

УДК 612.086.3-741.9:616-001.45

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

Харьковская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины

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

НАМН Украины, г. Харьков

УЛЬТРАСТРУКТУРА МИОСИМПЛАСТОВ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ОГНЕСТРЕЛЬНОГО РАНЕНИЯ

В работе представлены результаты электронно-микроскопического исследования ультраструктурной организации миосимпластов скелетных мышц бедра кролика на 30-е и 60-е сутки после огнестрельного ранения. Выявлено, что дистрофические изменения внутриклеточных структур миосимпластов зачастую перерастают в деструктивную фазу. Отдельные органеллы миосимпластов подвержены дистрофическим изменениям в виде набухания митохондрий с уменьшением количества крист, расширения перинуклеарных пространств и конденсации ядерного хроматина на мембране ядра. Часть миосимпластов имеют выраженные деструктивные нарушения, которые свидетельствуют о преобладании катаболических процессов над репаративными и синтетическими. Представленные изменения субмикроскопической архитектоники миосимпластов находятся в пределах физиологической компенсации и являются обратимыми.

Ключевые слова: *огнестрельное ранение мягких тканей, ультраструктура миосимпласта, митохондриальная дисфункция.*

Лечение огнестрельных ранений до настоящего времени остается одной из важнейших проблем военной медицины [1, 2]. В современных войнах и вооруженных конфликтах частота огнестрельных ранений мягких тканей достигает 70 % [3–5]. Данная категория пострадавших наиболее многочисленная, а пострадавшие являются наиболее перспективными для возвращения в строй и тем самым представляют собой идеальный резерв для пополнения войсковым составом. Возросший интерес к раненым, имеющим перспективу возвращения в строй, характерен для деятельности военно-медицинских формирований всех высокоразвитых стран [6, 7].

Возможности улучшения результатов диагностики и хирургического лечения огнестрельных ран мягких тканей могут быть достигнуты путем углубления морфофунк-

циональных знаний особенностей течения раневого процесса на ультраструктурном уровне.

Цель работы – выявить особенности перестроек субмикроскопической архитектоники миосимпластов скелетных мышц в области моделированного огнестрельного ранения, а также динамику трансформаций органелл и внутриклеточных мембран в различные сроки.

Материал и методы. Экспериментальное моделирование огнестрельных ранений мягких тканей мышц бедра было выполнено на лабораторных животных – племенных кроликах-самцах одной линии породы шиншилла – выстрелом из мелкокалиберной винтовки «Урал» и пистолета «Форт-17» с усиленным патроном. Масса кролей составляла 2200–3000 г, средняя масса животных – (2620±120) г.

© Р.М. Михайлузов, В.П. Невзоров, О.Ф. Невзорова, 2016

Моделирование проводилось в сертифицированном стрелковом тире после согласования с соответствующими структурами МВД Украины.

Методики проведения экспериментов над животными соответствовали Хельсинкской декларации. Обезболивание и лишение жизни кроликов были выполнены согласно «Правилам выполнения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденным приказом МЗ Украины и Законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» (№ 1759-VI от 15.12.09).

Экспериментальных животных выводили из опыта на 30-е и 60-е сутки. Для электронно-микроскопического исследования брали кусочки ткани, которые помещали для предварительной фиксации в 2,5 % забуференный раствор глютарового альдегида на 5–6 часов при температуре 4 °С. 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 °С. 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 °С в течение 2 суток.

Из полученных блоков на ультрамикротоме LKB-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 20 000 – 60 000 крат.

Контролем качества гистологической обработки ткани служили биоптаты интактных экспериментальных животных.

Результаты и их обсуждение. При электронно-микроскопическом исследовании ультраструктурной организации миосимпластов скелетных мышц интактных экспериментальных животных показана адекватность гистологической обработки ткани, так как субмикроскопические структуры миосимпластов соответствовали современным представлениям. Сократительные элементы и мембраны, образующие органел-

лы, имеют четко контурированную структуру, присущую элементарной мембране, очагов деструкции не наблюдалось. В саркоплазме практически отсутствуют включения липидов и вторичные лизосомы.

В группе экспериментальных животных на 30-е сутки после огнестрельного ранения при электронно-микроскопическом исследовании выявлены изменения миосимпласта как дистрофического, так и деструктивного характера. Следует отметить, что изменения ультраструктур носят полиморфный характер. В одном и том же миосимпласте обнаружены дистрофические изменения с элементами локальной деструкции мембран, а также органеллы с деструкциями внутриклеточных мембран.

