

УДК 617.553-001-06:616.16-091

**УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МЕЗОТЕЛИОЦИТОВ И
ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЛЯРОВ БРЮШИНЫ
ПРИ ТРАВМЕ ОРГАНОВ ЗАБРЮШИННОГО ПРОСТРАНСТВА**

**В.В. Бойко^{1,2}, П.Н. Замятин^{1,2}, В.П. Невзоров¹, О.Ф. Невзорова¹,
Ю.И. Мирошниченко¹, С.Б. Пеев¹, Д.П. Замятин²**

*1 - ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В.Т. Зайцева
НАМНУ»*

2 - Харьковский национальный медицинский университет

Резюме. В статье рассмотрены вопросы исследования ультраструктуры мезотелиальных и эндотелиальных клеток кровеносных капилляров брюшины пострадавших с травмой органов забрюшинного пространства. При этом выявлены полиморфные нарушения, варьирующие от дистрофических до деструктивных и дегенеративных. Показано развитие митохондриальной дисфункции, которая является основной причиной снижения уровня активности репаративных процессов. Травма органов забрюшинного пространства активирует катаболические процессы, которые могут заканчиваться тотальным разрушением органелл, а также ускоряет апоптоз мезотелиальных клеток. Отдельные мезотелиальные клетки брюшины после травмы органов забрюшинного пространства находятся в стадии высокой метаболической активности, что свидетельствует о включении резервных внутриклеточных механизмов, направленных на коррекцию последствий травматического повреждения. На основании анализа уменьшения числа деформационных трансформаций внутриклеточных мембран при травматическом повреждении органов забрюшинного пространства сделано заключение о снижении активности процессов пьезобиосинтеза.

Ключевые слова: травма живота, пьезобиосинтез, ультраструктура клеток брюшины, митохондриальная дисфункция, апоптоз.

Введение. На современном этапе достаточно изученными у пострадавших с травматическими повреждениями таза и внутритазовых органов считаются вопросы клинико-диагностической и хирургической тактики [4, 6, 7, 9]. После открытия пьезобиосинтеза в биологических тканях на клеточно-молекулярном уровне стали более доступными концептуальные аспекты происходящих процессов внутри органелл клетки [2].

Известно, что функциональные нарушения метаболизма клеток в составе ткани органа и организма в целом не существуют без изменения их ультраструктурной организации [1].

Изучение тонких механизмов трансформации мембранный системы клеток брюшинного покрова и их органелл, установление закономерностей динамики развития этих изменений необходимы как для понимания патогенеза различных травм и заболеваний, так и для разработки мер профилактики и тактики лечебных мероприятий [3, 10].

Традиционные методы анализа электронно-микроскопических нарушений субмикроскопической архитектоники органелл клеток, являются стереотипными и, несмотря на их высокую информативность, не могут полностью охарактеризовать сущность происходящих патологических перестроек на уровне мембран и макромолекул [5].

Об активности метаболических процессов можно судить по количеству деформаций мембран, которые визуализируются на электронно-микроскопических изображениях срезов мембран. При этом количество деформаций пропорционально интенсивности внутриклеточных синтетических, reparативных и обменных процессов, протекающих на субклеточном уровне.

Всестороннее изучение процессов жизнедеятельности организма на клеточном уровне позволяет выйти на новый уровень решения задачий в разных областях биологии, медицины, фармакологии и окружающей среды [8].

Целью настоящей работы явилось выявление особенностей ультраструктурных перестроек органелл мезотелиальных клеток и эндотелиоцитов кровеносных капилляров брюшины после ее травматизации при повреждениях таза и органов забрюшинного пространства.

Материал и методы. Для электронно-микроскопического исследования во время оперативного вмешательства на органах брюшной полости производился забор кусочков ткани брюшины у пострадавших с травматическими повреждениями таза и внутритазовых органов.

