

УДК 616.381-002089.85  
DOI: 10.24061/1727-0847.16.1.2017.83

**В.В.Бойко**<sup>\*,\*\*</sup>, **П.Н.Замятин**<sup>\*,\*\*</sup>, **Ю.Н.Соловей**<sup>\*\*\*</sup>, **А.И.Трубчанин**<sup>\*\*</sup>, **В.П.Невзоров**<sup>\*</sup>,  
**О.Ф.Невзорова**<sup>\*</sup>

ГУ "Институт общей и неотложной хирургии им. В.Т. Зайцева НАМНУ"<sup>\*</sup>; Харьковский национальный медицинский университет<sup>\*\*</sup>; ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет"<sup>\*\*\*</sup>

## СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК БРЮШИНЫ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ СИНДРОМА СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ

**Резюме.** В работе представлены результаты проведенных исследований по выявлению субмикроскопических изменений клеток брюшины у больных с осложнениями после острой хирургической патологии органов брюшной полости при формировании синдрома системной воспалительной реакции (ССВР). Сделаны выводы, что при ССВР активируются катаболические процессы, что проявляется наличием в цитоплазме включений липидов и вторичных лизосом, либо тотальным необратимым разрушением органелл и внутриклеточных мембран. Септическое поражение брюшины активирует апоптоз мезотелиальных клеток, на что указывает появление в препаратах клеток с фрагментированными ядрами. ССВР вызывает разрушение и дезинтеграцию базальных мембран, поверхностного волнистого коллагенового слоя, а также поверхностные и глубокие слои эластической сети. При этом деформационные трансформации внутриклеточных мембран сопровождаются резким уменьшением числа их деформаций, что характеризует снижение активности.

**Ключевые слова:** синдром системной воспалительной реакции, субмикроскопические изменения клеток брюшины, апоптоз клеток.

Анализ мировых литературных источников показывает тенденции роста числа осложненных гнойно-септических осложнений у больных молодого и среднего возраста, что обуславливает социальную значимость проблемы [1-3]. Септическая полиорганная дисфункция развивается у 40-70% больных со 100% летальностью при неэффективном лечении, что определяет высокую актуальность данной проблемы [4, 5]. Предупреждение гнойно-септических осложнений после операций на органах брюшной полости и их комплексное лечение является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины [6, 7]. Эти осложнения занимают особое место среди заболеваний органов брюшной полости из-за увеличения числа больных с осложненным течением заболевания, частым развитием ССВР, сепсиса и синдрома полиорганной дисфункции (СПОД) с высокой летальностью, которая может достигать 80-100% [8-10]. Известно, что функциональные нарушения метаболизма клеток в составе ткани органа и организма в целом не существуют без изменения их ультраструктурной организации [11, 12]. Изучение тонких механизмов трансформации мембранной системы клеток и их органелл, установление закономерностей динамики развития этих изменений необходимы как для понимания

патогенеза формирования ССВР и СПОД, так и для разработки последующих мер профилактики и тактики лечебных мероприятий [13-15].

**Цель работы:** изучить патофизиологические механизмы развития гнойно-септических осложнений после операций на органах брюшной полости с помощью современных технологий и методов исследования исследования клеток брюшинного покрова на субмикроскопическом уровне.

**Материал и методы.** Для электронно-микроскопического исследования у септических больных с острой хирургической патологией, осложненной СПОД на фоне формирования ССВР, во время оперативного вмешательства на органах брюшной полости производился забор кусочков ткани брюшины [16].

Образцы сразу после иссечения помещались в каплю фиксатора и измельчались для электронно-микроскопического исследования. Затем ткань для предварительной фиксации переносили в 2,5% забуференный раствор глутаральдегида на 2-3 часа при температуре 4 °С. По окончании предварительной фиксации, ткань промывали в буферном растворе и помещали для окончательной фиксации в 1% забуференный раствор четырехоксида осмия на 2-3 часа при температуре 4 °С. Дегидратацию осуществляли в спиртах возраст-

таючої концентрації і ацетоне. Пропитували тканину в сумі епоксидних смол (эпонаралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температурі 4 °С в течение двух суток [17].

Из полученных блоков, на ультрамикротоме УМТП-3, получали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и, после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кВ [18].

**Результаты исследования и их обсуждение.** Электронно-микроскопическое изучение ультраструктурной организации брюшины больных с ССВР и СПОД выявило наличие широкого спектра структурных нарушений от компенсаторно-адаптационных до дистрофических с элементами деструкции внутриклеточных мембранных комплексов. В препаратах встречались мезотелиальные клетки с тотально разрушенными органеллами, а также клеток находящиеся в различных стадиях апоптоза. Наряду с этим, часть мезотелиальных клеток находилась на достаточно высоком уровне метаболической активности, сопровождающейся появлением в цитоплазме дистрофически измененных органелл, что свидетельствует о включении компенсаторно-адаптационных резервных внутриклеточных процессов.

