

**ДИНАМИКА СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПЕРЕСТРОЕК СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ
КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГЛУБОКОГО ОХЛАЖДЕНИЯ****ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева****НАМН Украины» (г. Харьков)**

Работа является фрагментом НИР «Удосконалили комплексне лікування холодової травми на основі застосування операцій реваскуляризації», № гос. регистрации 0106U001450.

Вступление. В последнее время наблюдаются аномальные колебания температуры, при которых в некоторых областях температура снижается до очень низких значений, не характерных для данного региона. Такие колебания температуры повышают количество пациентов, подверженных глубокому охлаждению. Кроме обморожения поверхностных участков кожного покрова значительная часть пострадавших подвержена глубокому охлаждению скелетных мышц, без явных признаков обморожения.

Современное лечение этой категории больных требует знание морфологических аспектов и молекулярных процессов, протекающих в условиях длительного охлаждения [1, 2, 3, 4].

Существует закономерная связь между качеством оказания помощи в остром периоде ожоговой болезни, течением раневого процесса и выраженностью последствий холодовой травмы. Раннее применение методов экстракорпоральной детоксикации организма освобождает кровеносное русло от продуктов распада тканей, снижает содержание средних молекул, улучшает микроциркуляцию в тканях зоны поражения, что повышает резистентность организма.

Таким образом, на основании анализа литературы можно констатировать, что достижения последних лет в комплексном лечении холодовой травмы усложнили реабилитацию больных.

В целом осложнения встречаются часто, в том числе и опасные, что свидетельствует о необходимости изучения их причин и разработки эффективных критериев контроля хода самого процесса восстановления мягких тканей после глубокого охлаждения и обморожения [5, 6, 7].

Для улучшения результатов необходимы комплексные исследования, направленные на изучение морфофункциональных особенностей метаболизма

скелетных мышц на всех уровнях организации, включая субмикроскопический.

Цель исследования – выявить особенности ультраструктурных изменения миосимпластов скелетной мускулатуры крыс, подверженных глубокому охлаждению.

Объект и методы исследования. Эксперимент проводили на крысах линии Вистар, которым наносился холодовый ожог скелетных мышц жидким азотом, с последующим забором материала для изучения ультраструктуры миосимпластов через 6 часов, 1, 3 и 7 суток после моделирования глубокого охлаждения.

Кусочки скелетных мышц, после иссечения, помещали для предварительной фиксации в 2,5%-ный забуференный раствор глутарового альдегида на 5-6 часов при температуре 4°C. После промывки в буферном растворе ткань переносили в 1%-ный забуференный раствор четырехоксида осмия для окончательной фиксации на 3-4 часа. Дегидратацию проводили в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. В дальнейшем, кусочки ткани пропитывали и заключали в смесь эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60°C в течение двух суток.

Из полученных блоков, на ультрамикротоме УМТП-3, изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и, после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100 БР при ускоряющем напряжении 75 кв. Контролем качества гистологической обработки ткани служили кусочки скелетных мышц интактных животных.

Содержание животных и эксперименты проводились согласно положений «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», утвержденных Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).



Рис 1а. Динамика изменений ультраструктуры миосимпласмов скелетной мускулатуры крыс, подвергшихся глубокому охлаждению – через 6 часов после глубокого охлаждения. Разрыхление наружных мембран и крист митохондрий. x 32000.

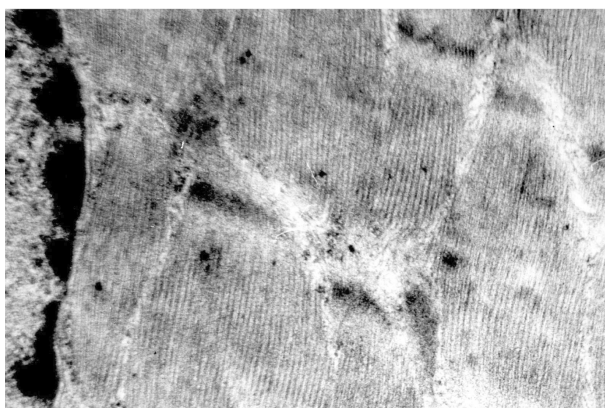


Рис. 1б. Через сутки после глубокого охлаждения. Конденсация ядерного хроматина x 30000.