Кусочки ткани для электронно-микроскопического исследования сразу после иссечения помещались в каплю фиксатора и измельчались. Затем ткань, для предварительной фиксации, переносили в 2,5% забуференный раствор глютаральдегида на 2-3 часа при температуре 4°C. После проведения предварительной фиксации, ткань промывали в буферном растворе и помещали для окончательной фиксации в 1% забуференный раствор четырехокиси осмия на 2-3 часа при температуре 4°C. Дегидратацию осуществляли в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. Пропитывали ткань в смеси эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60°C в течение двух суток. Далее из полученных блоков с помощью ультрамикротома УМТП-3 получали ультратонкие срезы, которые монтировали на

электролитические сеточки и изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кВ после контрастирования цитратом свинца.

Результаты и их обсуждение. При электронно-микроскопическом изучении ультраструктурной организации брюшины пострадавших с травмой таза и забрюшинного пространства был установлен широкий спектр структурных изменений (от компенсаторно-адаптационных до дистрофических) с элементами деструкции внутриклеточных мембранных комплексов. В препаратах встречались мезотелиальные клетки с totally разрушенными органеллами, а также клетки, находящиеся в различных стадиях апоптоза.

Ядра части мезотелиальных клеток имели неправильную удлинённую форму, ядерная мембрана образовывала многочисленные глубокие и мелкие инвагинации. Перинуклеарные пространства неравномерно расширены и имели вид электронно-прозрачных вакуолей, заполненных электронно-прозрачным веществом. Ядерная мембраны разрыхлена, осмиофильна, а зачастую наблюдались множественные очаги её деструкции. Глыбки конденсированного хроматина располагались в виде плотного кольца в непосредственной близости к ядерной мемbrane. Небольшое количество гранул деконденсированного хроматина и рибосом диффузно рассеяны в центральной области матрикса ядра (рис. 1).



Рис. 1. Ультраструктура мезотелиальных клеток брюшины больных с травмой таза и забрюшинного пространства: просветление центральной области матрикса ядра, конденсация хроматина. x 78 000

Форма и размеры митохондрий широко варьировали. Матрикс митохондрий имел низкую электронную плотность и содержал грубо

волокнистую субстанцию. Подавляющее количество митохондрий содержало единичные кристы, а наружные мембранны имели очаги лизиса. Встречались митохондрии с электронно-плотным, гомогенизированным матриксом и очагово разрушенные наружными мембранами и кристами (рис. 2).

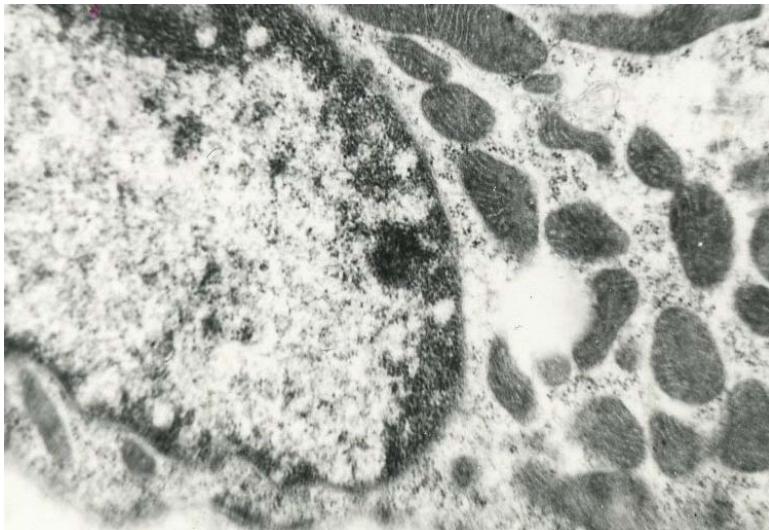


Рис. 2. Ультраструктура мезотелиальных клеток брюшины больных с травмой таза и забрюшинного пространства: гомогенизированный матрикс митохондрий, очаговый лизис наружных мембран и крист. х 52 000

Гиалоплазма мезотелиальных клеток имела низкую электронную плотность и содержала небольшое количество свободно лежащих в цитоплазме рибосом и полисом.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован и представлен в виде отдельно лежащих дезорганизованных гладких мембран, окружённых небольшим количеством крупных электронно-прозрачных вакуолей.