Ядра миосимпластов содержат матрикс повышенной электронной плотности. Ядерная мембрана разрыхленная. Перинуклеарные пространства равномерно расширены. Ядерный хроматин находится преимущественно в конденсированной форме, и его осмиофильные глыбки концентрируются вблизи ядерной мембраны. Деконденсированный хроматин и небольшое количество рибосом располагаются в центральной области среза ядра (рис. 1, а).

Наряду с этим встречаются ядра с очагово разрушенными ядерными мембранами. Перинуклеарные пространства у них неравномерно расширены.

Митохондрии имеют различную форму и электронно-прозрачный матрикс. Наружная мембрана митохондрий имеет разрыхленную структуру. Зачастую встречаются очаги деструкции. Кристы митохондрий беспорядочно ориентированы. В отдельных митохондриях наружная мембрана и кристы разрушены. В миосимпластах можно наблюдать разрушенные полностью митохондрии, которые представляют собой электронно-прозрачные вакуоли с вкраплениями грубокомковатой субстанции (рис. 1, б).

Миофибриллы располагаются параллельными рядами и заполняют значительную часть саркоплазмы. Пространства между миофибриллами заполнены большим количеством рибосом, полисом и гранул гликогена, которые группируются в виде скоплений.

Цистерны саркоплазматической сети расширены и заполнены субстанцией низкой

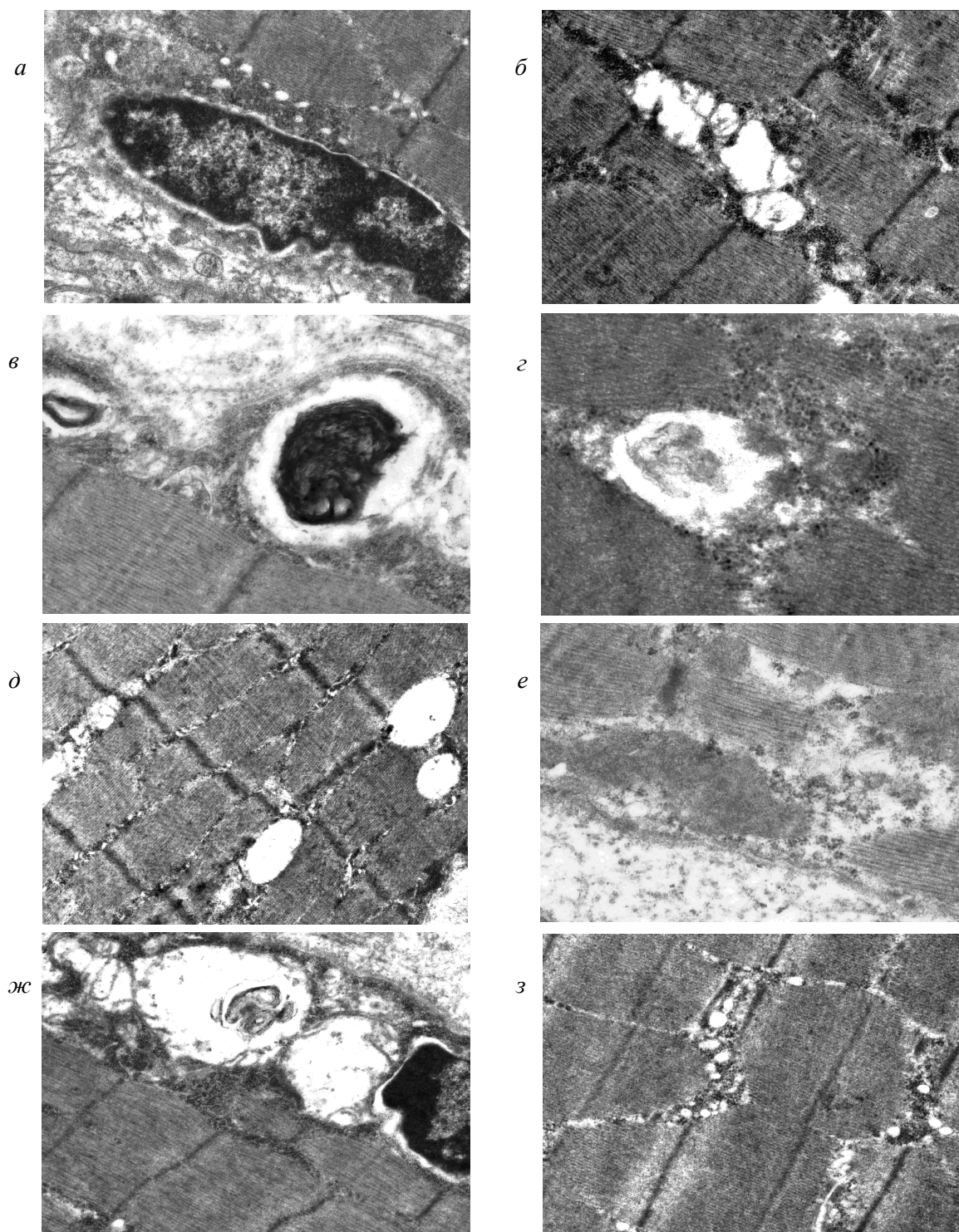


Рис. 1. Ультраструктура миосимпласта скелетних м'язів бедра кролика на 30-е сутки після огнестрельного ранення, контрастировано цитратом свинця: *а* – конденсація ядерного хроматина, гранули деконденсованого хроматина в центральній області матрикса, $\times 35\,000$; *б* – тотальний лизис мітохондрій, $\times 45\,000$; *в* – вторичні лизосоми і включення ліпидів в саркоплазмі, $\times 47\,000$; *г* – формуючіся мієліноподібні тельця між пучками міофібрил, $\times 50\,000$; *д* – ступенеобразне розташування L-ліній, $\times 38\,000$; *е* – истончення і руйнування міофібрил, $\times 37\,000$; *ж* – формуючіся мієліноподібні тельця в перинуклеарній області саркоплазми, $\times 58\,000$; *з* – розривлення мембран саркоплазматического ретикулума, $\times 43\,000$

электронной плотности. Нередко в саркоплазме миосимпласта обнаруживаются мелкие включения липидов и вторичные лизосомы, в структуре которых визуализируются фрагменты мембран и органелл (рис. 1, в). Между пучками миофибрилл иногда встречаются формирующиеся миелиноподобные структуры и в пространстве (рис. 1, з).