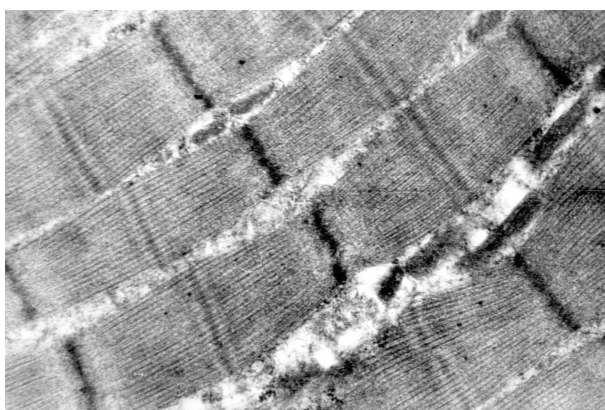


Рис. 1в. Через сутки после глубокого охлаждения. Просветление саркоплазмы. x 30000.

Результаты исследований и их обсуждение. Электронно-микроскопическое исследование скелетных мышц интактных крыс показало адекватность выбранной методики гистологической обработки материала, поскольку их ультраструктурная организация соответствовала современным представлениям.

Через 6 часов после глубокого охлаждения мышц спины крыс в ультраструктурной организации мышечного волокна выявляются изменения степени выраженности, которых лежала в пределах физиологической компенсации. Ядра миосимпласмов имели вытянутую форму. Матрикс ядра просветлен. Ядерный хроматин находился преимущественно в деконденсированном состоянии. Ядерная мембрана несколько разрыхлена и утолщена. Иногда в матриксе ядра выявлялись мелкие глыбки конденсированного хроматина.

В перинуклеарной области миосимпласма находились многочисленные рибосомы, гранулы гликогена и органеллы общего назначения. Пластинчатый

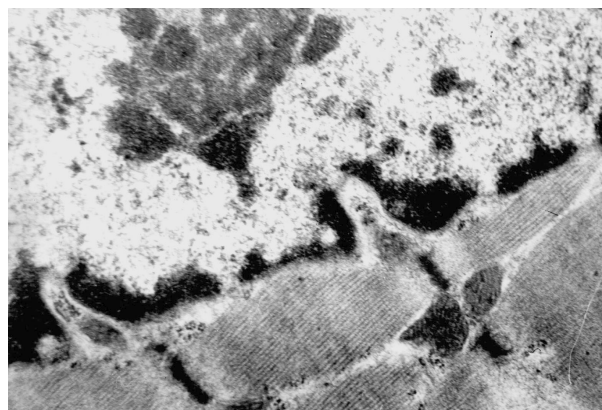


Рис. 1г. Через трое суток после глубокого охлаждения. Инвагинация и очаги лизиса ядерной мембраны. x 38000.

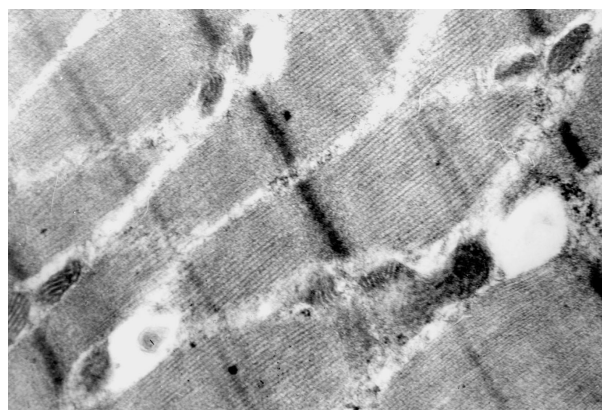


Рис. 1д. Через трое суток после глубокого охлаждения. Очаговый лизис мембран саркоплазматического ретикулума. x 36000.

цитоплазматический комплекс Гольджи умеренно гипертрофирован, в области локализации его гладких параллельно-ориентированных мембран располагались скопления мелких электронно-прозрачных везикул.

