

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОСАТЕЛЛИТОЦИТОВ И ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЛЯРОВ МЫШЦ ПОСЛЕ ОГНЕСТРЕЛЬНОГО РАНЕНИЯ

¹Харьковская медицинская академия последипломного образования

МОЗ Украины (г. Харьков)

²ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева»

НАМН Украины (г. Харьков)

mihailusov1@ukr.net

Данная работа является фрагментом НИР «Диагностика и лечение огнестрельных ранений мягких тканей (клинико-экспериментальное исследование)», № государственной регистрации 0116U005145 от 10.05.2016 года.

Вступление. Одной из актуальных проблем современной хирургии является лечение огнестрельных ранений мягких тканей. Данная категория раненых является наиболее многочисленной при ведении активных боевых действий [1,4]. Немаловажными вопросами остаются сроки заживления огнестрельных ран и реабилитации раненых после огнестрельных ранений [5,6].

По данным современных авторов полноценное заживление ран невозможно без восстановления адекватной микроциркуляции повреждённых тканей [2,3].

Возможный путь улучшения хирургического лечения огнестрельных ран – это анализ и дальнейшее практическое использование полученных углублённых знаний ультраструктурных изменений, возникающих в кровеносных капиллярах мышц в различные сроки после огнестрельного ранения.

Цель работы: выявить особенности перестройки субмикроскопической архитектоники миосателлитоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров скелетных мышц в области огнестрельного ранения, а также динамику трансформаций органелл и внутриклеточных мембран в различные сроки экспериментально моделированной огнестрельной травмы.

Объект и методы исследования. Моделирование огнестрельных ранений мягких тканей было выполнено на племенных кроликах одной линии, породы «Шиншилла», которым было нанесено огнестрельное ранение мягких тканей бедра из мелкокалиберной винтовки «Урал» и пистолета «Форт-17» с усиленным патроном. Все животные мужского пола. Масса животных составляла от 2200 до 3000 г. Средняя масса животных составила 2620 ± 120 г. Моделирование огнестрельных ранений мягких тканей проводилось в сертифицированном стрелковом тире после согласования с соответствующими структурами МВД Украины.

Методики проведения экспериментов, обезбоживания и лишения жизни животных проводились в соответствии с положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых

для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, Франция, 1985), «Правилами выполнения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными приказом МОЗ Украины и Законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» (№ 1759-VI от 15.12.2009).

Экспериментальные животные выводились из опыта на 30 и 60 сутки, и производилось взятие кусочков ткани для электронно-микроскопического исследования, которые помещали для предварительной фиксации в 2,5% забуференный раствор глутарового альдегида на 5-6 часов при температуре 4°C. После окончания предварительной фиксации, кусочки ткани промывали в буферном растворе и переносили в 1% забуференный раствор четырехоксида осмия на 2-3 часа при температуре 4°C. Ткань обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне, пропитывали смесью эпоксидных смол (эпон-аралдит) и заключали в блоки по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60°C в течение двух суток.

Из полученных блоков, на ультрамикротоме ЛКВ-III, изготавливали ультратонкие срезы, которые после контрастирования цитратом свинца изучали под электронным микроскопом ПЭМ-125К при ускоряющем напряжении 75 кв. Увеличение подбиралось адекватное целям исследования и колебалось в пределах 20000-60000 крат. Контролем качества гистологической обработки ткани служили биоптаты интактных экспериментальных животных.

Результаты исследования и их обсуждение. Через 30 суток после моделирования огнестрельного ранения бедренной мышцы сохраняются дистрофические нарушения субмикроскопической организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров. Ядра эндотелиоцитов гемокapилляров имели вытянутую форму, хроматин ядер находился в конденсированном состоянии и концентрировался вдоль ядерной мембраны. Ядерная мембрана содержала мелкие очаги разрыхления и образовывала многочисленные мелкие и глубокие инвагинации. В отдельных эндотелиальных клетках присутствовали ядра с мелкоочаговой деструкцией кариолеммы.