В некоторых миосимпластах сохраняется ступенеобразное расположение L-линий. В участках саркоплазмы с таким расположением L-линий, как правило, наблюдаются очень крупные округлой формы вакуоли (рис. 1, д).

В целом изменения сократительных элементов носят в основном дистрофический характер и лежат в пределах физиологической компенсации. Вместе с тем в препаратах иногда обнаруживаются истонченные миофибриллы с участками разрушения (рис. 1, е).

В перинуклеарной области саркоплазмы иногда встречаются участки с формирующимися миелиноподобными тельцами, заполненные дегенеративно измененными органеллами и фрагментами внутриклеточных мембран (рис. 1, ж).

Цистерны саркоплазматического ретикулума расширены и представлены в виде скоплений электронно-прозрачных везикул, локализующихся между миофибриллами. Они окружены большим количеством рибосом и гранул гликогена. Мембраны саркоплазматического ретикулума осмиофильны и сильно разрыхлены (рис. 1, з).

Разрыхлению и очаговым деструкциям подвержена и саркоплазматическая мембрана, которая сильно утолщена.

В группе экспериментальных животных через 60 суток после огнестрельного ранения сохраняются описанные изменения, однако глубина и степень выраженности их иные. Как и на 30-е сутки, нарушения носят полиморфный характер.

Следует отметить, что у значительного количества миосимпластов выявлены дистрофические нарушения органелл.

Ядра миосимпластов сохраняют свою обычную локализацию в саркоплазме. Гранулы деконденсированного хроматина и лизосомы неравномерно распределяются в центральной области матрикса, конденсированный хроматин локализован преимущест-

венно вдоль ядерной мембраны. В матриксе ядра определяются электронно-прозрачные участки. Ядерная мембрана имеет зоны локального разрыхления и образует большое количество глубоких инвагинаций. Перинуклеарные пространства умеренно и равномерно расширены, очаги деструкции ее отсутствуют (рис. 2, а).

Пучки миофибрилл располагаются параллельными рядами с четкой поперечной исчерченностью. Между пучками миофибрилл обнаруживаются рибосомы, полисомы и гранулы гликогена.

Наряду с этим отдельные миосимпласты содержат пучки миофибрилл, отстоящие друг от друга на значительные расстояния. Пространства между миофибриллами имеют очень низкую электронную плотность и заполнены небольшим количеством рибосом и полисом.

Миофибриллы, хотя и сохраняют регулярную ориентацию, однако сильно истончены и разрыхлены. Промежутки между ними не содержат митохондрий и других органелл (рис. 2, б).

