

УДК 612.014.2:616.831-001.40

*П.Н. Замятин\**, *В.В. Негодуйко\*\**, *В.П. Невзоров\**, *О.Ф. Невзорова\**

*\* ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В.Т. Зайцева НАМН Украины»,  
г. Харьков*

*\*\* Военно-медицинский клинический центр Северного региона Минобороны Украины,  
г. Харьков*

## **ИЗУЧЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ МАКРОФАГОЦИТОВ ИЗ КАПСУЛЫ, ОКРУЖАЮЩЕЙ ОГНЕСТРЕЛЬНЫЙ ОСКОЛОК, В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРОЛЯХ**

Показан полиморфизм субмикроскопической организации органелл макрофагов из капсулы, окружающей огнестрельный осколок. Большая часть макрофагов находится в состоянии высокой функциональной активности. Отдельные макрофаги содержат органеллы, подверженные дистрофическим и деструктивным нарушениям в виде очагового лизиса мембран ядра, митохондрий, гранулярного эндоплазматического ретикулума, плазмолеммы, что свидетельствует об активном развитии катаболических процессов в ответ на диффузию ионов металлов и других компонентов из осколка. Нарушенная ультраструктурная организации органелл макрофагов сохраняется неизменной до конца эксперимента.

**Ключевые слова:** ультраструктура макрофагов, огнестрельный осколок, митохондриальная дисфункция, металлоз, кроли.

Макрофаги играют важную роль как в естественном, так и в приобретенном иммунитете организма. Участие макрофагов в естественном иммунитете проявляется в их способности к фагоцитозу и в синтезе ряда активных веществ – фагоцитина, лизоцима, интерферона, пирогенов, компонентов системы комплемента, которые являются основными факторами естественного иммунитета; их роль в приобретенном иммунитете заключается в передаче антигена иммунокомпетентных клеток (лимфоцитам) после его превращения из корпускулярной формы в молекулярную (участие в кооперативной триклеточной системе иммунного ответа вместе с Т- и В-лимфоцитами) [1–3]. Кроме того, макрофаги продуцируют медиаторы-монокины, способствующие специфической реакции на антигены и цитолитические факторы, избирательно разрушающие опухолевые клетки. Происходят макрофаги из моноцитов красного костного мозга, то есть из стволовых гемопоэтических клеток, и завершают собой моноцитарный гистогенетический ряд. К макрофагической системе принадлежит совокупность всех клеток, которые

способны захватывать из тканевой жидкости организма инородные частицы, погибшие клетки и неклеточные структуры, бактерии, другое. Фагоцитированный материал внутри клетки подвергается ферментативному расщеплению в лизосомном аппарате. Таким образом ликвидируются вредные для организма агенты, которые возникают местно или попадают извне [4–7].

Цель исследования – выявить динамику и особенности субмикроскопической архитектоники органелл макрофагов из ткани капсулы, окружающей огнестрельный осколок, в различные сроки после огнестрельного ранения скелетных мышц кролей.

**Материал и методы.** Эксперимент проведен на кролях, которым было нанесено огнестрельное ранение задней группы мышц бедра с последующим оставлением осколка в ткани. Забор материала для изучения ультраструктуры макрофагов производили через 30 и 60 суток после формирования капсулы. Кусочки ткани капсулы после иссечения помещали для предварительной фиксации в 2,5%-ный забуференный раствор глицерового альдегида на 5–6 часов при темпе-

ратуре 4 °С. После промывки в буферном растворе ткань переносили в 1%-ный забуференный раствор четырехокси осмия для окончательной фиксации на 3–4 часа при температуре 4 °С. Дегидратацию проводили в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. В дальнейшем ткань пропитывали и заключали в смесь эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60 °С 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 на электронном микроскопе ЭМ-125 при ускоряющем напряжении 75 кв.

**Результаты и их обсуждение.** На 30-е сутки после огнестрельного ранения в капсуле, окружающей осколок, присутствовали макрофагоциты, находящиеся в состоянии метаболической активности, а также клетки с той или иной степенью дистрофических нарушений. Субмикроскопическая архитек-

тоника этих клеток отличалась полиморфизмом.

Часть макрофагоцитов содержала хорошо развитые органеллы. Ядра имели неправильную форму, матрикс ядра содержал как конденсированный, так и деконденсированный хроматин. Ядерная мембрана была сильно разрыхлена, образовывала глубокие инвагинации. Очаги деструкции кариолеммы отсутствовали. Расширения перинуклеарных пространств отсутствовали. Гранулярный эндоплазматический ретикулум представлен расширенными цистернами, заполненными веществом, обладающим низкой электронной плотностью. К мембранам гранулярного эндоплазматического ретикулума прикреплены многочисленные рибосомы. Многочисленные скопления в цитоплазме рибосом и полисом заполняли большую часть цитоплазмы макрофагоцитов.