В цитоплазме отдельных мезотелиоцитов отмечается умеренная гиперплазия мембран гранулярной эндоплазматической сети. Его цистерны обстаются значительно расширенными. Увеличивается количество, как связанных с мембранами эндоплазматической сети, так и свободно лежащих в цитоплазме рибосом. Уменьшается количество очагов деструкции наружных мембран и крист митохондрий. Наблюдается слабо выраженная гипертрофия пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. Сохраняется параллельная ориентация его гладких мембран, которые собраны в стопки.

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума существенно расширены. Фрагментация их мембран отсутствовала. Небольшое количество мезотелиоцитов содержат хорошо развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум, находящийся в стадии гиперплазии. Число связанных с его мембранами рибосом достаточно велико. В мезотелиоцитах большое количество свободно лежащих в цитоплазме рибосом и полисом. Гиалоплазма имела среднюю электронную плотность. Цитоплазматическая мембрана разрыхлена, утолщена, однако очаги лизиса её отсутствовали.

В отдельных мезотелиальных клетках появлялись выраженные гиперпластические изменения субмикроскопической архитектоники. Ядра

этих мезотелиальных клеток приобретали вытянутую форму. Ядерная мембрана сохраняла мелкие очаги деформации. Хроматин ядер находился преимущественно в деконденсированной форме, его гранулы диффузно распределялись по площади среза. Небольшое количество глыбок конденсированного хроматина располагалось вблизи ядерной мембраны. Центральная область матрикса ядра была заполнена гранулами деконденсированного хроматина и большим количеством рибосом. Перинуклеарные пространства имели равномерную ширину на всём протяжении среза ядра. Цитоплазма мезотелиальных клеток обладала средней электронной плотностью, хорошо развитыми органеллами и содержала многочисленные полисомы и рибосомы. Матрикс митохондрий имел мелкозернистую структуру и среднюю электронную плотность.

Гиперплазия мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума сопровождается существенным увеличением числа деформаций, а также связанных с его мембранами рибосом. Также наблюдаются признаки повышения активности компенсаторно-адаптационных и репаративных процессов, в виде увеличения количества свободных рибосом и полисом, отсутствия очагов деструкции крист и наружных мембран митохондрий, гиперплазии мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума. В таких клетках гранулярный эндоплазматический ретикулум мезотелиальных клеток брюшины развит хорошо, однако сохраняются значительно расширенными его цистерны.

Количество рибосом, связанных с мембранами эндоплазматической сети, достаточно велико. Базальная мембрана утолщена, имеет извилистый вид, обладает неравномерной толщиной и различной электронной плотностью. Соединительнотканная основа брюшины, состоящая из эластических и коллагеновых волокон, обладает различной степенью осмиофилии. Пространство между пучками эластических волокон заполнено множеством микровезикул и бесструктурной аморфной субстанцией. Ультраструктура поверхностного волнистого коллагенового слоя изменена, его коллагеновые волокна дезорганизованы, иногда наблюдается разрушение коллагеновых и эластических волокон (рис. 1).

Следует подчеркнуть, что ССВР вызывает дистрофические и деструктивные изменения и ультраструктурной архитектоники кровеносных капилляров брюшины. Ядра эндотелиоцитов, выстилающих капилляры, имели конденсированный хроматин, осмиофильные глыбки которого концентрировались вдоль ядерной мембраны. Центральная область матрикса содержала небольшое количество гранул деконденсированного хрома-



Рис. 1. Ультраструктура соединительной ткани брюшины больных с ССВР. Дезорганизация коллагеновых волокон поверхностного волнистого слоя.  $\times 34000$  тина и единичные рибосомы. Перинуклеарные пространства имели участки сильного расширения и были заполнены электронно-прозрачной субстанцией. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума представлены крупными вакуолями низкой электронной плотности. На его мембранах отсутствовали рибосомы.

Митохондрии обладали электронно-плотным матриксом, тотально разрушенными наружными мембранами и кристами. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован и на электронных микрофотографиях визуализируется с трудом. В цитоплазме располагались скопления вторичных лизосом и включений липидов (рис. 2).