В области его локализации обнаруживались многочисленные вторичные лизосомы, в структуре которых визуализировались фрагменты дегенеративно-изменённых мембранных структур и массы аморфного осмиофильного вещества, вероятно, липопротеидной природы.

Базальная мембрана имела участки локального расширения и обладала неравномерной электронной плотностью. Цитоплазматическая мембрана разрыхлена, осмиофильна, теряла четко контурированную структуру, а зачастую была утолщенной.

В препаратах встречались мезотелиальные клетки, находящиеся в стадии некробиоза.

Гиалоплазма таких мезотелиоцитов имела электронно-прозрачный вид, что указывало на наличие внутриклеточного отёка. Ядра приобретали округлую форму, электронно-прозрачный матрикс.

Митохондрии их содержали totally разрушенные наружные мембранны и кристы.

Матрикс митохондрий гомогенизирован и обладал высокой электронной плотностью.

Митохондрии некробиотически-изменённых мезотелиальных клетках имели вид вакуолей, заполненных аморфным осмиофильным веществом (рис. 3).



Рис. 3. Ультраструктура мезотелиальных клеток брюшины больных с травмой таза и забрюшинного пространства: деструкция наружных мембран и крист митохондрий. x 42 000

Цистерны гранулярной эндоплазматической сети имели высокую степень вакуолизации, на мембранных поверхностях её практически отсутствовали рибосомы.

Нередко встречались очень крупные электронно-прозрачные вакуоли, характерные для агонирующих клеток (рис. 4).



Рис. 4. Ультраструктура мезотелиальных клеток брюшины больных с травмой таза и забрюшинного пространства: тотальное разрушение органелл в цитоплазме, крупные электронно-прозрачные вакуоли. x 39 000

Зачастую обнаруживалась фрагментация мембран гранулярной эндоплазматической сети. Свободные рибосомы и полисомы в цитоплазме мезотелиальных клеток отсутствовали. Следует подчеркнуть, что подавляющее количество внутриклеточных мембран не имели явно выраженных деформаций.

В результате травматического повреждения мезотелиоциты брюшины содержали редуцированный пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи представленный в виде отдельных фрагментов дезорганизованных гладких мембран, окружённых единичными крупными электронно-прозрачными вакуолями и скоплениями крупных и мелких вторичных лизосом, а также включений липидов (рис. 5).

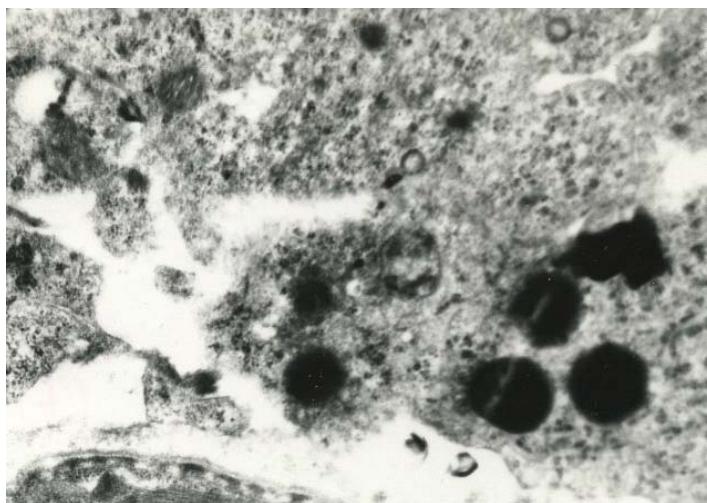


Рис. 5. Ультраструктура мезотелиальных клеток брюшины больных с травмой таза и забрюшинного пространства: скопление вторичных лизосом и включений липидов в цитоплазме. $\times 45\,000$

В отдельных мезотелиоцитах можно было наблюдать очаги некроза цитоплазмы, в структуре которых присутствовали скопления фрагментов дегенеративно изменённых мембран и бесструктурного аморфного вещества различной электронной плотности. Цитоплазматическая мембрана разрыхлена, утолщена и осмиофильна. Иногда встречались очаги её лизиса. В отдельных клетках цитоплазматическая мембрана была totally разрушена.

