

УДК 616-001.37-089.844

Є.В. Шапринський

Кафедра хірургії медичного факультету № 2 (зав. – проф. О.Є. Каніковський) Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова

ЗМІНИ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ СТРАВОХОДУ ЩУРІВ З МОДЕЛЬОВАНОЮ СТРИКТУРОЮ ТРЕТЬОГО СТУПЕНЯ

Резюме. Проведено електронно-мікроскопічне дослідження субмікроскопічної організації базальних, шипуватих, поверхневих епітеліоцитів багатошарового незроговілого епітелію, гладких міоцитів м'язової пластинки і скорочувальних елементів м'язового шару стравоходу щурів з модельованою стриктурою третього ступеня. Виявлено вогнища лізису у ядерній мембрані, мембранах мітохондрій, ендоплазматичному ретикулумі і пластинчастому цитоплазматичному комплексі Гольджі. У клітинах стравоходу зі стриктурою третього ступеня розвиваються катаболічні процеси, що призводять до розпаду органел.

Ключові слова: ультраструктура клітин стравоходу, стриктура стравоходу, катаболічні процеси.

Впровадження останнім часом різних сучасних методів діагностики і лікування стенозуючих захворювань стравоходу [1-3] не призвело до поліпшення результатів їх лікування та зменшення рівня ускладнень. Залишається високий рівень таких ранніх і пізніх ускладнень, як: неспроможність швів стравохідно-органичних анастомозів, розвиток інфекційних ускладнень, пневмонії, емпієми плеври, медиастеніта, перитоніту, розвиток післяопераційних рубцевих стриктур тощо. Крім того, залишається високою і післяопераційна летальність – 3,5-30 % [4-6]. Тому нами для вироблення єдиної патогенетичної тактики лікування стриктур стравоходу та поліпшення результатів було запропоноване моделювання стриктури стравоходу в експерименті і вивчення ультраструктурних змін слизової оболонки самої стриктури [7].

Мета дослідження: дослідити динаміку ультраструктурних змін стінки стравоходу в нормі та при третьому ступені його стриктури.

Матеріал і методи. Експеримент виконувався на білих щурах, самцях, масою від 250 до 300 г. Експерименти проводили у відповідності до загальних принципів експериментів над тваринами, ухваленими I національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) і узгодженими з

положеннями Єв-ропейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.).

Всім тваринам дослідної групи (10 щурів) створювалась модель стриктури стравоходу третього ступеня. У своїх дослідях створювали модель стриктури стравоходу наступним чином: після поширеного розкриття передньої черевної стінки повністю перев'язували абдомінальний відділ стравоходу. У контрольній групі (6 щурів) виконували розкриття передньої черевної стінки з наступним її пошировим зашиванням. Тварин виводили з дослідження на 3 добу 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 третього ступеня. Для контролю якості гістологічної обробки тканини використовували шматочки слизової оболонки стравоходу експериментальних тварин групи контролю. Шматочки тканини відразу після забору розміщували у 2,5% забуференому

розчині глютаро-формальдегідного фіксатора при температурі 4°C для попередньої фіксації. Після промивання у буферному розчині тканину переносили для остаточної фіксації в 1% забуферений розчин чотирьохокисі осмію на 3-4 год. Зневоднення проводили в спиртах зростаючої концентрації та ацетоні. Тканину розміщували в суміш епоксидних смол (епон-аралдіт) за загальноприйнятими методиками. Полімеризацію блоків здійснювали в термостаті при температурі 60°C упродовж 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.

Результати дослідження 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.

Під час електронно-мікроскопічного дослідження базальних епітеліоцитів багатошарового незроговілого епітелію стравоходу виявлено розвиток дистрофічних і деструктивних порушень внутрішньоклітинних мембран та органел цих клітин. Ядра базальних епітеліоцитів, загалом, мали довгасту форму. Ядерна мембрана була значно розпушена. Матрикс ядра був сильно просвітлений, переважно у центральній ділянці ядра. Ядерна мембрана мала дрібні та глибокі інвагінації (рис. 1).