Перинуклеарные пространства были умеренно и неравномерно расширены. В перинуклеарной области цитоплазмы располагались в небольшом

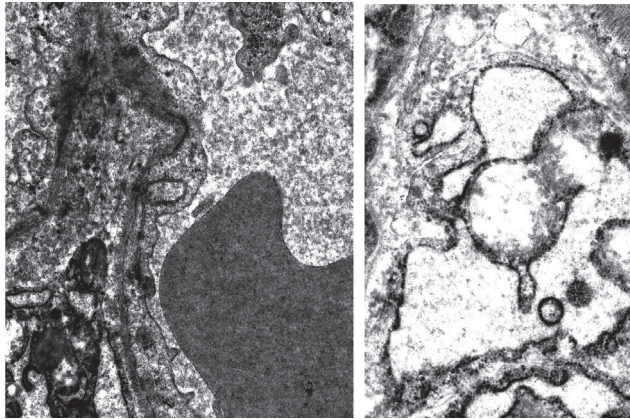


Рис. 1. Ультраструктура кровеносных капилляров скелетных мышц бедра кролика на 30 сутки после огнестрельного ранения. Контрастировано цитратом свинца. а — многочисленные микропиноцитозные пузырьки в цитоплазме эндотелиальных клеток. х 61 000. б — скопления дегенеративно изменённых мембран и органелл в просвете капилляра. х 67 000.

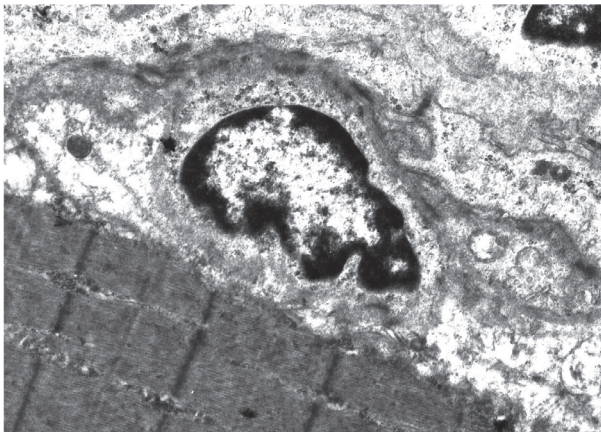


Рис. 2. Ультраструктура сателлитоцитов скелетных мышц бедра кролика на 30 сутки после огнестрельного ранения. Инвагинации ядерной мембраны. Контрастирование цитратом свинца. х 52 000.

количестве митохондрии с единичными кристами. Матрикс митохондрий имел высокую электронную плотность, а иногда был гомогенизирован. Мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума теряли четко контурированную структуру, были умеренно разрыхлены и содержали очаги лизиса.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи слабо развит и представлял собой скопления дезорганизованных гладких мембран, окружённых электронно прозрачными везикулами. В цитоплазме отростков эндотелиоцитов присутствовало большое количество микропиноцитозных пузырьков (рис. 1а). Цитоплазматическая мембрана имела очаги разрыхления и лизиса. В просвете капилляров, кроме клеточных элементов крови обнаруживались скопления дегенеративно изменённых фрагментов мембран и органелл, а также аморфные бесструктурные массы, обладающие различной электронной плотностью (рис. 1б).

Миосателлитоциты имели ядра типичных размеров, в которых располагался преимущественно

конденсированный хроматин, глыбки которого локализовались по периферии матрикса ядра, в виде осмиофильного кольца. Ядерная мембрана сохраняла четко контурированную структуру и образовывала большое количество мелких и глубоких инвагинаций. В центральной области матрикса ядра локализовались гранулы деконденсированного хроматина и рибосомы. Перинуклеарные пространства имели постоянную ширину на всем протяжении среза (рис. 2).