Количество митохондрий и крист в них увеличивается относительно такового на 30-е сутки после моделирования ранения (рис. 2, в), однако матрикс их сохраняет низкую электронную плотность, некоторые митохондрии обладают электронно-прозрачным матриксом и единичными дезорганизованными кристами.

В перинуклеарной области встречаются миосимпласты, в которых имеют место крупные митохондрии с электронно-прозрачным матриксом, практически лишенные крист и обладающие крупными очагами разрушения наружных мембран (рис. 2, г).

Аналогичные дегенеративные изменения митохондрий наблюдаются в некоторых миосимпластах. В частности, имеют место митохондрии, находящиеся в различных фазах дегенерации, конечной из которых является формирование миелиноподобных структур. Характерно, что эти митохондрии локализуются в непосредственной близости к саркоплазматической мембране.

В саркоплазме некоторых миосимпластов определяются вторичные лизосомы, которые локализуются между пучками миофибрилл (рис. 2, д).

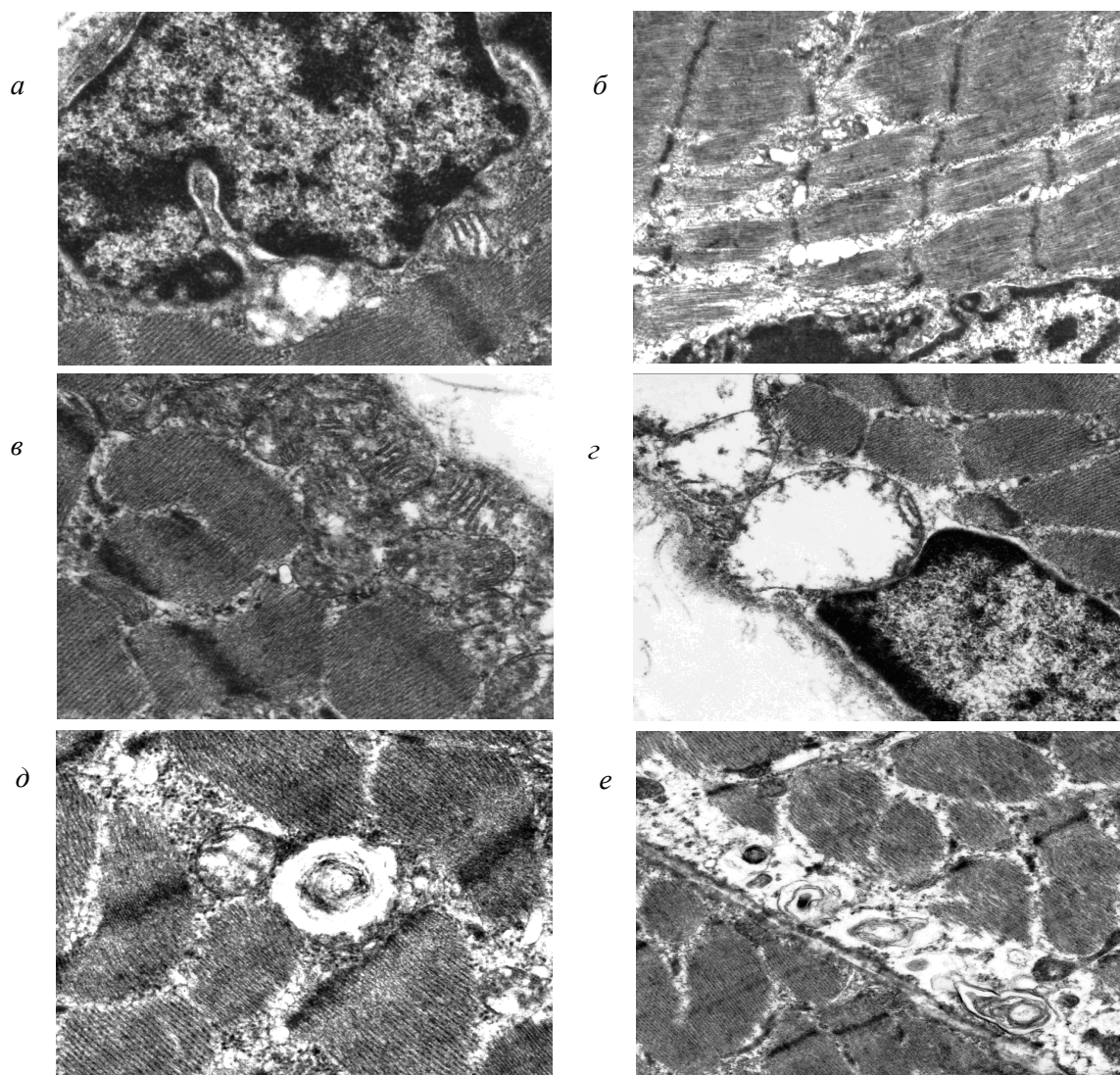


Рис. 2. Ультраструктура миосимплов м'язів бедра кролеї на 60-е сутки після огнестрельного ранення, контрасторовано цитратом свинця: *a* – очаги розривлення і інвагнації ядерної мембрани, конденсація хроматина, $\times 53\,000$; *b* – истончение, розривлення і розрушення mioфібрилл, $\times 45\,000$; *c* – скопления митохондрий с многочисленными кристами, $\times 59\,000$; *d* – очаговая деструкция наружной мембраны и крист митохондрий, просветление матрикса, $\times 47\,000$; *e* – вторичные лизосомы, локализованные в саркоплазме между mioфібриллами, $\times 57\,000$; *e* – вторичные лизосомы вблизи саркоплазматической мембраны, формирующие миелоноподобные тельца, $\times 54\,000$

Саркоплазматический ретикулум развит хорошо и представлен в виде множества мелких электронно-прозрачных вакуолей. Пространство между пучками mioфібрилл заполнено большим количеством гранул гликогена, рибосом и полисом.

В саркоплазме, прилежащей к саркоплазматической мембране, имеют место скопления вторичных лизосом и миелоноподобных телец. Саркоплазматическая мембрана в этой области разрыхлена, утолщена и имеет очаги деструкции (рис. 2, *e*).

Таким образом, в ходе электронно-микроскопического исследования ультраструктурной организации миосимплов скелетных м'язів бедра кролика на 30-е сутки после огнестрельного ранення установлены дистрофические изменения внутриклеточных структур, зачастую перерастающие в деструктивную фазу.