Саркоплазматический ретикулум развит хорошо, его цистерны уплощены и заполнены электронно-прозрачным веществом. Митохондрии несколько набухшие, содержат большое количество крист. Наружная мембрана митохондрий умеренно

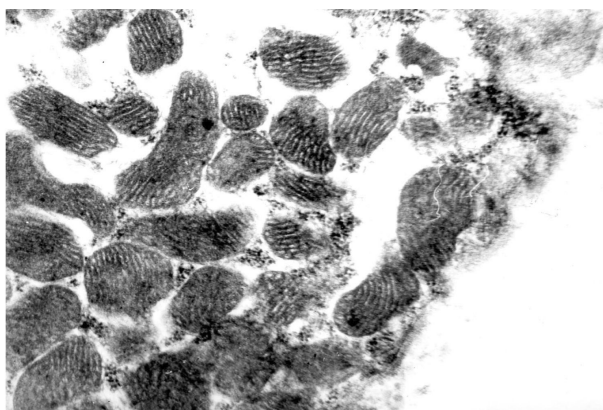


Рис. 1е. Через трое суток после глубокого охлаждения. Скопление митохондрий с лизированными наружными мембранами. Лизис сарколеммы x 37000.

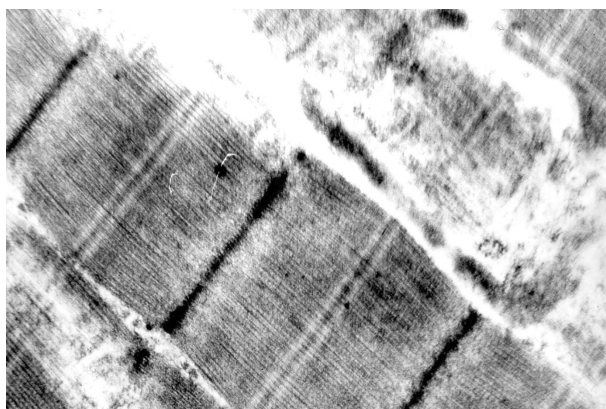


Рис. 1ж. Через трое суток после глубокого охлаждения. Разрушение пучков миофибрилл. x 36000.

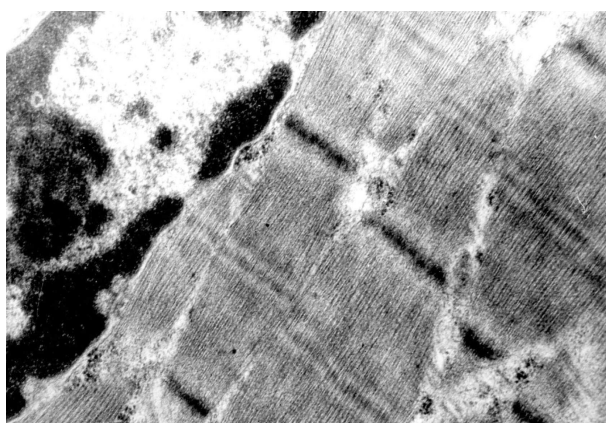


Рис. 1з. Через семь суток после глубокого охлаждения. Конденсация хроматина, плотные осмиофильные ядрышки x 35000.

разрыхлена, а матрикс имеет мелкогранулярную структуру и среднюю электронную плотность (рис. 1а).

Сарколемма становится разрыхленной и утолщенной. Для этого срока наблюдения характерно общее просветление саркоплазмы. Пучки миофибрилл параллельно-ориентированы. Участки между

сократительными элементами были заполнены рибосомами и гранулами гликогена.

Через 1 сутки после глубокого охлаждения появляются признаки дистрофических изменений (рис. 1б).

Ядра миосимпластов содержат глыбки конденсированного хроматина, локализующиеся вдоль ядерной мембраны. Деконденсированный хроматин в виде мелких осмиофильных гранул концентрируется в центральной части матрикса. Ядерная мембрана теряет четко контурированную структуру. Перинуклеарные пространства умеренно и равномерно расширены. Наблюдается разрыхление наружных мембран и крист митохондрий, матрикс



Рис. 1и. Через семь суток после глубокого охлаждения. Вторичные лизосомы в саркоплазме x 34000.

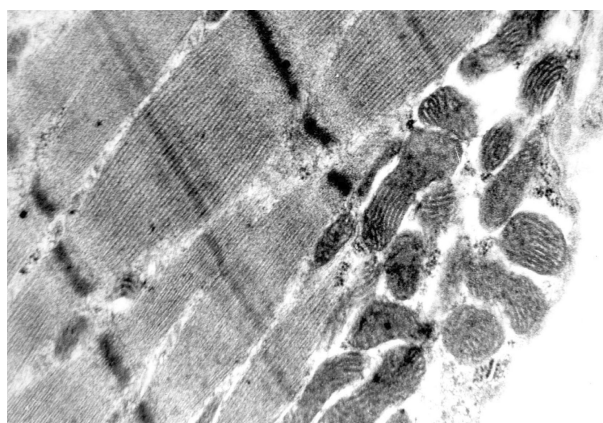


Рис. 1к. Через семь суток после глубокого охлаждения. Лизис наружных крист митохондрий x 33000.