Немногочисленные митохондрии заполнены мелкозернистым матриксом, обладающим средней электронной плотностью. Наружные мембраны и кристы без существенных нарушений. Наблюдается умеренное набухание митохондрий. Гранулярный эндоплазматический ретикулум имел вид уплощенных цистерн, заполненных субстанцией очень низкой электронной плотности. На мембранах гранулярного эндоплазматического ретикулума присутствовало большое количество рибосом.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи хорошо развит, его гладкие мембраны параллельно ориентированы и собраны в стопки. В области локализации пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи в некоторых клетках выявлялись мелкие включения липидов. Цитоплазматическая мембрана имела структуру, присущую элементарной мембране.

Анализ субмикроскопической архитектоники эндотелиальных клеток кровеносных капилляров ткани бедренной мышцы через 60 суток после огнестрельного ранения выявил полиморфные нарушения органелл этих клеток, варьирующие по глубине и степени выраженности от дистрофических до деструктивных.

Подавляющее число эндотелиальных клеток имели типичное строение. Органеллы в них развиты хорошо, деструкций внутриклеточных мембранных структур не выявлено. В цитоплазме отростков обнаруживались многочисленные микропиноцитозные пузырьки.

Цитоплазматическая мембрана, обращённая в просвет капилляра четко контурирована, без очагов разрыхления и лизиса. В просвете капилляра сохранилась мелко филаментозная, диффузно рассеянная субстанция (рис. 3а).

Эндотелиальные клетки, имели ядра неправильной формы, ядерная мембрана была разрыхлена и образовывала глубокие и мелкие инвагинации. Осмиофильные глыбки конденсированного хроматина располагались на внутренней мембране ядра. Гранулы деконденсированного хроматина и рибосомы диффузно рассеяны в центральной области матрикса ядра. Перинуклеарные пространства были неравномерно расширены и заполнены электронно-прозрачной субстанцией (рис. 3б). Митохондрии варьировали по форме и размерам, содержали небольшое количество укороченных и дезорганизованных крист. Матрикс митохондрий мелко гранулярный, средней электронной плотности. Разрушений наружных мембран и крист не выявлено.

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума умеренно расширены, на его мембранах обнаруживались многочисленные рибосомы. Цитоплазма эндотелиальных клеток заполнена

большим количеством свободных рибосом и полисомом, которые располагались в виде скоплений.

Наряду с этим в препаратах обнаруживались кровеносные капилляры, эндотелиоциты, которых содержали дистрофические и даже деструктивные нарушения (рис. 3в). Ядра таких эндотелиоцитов содержали электронно-плотный, гомогенный бесструктурный матрикс. Ядерная мембрана была сильно разрыхлена с очагами разрушения и образовывала глубокие инвагинации. Перинуклеарные пространства сужены, однако имеют локальные очаги расширения. Цитоплазматическая мембрана, обращённая в просвет капилляра подвержена очаговому разрушению. Митохондрии сильно набухшие с электронно-прозрачным матриксом и лизированными кристами. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулула вакуолизированы. В цитоплазме присутствовали единичные рибосомы и полисомы. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован, в области его локализации располагались беспорядочно ориентированные фрагменты гладких мембран, вторичные лизосомы и включения липидов.

В просвете капилляра иногда обнаруживались дегенеративно изменённые органеллы, фрагменты разрушенных мембран и аморфная субстанция различной степени осмиофилии (рис. 3г).

Ультраструктурная организация миосателлитоцитов свидетельствовала о их сравнительно высокой функциональной активности. Изменения митохондрий носили полиморфный характер. Часть митохондрий имела различную форму и размеры. Матрикс митохондрий просветлён, преимущественно низкой электронной плотности и содержал включения грубо комковатой аморфной субстанции. Кристы и наружные мембраны подавляющего числа митохондрий не имели очагов деструкции. Гранулярный эндоплазматический ретикулум хорошо развит, на его мембранах много рибосом, цистерны умеренно расширены. Цитоплазма содержит многочисленные свободно лежащие полисомы и рибосомы.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи гипертрофирован, стопки параллельно ориентированных гладких мембран окружены множеством мелких везикул. Вторичные лизосомы и включения липидов в цитоплазме отсутствовали.