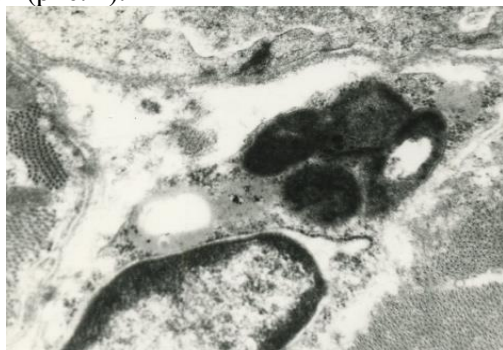


Рис. 2. Ультраструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров брюшины больных с ССВР. Вторичные лизосомы и включения липидов в цитоплазме, расширение перинуклеарного пространства.  $\times 70000$

Из представленного рисунка также видно, что цитоплазматическая мембрана, обращенная в просвет капилляра, разрыхлена, образовывала глубокие инвагинации и мелкие очаги лизиса. В просвете капилляра обнаруживались скопления эритроцитов в виде “сладжей”. В цитоплазме отростков эндотелиоцитов кровеносных капилляров брюшины отсутствовали микропиноцитозные пузырьки.

Следует подчеркнуть, что ССВР вызывает негативные изменения субмикроскопической архитектоники не только мезотелиальных клеток и эндотелиоцитов кровеносных капилляров, но и её соединительнотканых компонентов. Разрушению и дезинтеграции подвергаются базальные мембраны, поверхностный волнистый коллагеновый слой, а также поверхностные и глубокие слои эластической сети.

**Выводы.** 1. Септическое поражение брюшины активирует апоптозмезотелиальных клеток, на что указывает появление в препаратах клеток с фрагментированными ядрами. При ССВР активируются катаболические процессы, что проявляется наличием в цитоплазме включений липидов и вторичных лизосом. 2. В основе нарушений ультраструктуры кровеносных капилляров брюшины лежит митохондриальная дисфункция, которая способствует развитию деструктивных и дегенеративных внутриклеточных процессов, а также снижению метаболической активности, что подтверждается уменьшением количества микропиноцитозных пузырьков в цитоплазме отростков эндотелиоцитов. 3. ССВР вызывает разрушение и дезинтеграцию базальных мембран, поверхностного волнистого коллагенового слоя, а также поверхностные и глубокие слои эластической сети.

**Перспективы дальнейших исследований.** В дальнейшем необходимо провести исследования по установлению приоритетности нарушений биоэнергетических процессов, которые вызывали дистрофические изменения органелл септического поражения брюшины и связаны с включением механизмов компенсации.

#### Список использованной литературы

1. Застосування новітніх технологій у лікуванні хворих з гнійно-септичними ускладненнями / Є.Б. Медведєцький, І.І. Сударєв, В.В. Кричевський [та ін.] // *Клінічна хірургія*. – 2001. – № 7. – С. 62-64.
2. Козлов В.К. Сепсис: етіологія, імунітопатогенез, концепція сучасної імунотерапії / В.К. Козлов. – СПб.: Диалект, 2006. – 304 с.
3. Surveillance of Surgical Site Infection in England: October 1997. – September 2005. – London: Health Protection Agency, 2006.
4. Бойко В.В. Синдром системної запальної відповіді (SIRS). Сепсис: [метод. рекомендації] / В.В. Бойко, С.І. Макеєв, М.М. Голобородько. – Х.: ХНМУ, 2010. – 14 с.
5. Роль взаємовідносин нейтрофільних гранулоцитів, ендотеліоцитів та мононуклеарних макрофагів у виникненні і перебігу гнійно-септичного стану / Є.Б. Медведєцький, В.С. Зубов, А.М. Дубов [та ін.] // *Клінічна хірургія*. – 2003. – № 10. – С. 44-45.
6. Зотова Н.В. Новые интегральные показатели оценки выраженности системной воспалительной реакции при сепсисе / Н.В. Зотова, Е.Ю. Гусев, В.А. Руднов // *Интенсивная терапия*. – 2008. – № 1. – С. 26-31.
7. Молчанова Л.В. Систем-