их обладает средней электронной плотностью. Поперечная исчерченность сократительных миофибрилл сохраняется.

Пространства между миофибриллами расширяются и приобретают низкую электронную плотность. Количество гранул гликогена существенно уменьшается. Цистерны саркоплазматической сети расширены, заполнены электронно-прозрачной субстанцией, а мембраны сильно разрыхлены (рис. 1в).

Пластинчатый комплекс Гольджи содержит дезорганизованные гладкие мембраны, окруженные крупными вакуолями. Саркоплазматическая мембрана нечеткая, обладает повышенной электронной плотностью.

На 3 сутки после моделирования глубокого охлаждения, наряду с дистрофическими изменениями появляются элементы деструкции внутриклеточных мембранных структур.

Ядерный хроматин находится преимущественно в конденсированном состоянии, его глыбки, в виде осмиофильного кольца, находятся в непосредственной близости от ядерной мембраны. Довольно часто ядерная мембрана образовывала глубокие инвагинации и имела очаги лизиса (рис. 1г).

Цистерны саркоплазматического ретикула очень сильно расширены, а мембраны подвержены очаговому лизису (рис. 1д).

Под саркоплазматической мембраной располагались группы митохондрий, у которых наружные мембраны были разрыхлены и частично лизированы. Матрикс митохондрий имел высокую электронную плотность, а кристы очагово разрушены (рис. 1е).

Пространства между сократительными элементами миосимпласта сильно расширены и электронно-прозрачны. Эти участки саркоплазмы практически не содержали рибосом и гранул гликогена. Митохондрии между миофибриллами имели гомогенизированный матрикс. Кристы подвержены тотальному лизису. Часть миофибрилл имели очаги деструкции (рис. 1ж).

Пластинчатый комплекс Гольджи редуцирован и выявляется в виде отдельных гладких мембран, не имеющих регулярной ориентации.

На 7 сутки эксперимента в ультраструктурной организации миосимпластов сохраняются как дистрофические, так и деструктивные нарушения.

Ядра миосимпластов имеют вытянутую форму. Ядерная мембрана сильно разрыхлена с очагами деструкции. Она образует мелкие инвагинации. Ядерный хроматин остается в конденсированном состоянии. Перинуклеарные пространства равномерно расширены. В матриксе ядра выявляются осмиофильные ядрышки (рис. 1з).

В пространстве между миофибриллами располагаются разрушенные митохондрии с гомогенизированным матриксом, в котором выявляются единичные кристы. Иногда в саркоплазме выявляются вторичные лизосомы, в структуре которых обнаруживаются дегенеративно измененные мембранные структуры и аморфная осмиофильная субстанция (рис. 1и).

Остаются лизированными участки саркоплазматической мембраны. В электронно-прозрачной саркоплазме располагаются скопления митохондрий, часть из них разрушена (рис. 1к).

Пластинчатый комплекс Гольджи редуцирован. В саркоплазме содержится небольшое количество гранул гликогена и рибосом.

Заключение. Глубокое охлаждение скелетной мускулатуры вызывает дистрофические и

деструктивные нарушения внутриклеточной организации миосимпластов. В первые шесть часов после охлаждения наблюдается набухание саркоплазмы и разрыхление внутриклеточных мембран.

Через сутки после глубокого охлаждения в скелетных мышцах на субклеточном уровне начинают развиваться дистрофические и деструктивные процессы. Наиболее глубоким изменениям подвергаются митохондрии, что свидетельствует о нарушении активности окислительно-восстановительных внутриклеточных процессов. В течение первых суток дистрофические изменения по степени выраженности находились в пределах физиологической компенсации. Существенным изменениям подвергались митохондрии, что указывало на нарушение внутриклеточной биоэнергетики и развитие митохондриальной дисфункции.

К третьим суткам эксперимента нарушения субмикроскопической организации скелетных мышц приобретали выраженный деструктивный характер, что подтверждается очаговым лизисом ядерной мембраны, мембран эндоплазматического ретикула, наружных мембран и крист митохондрий. В саркоплазме исчезают гранулы гликогена. Эти изменения свидетельствуют об углублении процессов деструкции внутриклеточной мембранной системы. Разрушаются наружные мембраны митохондрий и кристы, что свидетельствует о нарушении биоэнергетики и сократительной способности миосимпластов. Снижение метаболической активности миосимпластов подтверждается исчезновением из саркоплазмы рибосом и гранул гликогена.