Ядерця в клітинах виявлялися дуже рідко. Більша частина ядерного хроматину перебувала в конденсованому стані, його глибокі концентрувалися вздовж ядерної мембрани. Перинуклеарні

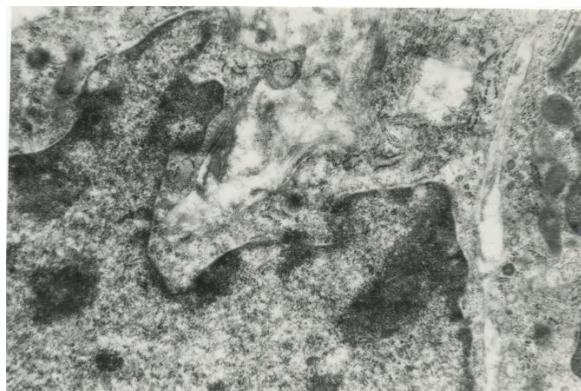


Рис. 1. Ультраструктура базальних епітеліоцитів багатошарового незроговілого епітелію стравоходу щурів зі структурою третього ступеня. Інвагінації ядерної мембрани і вогнища розпушення.

Контрастування цитратом свинцю, $\times 38000$

простори були нерівномірно розширені. Набряклі мітохондрії знаходились в перинуклеарній ділянці цитоплазми. Мітохондрії були з просвітленим матриксом і дезорганізованими кристами. Часто можна було спостерігати вогнищевий лізис зовнішніх мембран та крист мітохондрій. Поряд з цим, в клітинах були присутні мітохондрії з тотально зруйнованими кристами. Ці мітохондрії мали вигляд вакуолей, заповнених конгломератом безструктурної субстанції, яка має різну електронну щільність (рис. 2).

Цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулума були розширені, мали вигляд вакуолей, заповнених переважно електронно-прозорою речовиною. На мембранах гранулярного ендоплазматичного ретикулума практично були відсутні рибосоми. Вільних рибосом та полісом в цитоплазмі дуже мало. У препаратах виявлялися базальні епітеліоцити з фрагментованими мембранами гранулярної ендоплазматичної мережі. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі був редукований, мав безладно орієнтовані гладкі мембрани, оточені невеликою кількістю великих електронно-прозорих везикул. У цитоплазмі в ділянці локалізації пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі виявлялись вторинні лізосоми та дрібні включення ліпідів (рис. 3).

Цитоплазматична мембрана мала розпушену структуру, була потовщена, схильна до деформації і мала високий ступінь електронної щільності. Деколи спостерігались множинні осередки її лізису та розпушення. Шипуваті епітеліальні клітини слизової оболонки стравоходу містили скупчення осміофільних гранул глікогену. У периферійних відділах

цитоплазми епітеліоцитів шипуватого шару розміщувались довільно орієнтовані тонофібрили, які іноді були дезорганізовані. Ядерний хроматин перебував переважно у конденсо-

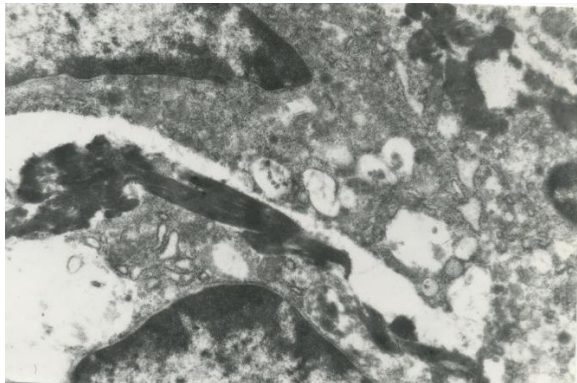


Рис. 2. Ультраструктура базальних епітеліоцитів багатошарового незроговілого епітелію стравоходу щурів зі стриктурою третього ступеня. Лізис крист мітохондрій.. Контрастування цитратом свинцю, $\times 36000$