В ультраструктурной организации отдельных миосимплов преобладают дистрофические изменения органелл, такие как набухание митохондрий с уменьшением коли-

чества крист, расширение перинуклеарных пространств, конденсация ядерного хроматина на мембране ядра и наличие в саркоплазме вторичных лизосом.

Данные изменения свидетельствуют о нарушении прежде всего биоэнергетических внутриклеточных процессов и окислительно-восстановительных реакций, которое структурно выражается в резком уменьшении количества крист митохондрий и снижении электронной плотности их матрикса, что характерно для развития митохондриальной дисфункции. Следствием этих нарушений является снижение сократительных возможностей миосимпласта.

Следует отметить, что выявленные изменения миосимпластов находятся в пределах физиологической компенсации и являются обратимыми.

Наряду с этим у части миосимпластов выявляются нарушения ультраструктурной организации с явно выраженным преобладанием деструктивных нарушений, таких как очаговый лизис ядерной мембраны, наружной мембраны и крист митохондрий, истончение, разрыхление и деструкция пучков миофибрилл, что свидетельствует о преобладании катаболических процессов над репаративными и синтетическими.

Структурным подтверждением протекания катаболического процесса является наличие в саркоплазме вторичных лизосом и включений липидов, локализующихся в основном вблизи саркоплазматической мембраны.

Проанализировав состояние субмикроскопической архитектоники органелл миосимпластов бедренной мышцы кролей на 60-е сутки после огнестрельного ранения, мы установили, что восстановление типичной ультраструктурной организации в этот срок не наступает. Сохраняются нарушения митохондрий, что свидетельствует о течении митохондриальной дисфункции. В препаратах встречаются миосимпласты, часть органелл которых подвержена очаговому, а иногда и тотальному лизису. Эти нарушения позволя-

ют констатировать, что процесс восстановления субмикроскопической архитектоники поврежденных миосимпластов к 60-м суткам эксперимента не заканчивается.

Выводы

1. В ходе электронно-микроскопического исследования ультраструктурной организации миосимпластов скелетных мышц бедра кролика на 30-е сутки после огнестрельного ранения выявлены дистрофические изменения внутриклеточных структур, зачастую перерастающие в деструктивную фазу.

2. Отдельные миосимпласты подвержены дистрофическим изменениям органелл в виде набухания митохондрий с уменьшением количества крист, расширения перинуклеарных пространств и конденсации ядерного хроматина на внутренней мембране ядра.