Вместе с тем, в препаратах обнаруживались единичные миосателлитоциты с деструктивно изменёнными органеллами (рис. 4).

Ядерная мембрана образовывала неглубокие инвагинации. Наблюдается повышение степени осмиофилии ядерной мембраны. Гранулы конденсированного хроматина и рибосомы диффузно распределялись в центральной области матрикса ядра. Перинуклеарные пространства не расширены и сохраняли постоянную ширину на всем протяжении среза ядра. В перинуклеарной зоне цитоплазмы практически отсутствовали органеллы. Она была заполнена аморфной бесструктурной субстанцией средней электронной плотности. Митохондрии миосателлитоцитов набухшие с очагами лизиса митохондриальных мембран. Разрушение наружных мембран и крист митохондрий, сопровождалось

гомогенизацией матрикса, который приобретал высокую электронную плотность и аморфную структуру.

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулула сильно расширены, а мембраны фрагментированы. Довольно часто в цитоплазме миосателлитоцитов обнаруживались миелопоподобные структуры, вторичные лизосомы и фрагментированные мембраны саркоплазматического ретикулула.

Проведенное электронно-микроскопическое исследование особенностей ультраструктурной организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров бедренных мышц кролей на 30 сутки после огнестрельного ранения выявило с одной стороны наличие дистрофических изменений внутриклеточных структур, с другой стороны и активацию репаративной активности.

Выявленные дистрофические изменения эндотелиоцитов кровеносных капилляров в виде набухания митохондрий, расширения перинуклеарных пространств и цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулула, а также присутствие в саркоплазме вторичных лизосом, что свидетельствует о протекании катаболических внутриклеточных процессов связанных с нарушением клеточной биоэнергетики. Структурно это подтверждается резким уменьшением количества крист митохондрий и снижением электронной плотности их матрикса, что характерно для развития митохондриальной дисфункции. Следствием этих нарушений является снижение сократительных возможностей миосимпласта.

Кроме того, у части миосимпластов выявлялись нарушения ультраструктурной организации с явно выраженным преобладанием деструктивных нарушений, таких как очаговый лизис ядерной мембраны, наружной мембраны и крист митохондрий, истончение и разрыхление миофибрилл.

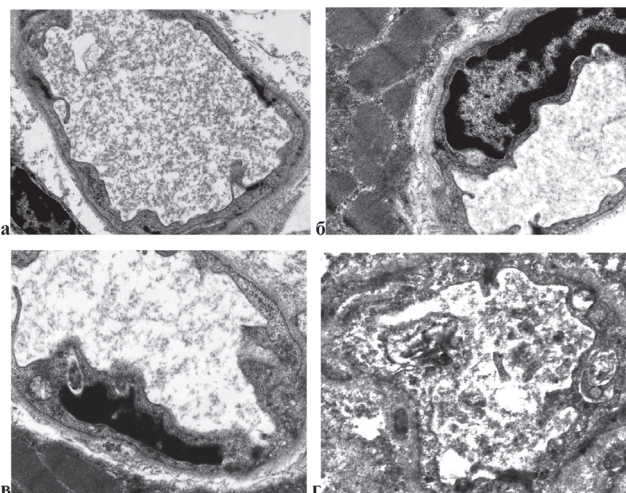


Рис. 3. Ультраструктура кровеносных капилляров мышц бедра кролей на 60 сутки после огнестрельного ранения.

Контрастировано цитратом свинца.

а — микропузырьки в цитоплазме отростков. $\times 50\ 000$. **б** — инвагинации ядерной мембраны и конденсация хроматина. $\times 37\ 000$. **в** — деструкция митохондрий, лизис ядерной мембраны, гомогенизация матрикса ядра, разрушение цитоплазматической мембраны. $\times 35\ 000$. **г** — дегенеративно изменённые фрагменты мембран и органелл, детрит осмиофильной аморфной субстанции в просвете капилляра. $\times 34\ 000$.