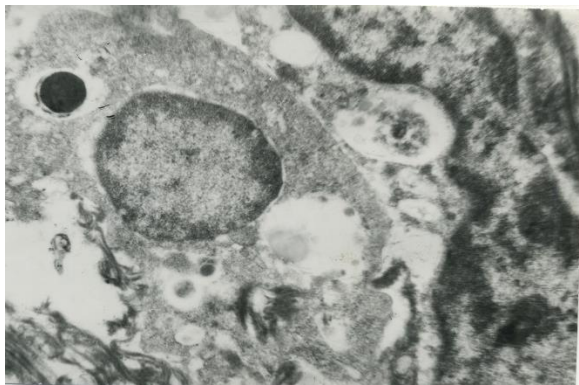


Рис. 3. Ультраструктура базальних епітеліоцитів багатошарового незроговілого епітелію стравоходу щурів зі стриктурою третього ступеня. Вторинні лізосоми в цитоплазмі. Контрастування цитратом свинцю, $\times 40000$

ваній формі, його глибки були зібрані у щільне осміофільне кільце, що розташовувалося по контуру ядерної мембрани. Перинуклеарні простори були нерівномірно та вакуолоподібно розширені. Розпушення ядерної мембрани супроводжувалося появою численних вогнищ лізису. У цитоплазмі епітеліоцитів розташовувалась невелика кількість мітохондрій, матрикс яких був електронно-прозорим. Мітохондрії мали поодинокі вкорочені кристи. Зовнішні мембрани та кристи більшості мітохондрій мали вогнища деструкції. Виявлялися й тотально зруйновані мітохондрії. Розширення цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулума супроводжувалося зменшенням кількості рибосом, зв'язаних з його мембранами. Виявлялися шипуваті епітеліоцити з фрагментованими мембранами гранулярного ендоплазматичного ретикулума. У цитоплазмі практично були відсутні вільні полісоми та рибосоми. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі був редукований і представлений поодинокими гладкими мембранами, поблизу яких знаходились великі електронно-прозорі вакуолі. У ділянці розташування пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі виявлялися вторинні лізосоми і великі включення ліпідів (рис. 4).

Міжклітинні простори були сильно розширені, вміщували невелику кількість цитоплазматичних відростків і були заповнені електронно-прозорою субстанцією. Цитоплазматична мембрана була сильно розпушена, мала велику кількість вогнищ деструкції. Окремі мікроворсинки були тотально зруйновані.

Епітеліоцити поверхнього шару

багатошарового епітелію стравоходу мали сплющену форму. Ядерна мембрана епітеліоцитів поверхнього шару тотально зруйнована. В їх цитоплазмі виявляється невелика кількість деструктивно змі-



Рис. 4. Ультраструктура шипуватих епітеліоцитів багатошарового незроговілого епітелію стравоходу щурів зі стриктурою третього ступеня. Великі включення ліпідів у цитоплазмі. Контрастування цитратом свинцю, $\times 41000$

нених органел. Тонкофібрили були фрагментовані і безладно орієнтовані. У переважній більшості клітин органели та мембранні комплекси були осередково зруйновані. На цитоплазматичній мембрані є невелика кількість десмосом. Цитоплазматична мембрана потовщена, її чітко контурована структура порушена.

Ультраструктурна організація гладких міоцитів м'язової пластинки слизової оболонки щурів стравоходу з модельованою стриктурою третього ступеня зазнала деструктивних і дистрофічних порушень. Ядра гладких міоцитів мали витягнуту форму і звичайні для даних клітин розміри. Ядерний хроматин перебував у деконденсованому стані, гранули його рівномірно розподілялися по площині зрізу ядра. Деколи в матриксі ядра виявлялися грудочки конденсованого хроматину, які були хаотично розсіяні в матриксі. Перинуклеарні простори рівномірно розширені. Досить часто можна було спостерігати лізис ділянок ядерної мембрани. В цілому ядерна мембрана була дуже сильно розпушена. Органели в цитоплазмі гладких міоцитів розташовувались у вигляді скупчень в перинуклеарній ділянці. Мітохондрій було мало, вони знаходились у стані набухання різного ступеня і містили електронно-прозорий матрикс. Мітохондрії мали поодинокі дезорганізовані кристи. У частини мітохондрій спос-терігались осередки руйнування зовнішніх мембран і крист. Цистерни ендоплазматичного ретикулума були розширені, заповнені тонковолокнистою речовиною. У деяких гладких міоцитах мембрани

ендоплазматичного ретикулума були фрагментовані. Цитоплазматична мембрана була сильно розпушена і потовщена, поблизу неї у цитоплазмі виявлялась невелика кількість кавеол. У цитоплазмі гладких міоцитів були присутні безладно орієнтовані скупчення міофіламентів.