3. Выявленные изменения митохондрий миосимпластов характеризуют нарушение биоэнергетических внутриклеточных процессов и окислительно-восстановительных реакций, что характерно для развития митохондриальной дисфункции. Следствием этих нарушений является снижение сократительных возможностей миосимпласта.

4. Часть миосимпластов имеет ярко выраженные деструктивные нарушения органелл в виде очагового лизиса мембран ядра и митохондрий, а также истончения, разрыхления и разрушения миофибрилл. Субмикроскопическая архитектоника этих миосимпластов свидетельствует о преобладании катаболических процессов над репаративными и синтетическими, что структурно подтверждается наличием в саркоплазме вторичных лизосом и включений липидов.

5. Восстановление ультраструктурной организации субмикроскопической архитектоники субмикроскопических структур бедренной мышцы кролей на 60-е сутки после огнестрельного ранения не происходит.

6. Представленные изменения субмикроскопической архитектоники миосимпластов находятся в пределах физиологической компенсации и являются обратимыми.

Список литературы

1. Савченко В. И. Особенности ранений современным огнестрельным оружием / В. И. Савченко // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2003. – № 3. – С. 13–17.

2. Шудрак А. А. Бойова хірургічна травма в ході проведення АТО [Електронний ресурс] / А. А. Шудрак. – Режим доступу до журн. : <http://www.isurgery.com.ua/uploads/presentations/shurdak.pdf>.
3. Вказівки з воєнно-польової хірургії / С. А. Асланян [та ін.] ; за ред. Я. Л. Заруцького, А. А. Шудрака. – К. : СПД Чалчинська Н. В., 2014. – 396 с.
4. Военно-полевая хирургия / под ред. Е. К. Гуманенко, И. М. Самохвалова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 672 с.
5. Advanced Trauma Life Support. Royal Defence Medical College and the Royal Centre for Defence Medicine. – Battlefield London : British Armed Forces, UK Minister of Defence, 2003. – 411 p.
6. Невідкладна військова хірургія / пер. з англ. – К. : Наш Формат, 2015. – 568 с.
7. DiMaio V. J. M. Gunshot wounds: practical aspects of firearms, ballistics, and forensic / V. J. M. DiMaio. – [3rd ed.]. – CRC Press, 2015. – 345 p.

R.M. Михайлусов, В.П. Невзоров, О.Ф. Невзорова

УЛЬТРАСТРУКТУРА МІОСИМПЛАСТІВ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН У РІЗНІ ТЕРМІНИ ПІСЛЯ ВОГНЕПАЛЬНОГО ПОРАНЕННЯ

У роботі подано результати електронно-мікроскопічного дослідження ультраструктурної організації міосимпластами скелетних м'язів стегна кролика на 30-ту і 60-ту доби після вогнепального поранення. Виявлено, що дистрофічні зміни внутрішньоклітинних структур міосимпластів часто переростають у деструктивну фазу. Окремі органели міосимпластів схильні до дистрофічних змін у вигляді набухання мітохондрій зі зменшенням кількості крист, розширення перинуклеарних просторів і конденсації ядерного хроматину на мембрані ядра. Частина міосимпластів має виражені деструктивні порушення, які свідчать про переважання катаболічних процесів над репаративними і синтетичними. Подані зміни субмікроскопічної архітекτονіки міосимпластів знаходяться в межах фізіологічної компенсації і є оборотними.

Ключові слова: вогнепальне поранення м'яких тканин, ультраструктура міосимпласта, мітохондріальна дисфункція.

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

ULTRASTRUCTURE OF MYOSYMPLASTS IN SKELETAL MUSCLES OF EXPERIMENTAL ANIMALS AT DIFFERENT TIMES AFTER A GUNSHOT WOUND

The results of electron-microscopic study of the ultrastructural organization myosymplasts rabbit thigh skeletal muscles 30 and 60 days after a gunshot wound. It was revealed, that degenerative changes in intracellular structures of myosymplasts often escalate into the destruction phase. Some organelles myosymplasts been exposed to degenerative changes in the form of swelling of mitochondria decrease in the number of cristae, expansion of the perinuclear space and condensation of nuclear chromatin in the nucleus membrane. Part of myosymplasts have expressed destructive violations that indicate about predominance of catabolic processes over reparative and synthetic. Presented changes of submicroscopic architectonics of myosymplasts are within the physiological compensation and are reversible.

Keywords: gunshot wound of soft tissues, ultrastructure of myosymplast, mitochondrial dysfunction.

Поступила 17.08.16