В препаратах присутствовали мезотелиальные клетки находящиеся на различных стадиях апоптоза. В них наблюдается фрагментация ядер с уплотнением электронной плотности матрикса. Ядерный хроматин конденсирован. В цитоплазме располагались крупные вакуоли, в структуре которых находились миelinоподобные тельца (рис. 6).

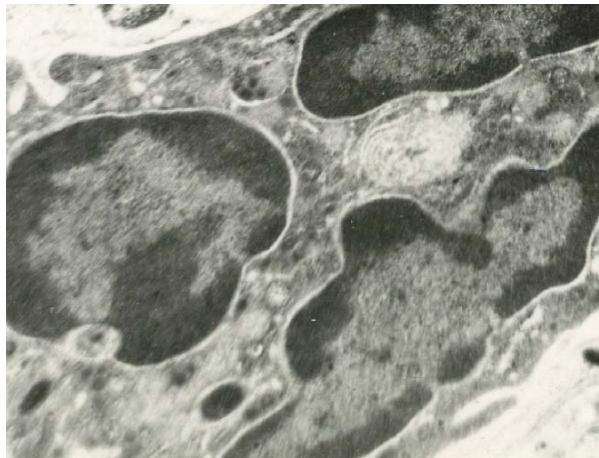


Рис. 6. Ультраструктура мезотелиальных клеток брюшины пострадавших с травмой таза и забрюшинного пространства: фрагментация ядра в клетке в условиях развития апоптоза. x 49 000

Электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры мезотелиальных и эндотелиальных клеток кровеносных капилляров брюшины пострадавших с травмой таза и забрюшинного пространства выявило полиморфизм нарушений органелл этих клеток. При этом выявлены клетки с дистрофическими, деструктивными нарушениями органелл и внутриклеточных мембранных структур, а также дегенеративно изменённые.

Развитие митохондриальной дисфункции структурно подтверждается изменением субмикроскопической архитектоники митохондрий клеток брюшины является основной причиной снижения уровня активности репаративных процессов. Частично сохранялись мезотелиальные клетки брюшины, субмикроскопическая архитектоника которых находится в фазе высокой метаболической активности, что свидетельствовало о включении резервных внутриклеточных механизмов, которые направлены на коррекцию последствий ее травматического повреждения.

При изучении электронно-микроскопических характеристик субклеточных структур различных тканей человека в условиях их механических деформаций, согласно концепции пьезобиосинтеза в биологических тканях, выявлена корреляция между механическими объемными деформациями, активностью метаболических и репаративно-синтетических процессов, протекающих на уровне мембран и макромолекул.

К новизне проведенного исследования следует отнести комплексность всех клеточных составляющих изучаемых тканей и ультраструктурной организации микроциркуляторного русла травмированной брюшины.

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования расширили представления и подтвердили приоритетность метаболических

нарушений в органах-мишениях у пострадавших с травмой таза и забрюшинного пространства, а также позволили дать прогностическую оценку дальнейшего развития патологических процессов, происходящих при указанном виде повреждений.