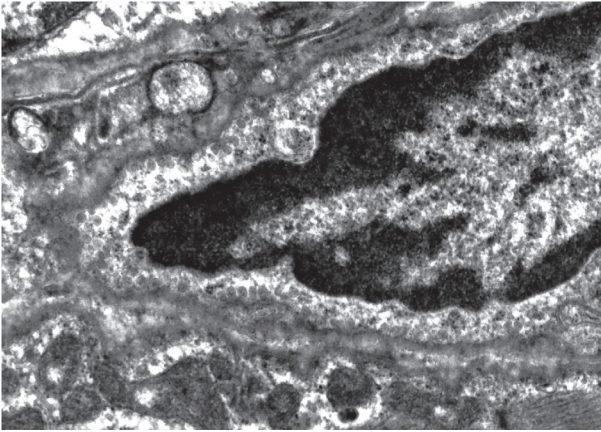


Рис. 4. Ультраструктура миосателлитоцитов мышечного волокна мышц бедра кролей на 60 сутки после огнестрельного ранения. Конденсация хроматина и скопление рибосом и полисом в перинуклеарной области цитоплазмы.

Контрастировано цитратом свинца. x 55 000.

В целом ультраструктурные перестройки органелл эндотелиоцитов кровеносных капилляров сохраняют умеренно выраженные нарушения, глубина и степень выраженности которых, находится в физиологических пределах компенсации.

Наряду с этим в препаратах присутствуют эндотелиоциты, обладающие высокой метаболической активностью, что косвенно подтверждается присутствием в цитоплазме отростков многочисленных микропиноцитозных пузырьков.

Субмикроскопическая архитектура миосателлитоцитов свидетельствует о высокой активности синтетических и репаративных внутриклеточных процессов, структурным подтверждением которых является увеличение количества гранул гликогена, рибосом и полисом в саркоплазме.

Анализ субмикроскопической архитектуры органелл эндотелиоцитов кровеносных капилляров бедренной мышцы кролей на 60 сутки после огнестрельного ранения показал, что восстановление типичной ультраструктурной организации и в этот срок не наступает. Сохраняется митохондриальная дисфункция, а также очаговый лизис внутриклеточных мембран. Эти нарушения свидетельствуют, что процесс восстановления субмикроскопической архитектуры к 60 суткам эксперимента не заканчивается.

Выводы

1. Исследование особенностей ультраструктурной организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров бедренных мышц кролей на 30 сутки после огнестрельного ранения выявило наличие, как дистрофических изменений внутриклеточных структур, так и элементы деструкции органелл.

2. Изменения митохондрий эндотелиоцитов кровеносных капилляров и присутствие в цитоплазме вторичных лизосом свидетельствуют о протекании катаболических внутриклеточных процессов, связанных с нарушением клеточной биоэнергетики развивающейся митохондриальной дисфункции.

3. В препаратах обнаруживаются эндотелиоциты кровеносных капилляров, обладающие высокой метаболической активностью, что косвенно подтверждается присутствием в цитоплазме их отростков многочисленных микропиноцитозных пузырьков.

4. Субмикроскопическая архитектура миосателлитоцитов свидетельствует о высокой активности синтетических и репаративных внутриклеточных процессов, структурным подтверждением которых является увеличение количества гранул гликогена, рибосом и полисом в саркоплазме, что позволяет констатировать течение пролиферации нарушенных миосимпласмов.

5. Анализ субмикроскопической архитектуры органелл эндотелиоцитов кровеносных капилляров бедренной мышцы кролей на 60 сутки после огнестрельного ранения показал, что восстановление типичной ультраструктурной организации и в этот срок не наступает. Сохраняется митохондриальная дисфункция, а также очаговый лизис внутриклеточных мембран.