Поперечнопосмугована м'язова тканина м'язової оболонки стравоходу в ділянці стриктури третього ступеня мала субмікроскопічну організацію, характерну для переважання деструктивних процесів над дистрофічними. Ядра попереочнопосмугованих м'язових волокон зберігали типову подовжену форму і містили, здебільшого рівномірно розподілені гранули деконденсованого хроматину. Матрикс ядра був просвітлений. Ядерна мембрана розпушена, містить значну кількість вогнищ деструкції. Перинуклеарні простори помірно та рівномірно розширені. Мітохондрії локалізувалися між міофібрилами у вигляді округлих, неправильної форми, утворень, обмежених елементарною мембраною. Матрикс мітохондрій мав грубо волокнисту структуру і дуже високу електронну щільність. Зовнішні мембрани і кристи мітохондрій були осередковані лізовані. Дуже часто виявлялися повністю зруйновані мітохондрії (рис. 5).

У саркоплазмі зберігається паралельна орієнтація пучків міофібрил і поперечна посмугованість. Виявляються ділянки міосимпласту з розгалуженими і витонченими скорочувальними елементами. Саркоплазма просвітлена, в ній між міофібрилами виявляються скупчення гранул гліко-гену. Канальці саркоплазматичної мережі розширені, заповнені електронно-прозорою субстанцією. Саркоплазматична мембрана втрачає чітко контуровану структуру, набуває високого ступеня осміофілії. Найчастіше в ній визначаються ділянки лізису.

Ядра ендотеліоцитів кровоносних капілярів слизової оболонки стравоходу в ділянці стриктури третього ступеня мали неправильну форму. Ядерна мембрана утворювала численні дрібні та глибокі інвагінації. Матрикс ядра мав підвищену електронну щільність. Конденсований ядерний хроматин концентрувався вздовж ядерної



Рис. 5. Ультраструктура попереочнопосмугованих м'язів стравоходу щурів зі стриктурою третього ступеня. Просвітлення саркоплазми і лізис мембран мітохондрій. Контрастування цитратом свинцю, $\times 39000$

мембрани. У центральній ділянці матриксу ядра мали електронну прозорість, яка локалізувалися поодинокі, безладно розкидана по матриксу, гранули конденсованого і грудочки деконденсованого хроматину, а також рибосоми. Гіалоплазма ендотеліальних клітин кровоносних капілярів набрякша, має низьку електронну щільність, містить невелику кількість органел, рибосом та полісом. У цитоплазмі окремих ендотеліоцитів були присутні вторинні лізосоми і включення ліпідів. Мітохондрії ендотеліоцитів дрібні, мають округлу форму та електронно-прозорий матрикс. Вони сильно набрякші, їх кристи лізовані та фрагментовані. Матрикс мітохондрій просвітлений, в ньому деколи виявлялися мієліноподібні структури. Гранулярний ендоплазматичний ретикулум вакуолізований. Виявляються ендотеліоцити, що містять фрагментовані мембрани гранулярного ендоплазматичного ретикулума. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі редукований, його гладкі мембрани дезорганізовані і здебільшого зруйновані. У цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин виявляється невелика кількість мікропіноцитозних пухирців. Цитоплазматична мембрана ендотеліоцитів, яка контактує з кров'ю, має численні ділянки лізису. У просвіті капіляра, крім клітинних елементів крові, виявляється детрит, що складається з дегенеративно змінених фрагментів мембран, органел та аморфної субстанції, імовірно, ліпопротеїдної природи.