Дистрофические и деструктивные нарушения сохраняются до конца эксперимента.

Наряду с этим, к седьмым суткам эксперимента, в отдельных миосимпластах на внутриклеточном уровне развиваются репаративные процессы, направленные на восстановление нарушенной ультраструктурной архитектоники. Увеличивается количество крист в митохондриях, они приобретают типичное строение. В саркоплазме накапливаются гранулы гликогена и уменьшается внутриклеточный отек.

Выводы.

1. Глубокое охлаждение скелетной мускулатуры вызывает дистрофические и деструктивные нарушения внутриклеточной организации миосимпластов, в которых развивается митохондриальная дисфункция.

2. В течение первых суток дистрофические изменения по степени выраженности находятся в пределах физиологической компенсации.

3. К третьим суткам эксперимента нарушения субмикроскопической организации скелетных мышц приобретают деструктивный характер, что подтверждается очаговым лизисом ядерной мембраны, мембран эндоплазматического ретикула, наружных мембран и крист митохондрий. В саркоплазме исчезают гранулы гликогена. Эти изменения свидетельствуют об углублении процессов деструкции внутриклеточной мембранной системы.

4. К седьмым суткам эксперимента, в отдельных миосимпластах развиваются процессы,

направленные на восстановление нарушенной ультраструктурной архитектоники.

Перспективы дальнейших исследований. Перспективным является изучение

морфологических особенностей холодовой травмы для разработки консервативной терапии и предоперационной подготовки с целью уменьшения некротизации тканей при отморожениях.

Литература

1. Бабийчук В. Г. Ультраструктурные изменения миокарда молодых крыс после криовоздействия / В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2005. – № 1 (14). – С. 57-60.
2. Бабийчук Г. А. Ультраструктурные изменения миокарда старых крыс после проведения криотерапии / Г. А. Бабийчук, Р. С. Кузбеков, В. П. Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2005. – № 2 (16). – С. 67-70.
3. Бабийчук Г. А. Ультраструктура скелетных мышц крыс с алиментарным ожирением после экспериментального криовоздействия / Г. А. Бабийчук, Р. С. Кузбеков, В. П. Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2007. – № 1 (24). – С. 63-68.
4. Богдасарян А. С. Новое о патогенезе мультисистемных заболеваний. Руководство для врачей, том 1 / [Богдасарян А. С., Бойко В. В., Волошина И. Ю. и др.]. – Харьков : РИП «Оригинал», 1997. – 272 с.
5. Бойко В. В. Деформация внутриклеточных органелл, возникающая в процессе развития патологических состояний / В. В. Бойко, В. П. Невзоров // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2002. – № 4. – С. 49-54.
6. Климова Е. М. Морфофункциональные предпосылки реализации остаточных напряжений в биологических объектах / Е. М. Климова, Л. Д. Дроздова, В. П. Невзоров // Квантово-биологическая теория. – 2003. – С. 528-657.
7. 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.

УДК 591.471:591.473+616 – 073.582 – 089.11+615.832.97] – 092

ДИНАМІКА СУБМІКРОСКОПІЧНИХ ПЕРЕБУДОВ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ЩУРІВ ПІСЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ ГЛИБОКОГО ОХОЛОДЖЕННЯ

Омельченко В. Ф.

Резюме Проведено електронно-мікроскопічне дослідження скелетної мускулатури щурів під впливом глибокого охолодження. Виявлено дистрофічні і деструктивні порушення внутрішньоклітинної організації міосимпластів, в основі яких лежить розвиток мітохондріальної дисфункції. Впродовж першої доби дистрофічні зміни за ступенем вираженості знаходяться в межах фізіологічної компенсації. У подальшому порушення субмікроскопічної організації скелетних м'язів набували деструктивний характер з наявністю вогнищового лізису ядерної мембрани, мембран ендоплазматичного ретикулула і мітохондрій. До сьомої доби експерименту в окремих міосимпластах розвиваються репаративні процеси, спрямовані на відновлення порушеної ультраструктурної архітектоники.

Ключові слова: ультраструктура міосимпластів, глибоке охолодження, мітохондріальна дисфункція.