6. В целом ультраструктурные перестройки органелл эндотелиоцитов кровеносных капилляров сохраняют умеренно выраженные нарушения, глубина и степень выраженности которых, находится в физиологических пределах компенсации.

Перспективы дальнейших исследований.

Перспективным является дальнейшее исследование ультраструктурных изменений, возникающих в кровеносных капиллярах мышц после огнестрельного ранения. Это позволит разработать и обосновать применение новых, более эффективных методов лечения и реабилитации раненых с огнестрельными ранениями мягких тканей.

Литература

1. Военно-польова хірургія: підручник / [За редакцією Я.Л. Заруцького, В.М. Запорожана]. – Одесса: ОНМедУ, 2016. – 416 с.
2. Котельников Г.П. Динамика реактивной перестройки микроциркуляторных модулей различных типов скелетных мышц после огнестрельного повреждения в эксперименте / Г.П. Котельников, П.А. Гелашвили // Казанский медицинский журнал. – 2005. – № 4. – С. 338-341.
3. Филимонова Г.Н. Морфофункциональная характеристика капилляров эндомизия передней большеберцовой мышцы при distractionном остеосинтезе по Илизарову / Г.Н. Филимонова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 11. – С. 126-130.
4. Beekley A.C. Combat trauma experience with the United States Army 102nd Forward Surgical Team in Afghanistan / A.C. Beekley, D.M. Watts // American J.S. – 2004. – Vol. 187, № 5. – P. 652-654.
5. Cavazos J.C. Epidemiology of gunshot wounds in the University Hospital «Dr. Josй Eleuterio Gonzбlez» of the Autonomous University of Nuevo Leyn / J.C. Cavazos, J.P. Zertuche, F.R. Serуveda, N.A. Villalobos, L.A. Lypez, G.M. Maldonado // Cirugna y Cirujanos. – 2017. – № 85 (1). – P. 41-48.
6. Rana M. Management of comminuted but continuous mandible defects after gunshot injuries / M. Rana, R. Warrach, A. Rashad, C. von See, K.A. Channar, M. Stoetzer // Injury. – 2012. – Vol. 45, Issue 1. – P. 206-211.

УДК 612.014.2:611.161:616-001.45

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ МІОСАТЕЛІТОЦИТІВ І ЕНДОТЕЛІОЦИТІВ КРОВОНОСНИХ КАПІЛЯРІВ М'ЯЗІВ ПІСЛЯ ВОГНЕПАЛЬНОГО ПОРАНЕННЯ

Михайлузов Р. М., Невзоров В. П., Невзорова О. Ф.

Резюме. Представлені результати електронно-мікроскопічних досліджень міосателітоцитів і ендотеліоцитів кровоносних капілярів м'язів кролів після експериментального вогнепального поранення м'яких тканин. Виявлено, що на 30 добу після вогнепального поранення зберігаються зміни ядер ендотеліоцитів гемокапілярів, хроматину та ядерної мембрани, характерні для дистрофічних порушень субмікроскопічної організації ендотеліоцитів кровоносних капілярів. На 60 добу після вогнепального поранення повне відновлення типової архітекtonіки органел ендотеліоцитів кровоносних капілярів м'язів не наступає. Виявлені ультраструктурні порушення ендотеліоцитів кровоносних капілярів знаходяться в межах фізіологічної компенсації.

Ключові слова: вогнепальне поранення, міосателітоцити, ендотеліоцити кровоносних капілярів м'язів.

УДК 612.014.2:611.161:616-001.45

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОСАТЕЛЛИТОЦИТОВ И ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЛЯРОВ МЫШЦ ПОСЛЕ ОГНЕСТРЕЛЬНОГО РАНЕНИЯ

Михайлузов Р. Н., Невзоров В. П., Невзорова О. Ф.