ный воспалительный ответ и молекулы адгезии / Л.В. Молчанова // *Общая реаниматология*. – 2005. – Т. 1. – С. 54-59. 8. Бойко В.В. Деформация внутриклеточных органелл, возникающая в процессе развития патологических состояний / В.В. Бойко, В.П. Невзоров // *Експериментальна і клінічна медицина*. – 2002. – № 4. – С. 49-54. 9. Автандилов Г.Г. Системный стереометрический анализ ультраструктур клеток / Г.Г. Автандилов, В.П. Невзоров, О.Ф. Невзорова. – Издательство “Штиинца”, 1984. – 166 с. 10. Григорьев Е.В. Варианты повреждения гематоперитонеального транспорта при абдоминальном сепсисе: диагностика и интенсивная терапия: автореф. дис. на соиск.уч. ст. д-ра мед. наук. / Е.В. Григорьев. – Новокузнецк, 2004. – 23 с. 11. Апоптоз мононуклеаров и содержание погибших лейкоцитов в венозной крови больных с сепсисом / Н.В. Боровкова, В.Б. Хватов, И.В. Александрова [и др.] // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2009. – № 8. – С. 33-36. 12. Даценко Б.М. Критерии диагностики прогноза хирургического сепсиса / Б.М. Даценко // *Международный медицинский журнал*. – 2005. – № 2. – С. 84-90. 13. Десятерик В.І. Синдром відповіді на запалення, сепсис та поліорганна недостатність у хворих, оперованих з приводу деструктивного панкреатиту / В.І. Десятерик, Ю.М. Кривицкий, В.В. Шаповолок // *Клінічна хірургія*. – 2001. – № 4. – С. 24-26. 14. Мороз В.В. Абдоминальний сепсис / В.В. Мороз, Е.В. Григорьев, Ю.А. Чурляев. – М., 2006. – 192 с. 15. Перитоніт – одвічна проблема невідкладної хірургії / В.П. Польовий, В.В. Бойко, Р.І. Сидорчук [та ін.]. – Чернівці. – Медуниверситет, 2012. – 373 с. 16. Сучасна концепція лікування сепсису: мат. науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів [“Рани м’яких тканин. Проблеми шпитальної інфекції”] / Л.А. Харченко. – К.: 2007. – С. 65-68. 17. Lee J.S. Surgical site infection and analytic morphometric assessment of body composition in patients undergoing midline laparotomy / J.S. Lee, M.N. Terjimanian, L.M. Tishberg // *J. Am. Coll. Surg.* – 2011. – Vol. 213 (2). – P. 236-244. 18. Watanabe A. Risk factors associated with surgical site infection in upper and lower gastrointestinal surgery / A. Watanabe // *Surg. Today*. – 2008. – Vol. 38 (5). – P. 404-412.

#### СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ КЛІТИН ОЧЕРЕВИНИ ПРИ ФОРМУВАННІ СИНДРОМУ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ

**Резюме.** У роботі представлені результати проведених досліджень з виявлення субмікроскопічних змін кліток очеревини у пацієнтів з ускладненнями після гострої хірургічної патології органів черевної порожнини при формуванні синдрому системної запальної реакції (ССЗР). Зроблено висновки, що при ССЗР активізуються катаболічні процеси, що проявляється наявністю в цитоплазмі включених ліпідів і вторинних лізом або тотальним незворотнім руйнуванням органів і внутрішньоклітинних мембран. Септичне ураження очеревини активізує апоптозмезотеліальні клітини, про що засвідчує поява у препаратах клітин з фрагментованими ядрами. ССЗР викликає руйнування та дезінтеграцію базальних мембран, поверхневого осередкового колагенового шару, а також поверхневих і глибинних шарів еластичної мережі. При цьому деформаційні трансформації внутрішньоклітинних мембран супроводжуються різким зменшенням кількості деформацій, що характеризує зниження активності.

**Ключові слова:** синдром системної запальної реакції, субмікроскопічні зміни клітин очеревини, апоптоз клітин

#### SUBMICROSCOPIC CHANGES OF BRITTLE CELLS IN THE FORMATION OF SYNDROME OF SYSTEMIC INFLAMMATORY REACTION

**Abstract.** The paper presents the results of studies on the detection of submicroscopic changes in peritoneal cells in patients with complications after acute surgical pathology of the abdominal cavity organs during the formation of the systemic inflammatory reaction syndrome (SIRS). It is concluded that catabolic processes are activated in SIRS, which is manifested by the presence in the cytoplasm of lipid inclusions and secondary lysosomes, or by the total irreversible destruction of organelles and intracellular membranes. Septic abdominal damage activates apoptosis of mesothelial cells, as indicated by the appearance of cells with fragmented nuclei in the preparations. SIRS causes destruction and disintegration of basal membranes, surface wavy collagen layer, as well as surface and deep layers of the elastic network. Deformation transformations of intracellular membranes are accompanied by a sharp decrease in the number of their deformations, which characterizes the decrease in activity.

**Key words:** syndrome of systemic inflammatory reaction, submicroscopic changes in peritoneal cells, apoptosis of cells.

SI “Zaytsev Memorial Institute of General and Emergency Surgery NAMS of Ukraine” (Kharkiv);  
Kharkiv National Medical University (Kharkiv);  
Higher educational institution of Ukraine “Bukovina State Medical University” (Chernivtsi)

Надійшла 16.05.2017 р.  
Рецензент – проф. Давиденко І.С. (Чернівці)