Таким чином, проведене електронно-мікроскопічне дослідження субмікроскопічної організації базальних, шипуватих, поверхневих епітеліоцитів багатошарового незроговілого епітелію, гладких міоцитів м'язової пластинки і скорочувальних елементів м'язового шару стравоходу щурів з модельованою стриктурою

третього ступеня показало превалювання деструктивних порушень. Осередковому лізису підлягала ядерна мембрана, мембрани мітохондрій, ендоплазматичного ретикулума і пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі. Внаслідок цих порушень страждає біоенергетика всіх клітин стравоходу. Репаративні, метаболічні та синтетичні внутрішньоклітинні процеси дезактивовані, що структурно підтверджується зниженням кількості рибосом і полісом у цитоплазмі, а також розпушенням, вогнищевим, а деколи й тотальним лізисом мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулума. Ультраструктурні зміни органел гладких міоцитів і поперечнопосмугованих м'язових волокон в ділянці стриктури стравоходу свідчать про зниження скорочувальної здатності цих клітин. Субмікроскопічні порушення ендотеліоцитів

капілярного русла стравоходу свідчать про розвиток внутрішньоклітинного набряку. Відсутність в цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин мікропіноцитозних пухирців вказує на майже повне припинення трансцелюлярного транспорту речовин, води і електролітів. Ультраструктура клітин стравоходу зі стриктурою третього ступеня свідчить про наростання катаболічних внутрішньоклітинних процесів, що структурно підтверджується виявленням в цитоплазмі вторинних лізосом та включень ліпідів.

Висновки. 1. Змодельована стриктура стравоходу третього ступеня викликає деструктивні

порушення в ультраструктурній архітектоніці клітин багат шарового незроговілого епітелію, гладких міоцитів м'язової пластинки і скорочувальних елементів м'язового шару стравоходу щурів. 2. Ультраструктура клітин стравоходу зі стриктурою третього ступеня свідчить про наростання катаболічних внутрішньоклітинних процесів.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому перспективним є порівняння отриманих морфологічних змін стравоходу зі змінами при стриктурі першого і другого ступенів.

Список використаної літератури

1. Багиров М.М. Применение тотальной и субтотальной эзофагопластики в лечении рубцового стеноза пищевода / М.М. Багиров, Р.И. Верещако // *Клін. хірург.* – 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.] // *Хирург.* – 2003. – № 7. – С. 50-54.
3. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника. Руководство / Д.С. Саркисов, Ю.Л. Перов. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
4. 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.
5. Восстановленные операции по поводу рубцовой послеожоговой стриктуры пищевода / В.Ф. Саенко, С.А. Андреевцев, П.Н. Кондратенко, С.Д. Мясоедов // *Клін. хірург.* – 2002. – № 5-6. – С. 4.
6. Хирургическое лечение сочетанных стриктур пищевода и желудка / Н.Р. Рахметов, Д.С. Жетимкаринов, В.А. Хребтов [и др.] // *Хирург.* – 2003. – № 11. – С. 17-19.
7. 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.

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПИЩЕВОДА КРЫС С МОДЕЛИРОВАННОЙ СТРИКТУРОЙ ТРЕТЬЕЙ СТЕПЕНИ

Резюме. Проведено електронно-микроскопическое исследование субмикроскопической организации базальных, шиповатых, поверхностных эпителиоцитов многослойного неороговевающего эпителия, гладких миоцитов мышечной пластинки и сократительных элементов мышечного слоя пищевода крыс с моделированной стриктурой третьей степени. Выявлено, что очаговому лизису подвергалась ядерная мембрана, мембраны митохондрий, эндоплазматического ретикулума и пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. В клетках пищевода со стриктурой третьей степени развиваются катаболические процессы, ведущие к распаду органелл.

Ключевые слова: ультраструктура клеток пищевода, стриктура пищевода, катаболические процессы.

CHANGES OF ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF CELLS OF ESOPHAGEAL MUCOSA OF RATS WITH THE THIRD DEGREE ESOPHAGEAL STRICTURE IN EXPERIMENT

Abstract. Electronic microscopy examination of the submicroscopic organization of epithelial cells of multilayered epithelium, smooth myocytes of a muscular plate and contractile elements of the muscle layer of the esophagus in rats with the third degree esophageal stricture in experiment was conducted. The focal lysis of nuclear membrane, mitochondrial membrane, endoplasmic reticulum and lamellar cytoplasmic Golgi complex was revealed. Catabolic processes develop in esophageal cells with the third-degree stricture and lead to the disintegration of organelles.

Key words: ultrastructure of cells of esophagus, stricture of esophagus, catabolic processes.

Надійшла 11.07.2016 р.
Рецензент – проф. Давиденко І.С. (Чернівці)