УДК 591.471:591.473+616 – 073.582 – 089.11+615.832.97] – 092

ДИНАМИКА СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПЕРЕСТРОЕК СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГЛУБОКОГО ОХЛАЖДЕНИЯ

Омельченко В. Ф.

Резюме Проведено електронно-мікроскопічне дослідження скелетної мускулатури крыс под воздействием глибокого охолодження. Виявлены дистрофические и деструктивные нарушения внутриклеточной организации миосимпластов, в основе которых лежит развитие митохондриальной дисфункции. В течении первых суток дистрофические изменения по степени выраженности находятся в пределах физиологической компенсации. В дальнейшем нарушения субмикроскопической организации скелетных мышц приобретали деструктивный характер с наличием очагового лизиса ядерной мембраны, мембран эндоплазматического ретикулула и митохондрий. К седьмым суткам эксперимента в отдельных миосимпластах развиваются репаративные процессы, направленные на восстановление нарушенной ультраструктурной архитектоники.

Ключевые слова: ультраструктура миосимпластов, глибоке охолодження, митохондриальна дисфункція.

UDC 591.471:591.473+616 – 073.582 – 089.11+615.832.97] – 092

Dynamics of Submicroscopic Rearrangements in Skeletal Muscles of Rats after Simulation of Deep Cooling

Omelchenko V. F.

Abstract. *The purpose of the study is to identify features of the ultrastructural changes of myosimplasts in skeletal muscles of rats exposed to deep cooling.*

The experiment was carried out on Wistar rats, which were caused a cold burn of skeletal muscles by liquid nitrogen, followed by a material sampling for studying the ultrastructure of myosimplasts in 6 hours, 1, 3 and 7 days after the simulation of deep cooling.

Results and discussion. Deep cooling of skeletal muscles causes dystrophic and destructive damage of intracellular organization of myosimplasts. In the first six hours after the cooling swelling of the sarcoplasm and loosening of intracellular membranes are being observed.

One day after the deep cooling dystrophic and destructive processes begin to develop at the subcellular level in skeletal muscles. The most profound changes are subject to the mitochondria, indicating the inappropriate activity of intracellular redox processes. During the first day dystrophic changes in severity are within the physiological compensation. Significant changes are subjected to mitochondria, suggesting damage of the intracellular development of bioenergetics and mitochondrial dysfunction.

By the third day of the experiment the damage of submicroscopic organization of skeletal muscles have become destructive, as evidenced by focal lysis of the nuclear membrane, endoplasmic reticulum membrane, outer membrane and cristae of mitochondria. In the sarcoplasm glycogen granules are disappearing. These changes indicate the deepening of processes of degradation of intracellular membrane system. The outer mitochondrial membranes and cristae are being destroyed, which constitutes damage of bioenergetics and contractile ability of myosimplasts. The decrease in metabolic activity of myosimplasts is confirmed by the disappearance of ribosomes and glycogen granules from the sarcoplasm. Dystrophic and destructive disorders are kept until the end of the experiment.

At the same time, by the seventh day of the experiment, at the intracellular level of some myosimplasts reparative processes aimed at restoring the disturbed ultrastructural architectonics have been developing. The number of cristae in mitochondria is increasing, they acquire typical structure. In the sarcoplasm there is accumulation of glycogen granules and decrease of intracellular edema.

Conclusions. Deep cooling of skeletal muscles causes dystrophic and destructive damage of intracellular organization of myosimplasts with mitochondrial dysfunction. During the first day dystrophic changes in severity are within the physiological compensation. By the third day of the experiment the damage of submicroscopic organization of skeletal muscles have become destructive, as evidenced by focal lysis of the nuclear membrane, endoplasmic reticulum membrane, outer membrane and cristae of mitochondria. In the sarcoplasm glycogen granules are disappearing. These changes indicate the deepening of processes of degradation of intracellular membrane system. By the seventh day of the experiment, at the intracellular level of some myosimplasts reparative processes aimed at restoring the disturbed ultrastructural architectonics have been developing.

The study of morphological features of cold injury for the development of conservative therapy and preoperative preparation to reduce necrotic tissue with frostbite shows considerable promise.

Keywords: ultrastructure of myosimplasts, deep cooling, mitochondrial dysfunction.

Рецензент – проф. Костиленко Ю. П.

Стаття надійшла 22. 08. 2014 р.