Резюме. Представлены результаты электронно-микроскопических исследований миосателлитоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров мышц кролей после экспериментального огнестрельного ранения мягких тканей. Выявлено, что на 30 сутки после огнестрельного ранения сохраняются изменения ядер эндотелиоцитов гемокапилляров, хроматина и ядерной мембраны, характерные для дистрофических нарушений субмикроскопической организации эндотелиоцитов кровеносных капилляров. На 60 сутки после огнестрельного ранения полное восстановление типичной архитектоники органелл эндотелиоцитов кровеносных капилляров мышц не наступает. Выявленные ультраструктурные нарушения эндотелиоцитов кровеносных капилляров находятся в пределах физиологической компенсации.

Ключевые слова: огнестрельное ранение, миосателлитоциты, эндотелиоциты кровеносных капилляров мышц.

UDC 612.014.2:611.161:616-001.45

THE ULTRASTRUCTURAL CHANGES MIOSATELLIT AND ENDOTHELIAL CELLS OF BLOOD CAPILLARIES IN THE MUSCLES AFTER A GUNSHOT WOUND

Mihaylusov R. N., Nevzorov V. P., Nevzorova O. F.

Abstract. One of the urgent problems of modern surgery is the treatment of soft tissue of gunshot wounds. This category of the wounded is the most numerous in the conduct of active hostilities. A possible way to improve the surgical treatment of gunshot wounds – an analysis and further practical use of received-depth knowledge of ultrastructural changes occurring in the blood capillaries of muscles at different times after a gunshot wound.

The purpose of work – to reveal features of submicroscopic rearrangements architectonic myosatellite and endothelial cells of capillaries in skeletal muscle in the area of a gunshot wound, as well as the dynamics of transformation of organelles and intracellular membranes at different times experimentally simulated gunshot injuries.

Materials and methods. Simulation of gunshot wounds to the soft tissue was performed on rabbits breeding line, rock «Chinchilla», which was inflicted gunshot wound to the thigh soft tissues of the small-bore rifle «Ural» and a gun «Fort 17» with power chuck. All animals were male. The weight of animals ranged from 2200 to 3000 g, the average weight of the animals was 2620±120 g.

Experimental animals were derived from the experience of 30 and 60 days, and was carried out taking pieces of tissue for electron microscopic examination.

Results and discussion. After 30 days after modeling a gunshot wound to the thigh muscles of dystrophic violations persist submicroscopic organization of endothelial cells of blood capillaries. The nuclei of endothelial hemocapillars had an elongated shape, the chromatin of the nuclei was in condensed and concentrated along the nuclear membrane. The nuclear membrane contains small pockets of loosening and formed numerous shallow and deep intussusception. In some endothelial cells present a nucleus with small focal destruction karyotheca.

Analysis of submicroscopic architectonic endothelial cells of blood capillaries thigh muscle tissue 60 days after a gunshot wound showed polymorphic violation organelles of cells that vary in the depth and severity of dystrophic to destructive.

Endothelial cells have an irregular shape of the nucleus, nuclear membrane is loosened and formed a deep and shallow intussusception. Osmiophil condensed chromatin clumps located at the inner nuclear membrane.

Conclusions. Investigation of the features of the ultrastructural organization of endothelial cells of blood capillaries thigh muscles of rabbits for 30 days after a gunshot wound revealed the presence of as degenerative changes of intracellular structures, and elements of the organelle degradation. Changes in mitochondrial endothelial cells of blood capillaries and the presence of secondary lysosomes in the cytoplasm indicates the occurrence of intracellular catabolic processes associated with impaired cellular bioenergetics developing mitochondrial dysfunction.

Analysis of architectonic submicroscopic organelles endothelial cells of blood capillaries thigh muscles of rabbits for 60 days after a gunshot wound showed that the recovery of typical ultrastructural organization in this period does not occur. Saved mitochondrial dysfunction and focal lysis of intracellular organelles membran. The ultrastructural reorganization of endothelial cells of blood capillaries remain moderately expressed disturbances, depth and severity, which is in the physiological range of compensation.

Keywords: gunshot wound, myosatellite and endothelial cells of blood capillaries of muscles.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 08.02.2017 року