Література

1. Автандилов Г.Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1984. – 288 с.
2. 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.
3. Бойко В.В. Ультраструктурные изменения органелл мезотелиальных клеток пациентов спаечной болезнью брюшины / В.В. Бойко, Д.А. Евтушенко, В.П. Невзоров // Международный медицинский журнал. – 2014. – №2. – С. 46–50.
4. Замятин П.Н. Принципы организации медицинской помощи при политравме / П.Н. Замятин // Проблеми медичної науки та освіти. – 2006. – № 3. – С. 57–59.
5. Невзорова О.Ф. Субмикроскопические аспекты патогенеза полиорганной недостаточности / О.Ф. Невзорова, И.А. Тарабан, В.П. Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2010, – №4 (42). – С. 54–62.
6. Переломи кісток таза з пошкодженням тазових органів / І. Р. Трутяк, Ю. Я. Філь, Я.М. Лунь [та ін.] // Зб. наук. праць УВМА “Проблеми військової охорони здоров`я”. – 2008. – Вип. 22. – С. 132–139.
7. Хирургическая тактика при повреждениях таза и органов забрюшинного пространства. / под общ. ред. проф. В.В. Бойко, проф. П.Н. Замятиной – Х.: Степанов В.В., 2016. - 260 с.
8. Явление пьезобиосинтеза в биологических тканях / В.В. Бойко, П.Н. Замятин, В.И. Жуков [и др.]. – Материалы заявки на открытие. Диплом № 454, 2012. – 223 с.
9. Diagnostic peritoneal lavage remains a valuable adjunct to modern imaging techniques / J.Y. Cha, J.L. Kashuk, E.L. Sarin [et al.] // J. Trauma. — 2009. Vol. 67. – N.2. – P. 330-334.
10. Surgically important bowel and/or mesenteric injury in blunt trauma: accuracy of multidetector CT for evaluation /M. Atri, J.M. Hanson, L. Grinblat [et al.] // Radiology. – 2008; –Vol.249. –N.2. – P.524–533.

Резюме. У статті розглянуті питання дослідження ультраструктур мезотеліальних і ендотеліальних клітин кровоносних капілярів очеревини постраждалих з травмою органів заочеревинного простору. При цьому

виявлені поліморфні порушення, які варіюють від дистрофічних до деструктивних і дегенеративних. Показано розвиток мітохондріальної дисфункції, яка є основною причиною зниження рівня активності репаративних процесів. Травма органів заочеревинного простору активує катаболічні процеси, які можуть закінчуватися тотальним руйнуванням органел, а також прискорює апоптоз мезотеліальних клітин. окремі мезотеліальні клітини очеревини після травми органів заочеревинного простору знаходяться в стадії високої метаболічної активності, що свідчить про включення резервних внутрішньоклітинних механізмів, спрямованих на корекцію наслідків травматичного пошкодження. На підставі аналізу зменшення числа деформаційних трансформацій внутрішньоклітинних мембран при травматичному пошкодженні органів заочеревинного простору зроблено висновок про зниження активності процесів п'язобіосінтеза.

Ключові слова: травма живота, п'язобіосінтез, ультраструктура клітин очеревини, мітохондріальна дисфункція, апоптоз.

Summary. The article deals with the research of ultrastructure of mesothelial and endothelial cells of blood capillaries of the peritoneum with injuries of organs of the retroperitoneal space. At the same time, polymorphic disorders, ranging from dystrophic to destructive and degenerative, have been identified. The development of mitochondrial dysfunction is shown, which is the main reason for the decrease in the activity level of reparative processes. Injury of the organs of the retroperitoneal space activates catabolic processes, which can result in total destruction of the organelles, and also accelerates the apoptosis of the mesothelial cells. Individual mesothelial cells of the peritoneum after trauma to the organs of the retroperitoneal space are in the stage of high metabolic activity, which indicates the inclusion of reserve intracellular mechanisms aimed at correcting the consequences of traumatic injury. Based on the analysis of the decrease in the number of deformation transformations of intracellular membranes in traumatic damage of the organs of the retroperitoneal space, a conclusion was made about a decrease in the activity of piezobiosynthetic processes.

Key words: abdominal trauma, piezobiosynthesis, ultrastructure of peritoneum cells, mitochondrial dysfunction, apoptosis.