами п'єзобіосинтезу.

**Ключові слова:** ультраструктура клітин стравоходу, стриктура стравоходу, мітохондріальна дисфункція, п'єзобіосинтез.

УДК 616-001.37-089.844

### **НАРУШЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК ПИЩЕВОДА С МОДЕЛИРОВАННОЙ СТРИКТУРОЙ ПИЩЕВОДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**Шапринский Е. В., Невзоров В. П., Невзорова О. Ф.**

**Резюме.** На модели стриктуры пищевода первой степени у крыс представлен комплекс дистрофических и деструктивных нарушений субмикроскопической организации базальных, шиповатых, поверхностных эпителиоцитов, гладких миоцитов мышечной пластинки и сократительных элементов мышечного слоя. Показано, что субмикроскопическая организация клеток многослойного неороговевающего эпителия подвергается очаговой деструкции и деформации мембран гранулярного эндоплазматического ретикулула, наружных мембран и крист митохондрий. Выявленные нарушения субмикроскопической архитектоники клеток пищевода крыс с моделированной стриктурой первой степени являются обратимыми после снятия негативного фактора. Деформации ядерной мембраны, мембран митохондрий, мембран гранулярного эндоплазматического ретикулула и пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи объясняются включением резервных внутриклеточных механизмов, связанных с явлениями пьезобиосинтеза.

**Ключевые слова:** ультраструктура клеток пищевода, стриктура пищевода, митохондриальная дисфункция, пьезобиосинтез.

UDC 616-001.37-089.844

### **Violation of Ultrastructure of Cells of Esophagus with the Stricture of Esophagus in Experiment**

**Shaprynskyi Y. V., Nevzorov V. P., Nevzorova O. F.**

**Abstract.** In recent years the number of patients with stenosing esophageal disease increases. Despite increasing of a large number of modern methods of diagnostics and treatment, the results are not very encouraging, as postoperative mortality is 3,5 – 30 %.

For justification of uniform pathogenetic tactics of treatment of esophageal strictures and improvement of its results we have proposed modeling esophageal stricture in the experiment and studying of ultrastructural changes in mucosa stricture, which are still poorly understood.

The aim of our study was to investigate the dynamics of ultrastructural changes in the wall of the esophagus in normal and at the first stage of its stricture.

Experiment was carried out on white rats, males, weighing from 250 to 300 g.

Model of esophageal stricture of the first degree was created in all animals of the experimental group (10 rats).

In our experiment we created the model of esophageal stricture a following way: after layer-by-layer opening of anterior abdominal wall the ligation of abdominal part of esophagus (the lower third) on adult subclavian catheter was performed. In control group (6 rats) disclosure anterior abdominal wall with its further stratified stitching was performed.

The animals were taken out of the experiment in 3, 4, 5 days by overdose of ketamine and biopsy for ultrastructural study was performed. Cut pieces of tissue sections of the mucosa of the esophagus stricture rats were material for electron microscopy.

In rats with the first degree stricture of esophagus in experiment the complex of dystrophic and destructive violations of the submicroscopic organization of different types of epithelial cells, myocytes of a muscular layer is presented.

The submicroscopic organization of cells of a multilayered epithelium is characterized by swelling of mitochondria and focal destruction and deformation of external membranes and mitochondria krist. These ultrastructural changes are the result of mitochondrial dysfunction, which essentially gives the intracellular bioenergetics of cells of the esophagus and leads to reducing of activity of reparative, and synthetic intracellular metabolic processes that

indirectly confirmed by decreasing the number of ribosomes and polysomes in the cytoplasm as well as loosening and focal lysis of the membranes of granular endoplasmic reticulum.

The presence of deformations of nuclear membrane, the membranes of mitochondria, membrane of granular endoplasmic reticulum and Golgi's lamellar cytoplasmatic complex was explained by turning on of the reserve intracellular mechanisms connected with the phenomenon of pezobiosintez. Cells in the conditions of insufficiency of power ensuring metabolic processes use energy of pezobiosintez, which arising at the case of deformation of membranes which were liquid crystals.

Ultrastructural changes of organells in smooth muscle cells and muscle fibers in the area of esophageal stricture indicates reducing contractile capacity of these cells.

Submicroscopic violations of endothelial cells of the capillary course of esophagus are characterized by reduction of electronic density of cytoplasm due to the development of intracellular edema, absence in cytoplasm of shoots of the endothelial cells that was characteristic for decreasing activity of transcellular transport of substances, water and electrolytes.

So, the revealed violations of submicroscopic structure of cells of the first degree stricture of esophagus in experiment are reversible after removing of the negative factor. Deformations of a nuclear membrane, membranes of mitochondrions, membranes of granular endoplasmic reticulum and Golgi's lamellar cytoplasmatic complex are explained by turning on of the reserve intracellular mechanisms connected with the pezobiosintez's phenomena.

In the future it is necessary to investigate ultrastructural changes of cells of esophagus with the second and the third degree esophageal stricture in experiment.

**Keywords:** ultrastructure of cells of esophagus, stricture of esophagus, mitochondrial dysfunction, pezobiosintez.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.*

*Стаття надійшла 25. 11. 2013 р.*