Митохондрии мелкие, умеренно набухшие с электронно-прозрачным матриксом и небольшим количеством укороченных крист (рис. 1, *a*). Пластинчатый цитоплазматичес-

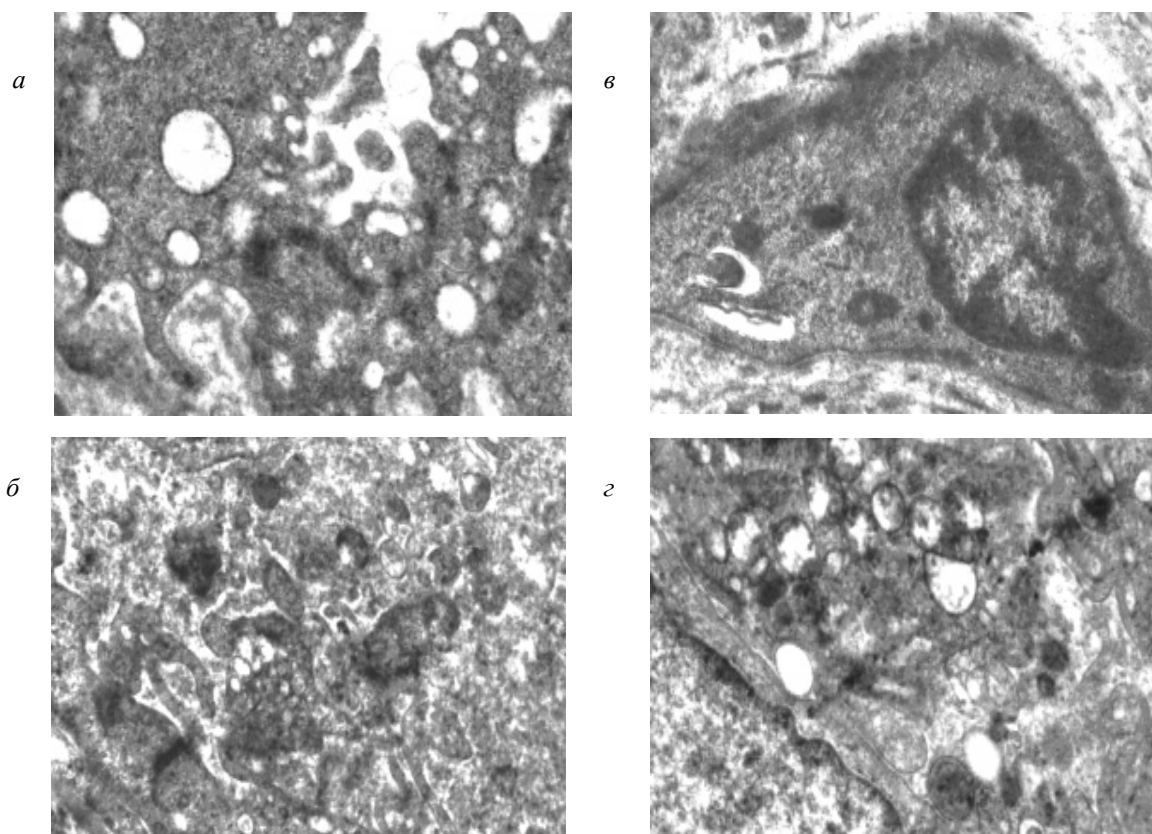


Рис. 1. Ультраструктура макрофагоцитов из капсулы, окружающей осколок, в ткани бедренной мышцы кролей через 30 суток после огнестрельного ранения. Контрастировано цитратом свинца: *a* – набухание митохондрий, просветление матрикса,  $\times 32\ 000$ ; *b* – вторичные лизосомы в цитоплазме,  $\times 34\ 000$ ; *v* – разрыхление цитоплазматической мембраны,  $\times 37\ 000$ ; *z* – скопление фагоцитированного материала и включений липидов в цитоплазме,  $\times 33\ 000$

кий комплекс Гольджи гипертрофирован, его гладкие мембраны, собранные в пакеты, параллельно ориентированы и окружены множеством мелких везикул. Вблизи пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи располагались вторичные лизосомы и включения фагоцитированного материала, вероятно, липопротеидной природы (рис. 1, б). В цитоплазме обнаруживались крупные вторичные лизосомы. Цитоплазматическая мембрана макрофагов имела разрыхленную структуру и большие участки лизиса (рис. 1, в).

Цитоплазма отдельных макрофагов содержала деструктивно измененные митохондрии с электронно-прозрачным матриксом, разрушенными кристами и очагами лизиса наружной мембраны. Кроме того, в ней присутствовали в большом количестве аутофагосомы и включения липидов (рис. 1, г).

Субмикроскопическая организация макрофагов из окружающей огнестрельный

осколок капсулы в скелетных мышцах на 60-е сутки после огнестрельного ранения в этот срок наблюдения содержит элементы протекания дистрофических процессов.

Ядра макрофагов приобретают неправильную форму. Ядерная мембрана сохраняет четко контурированную структуру, присущую элементарной биологической мембране. Очаги разрыхления и деструкции не выявлены. Наблюдаются многочисленные инвагинации оболочки ядра. Перинуклеарные пространства неравномерно расширены и заполнены веществом очень низкой электронной плотности. Глыбки конденсированного хроматина концентрируются как на ядерной мембране, так и диффузно рассеяны по матриксу ядра. В ядрах, как правило, присутствуют осмиофильные ядрышки (рис. 2, а).

Многочисленные цистерны гранулярного эндоплазматического ретикула сильно расширены, электронно-прозрачны. Обнаруживается полиморфизм митохондрий. Эти ор-

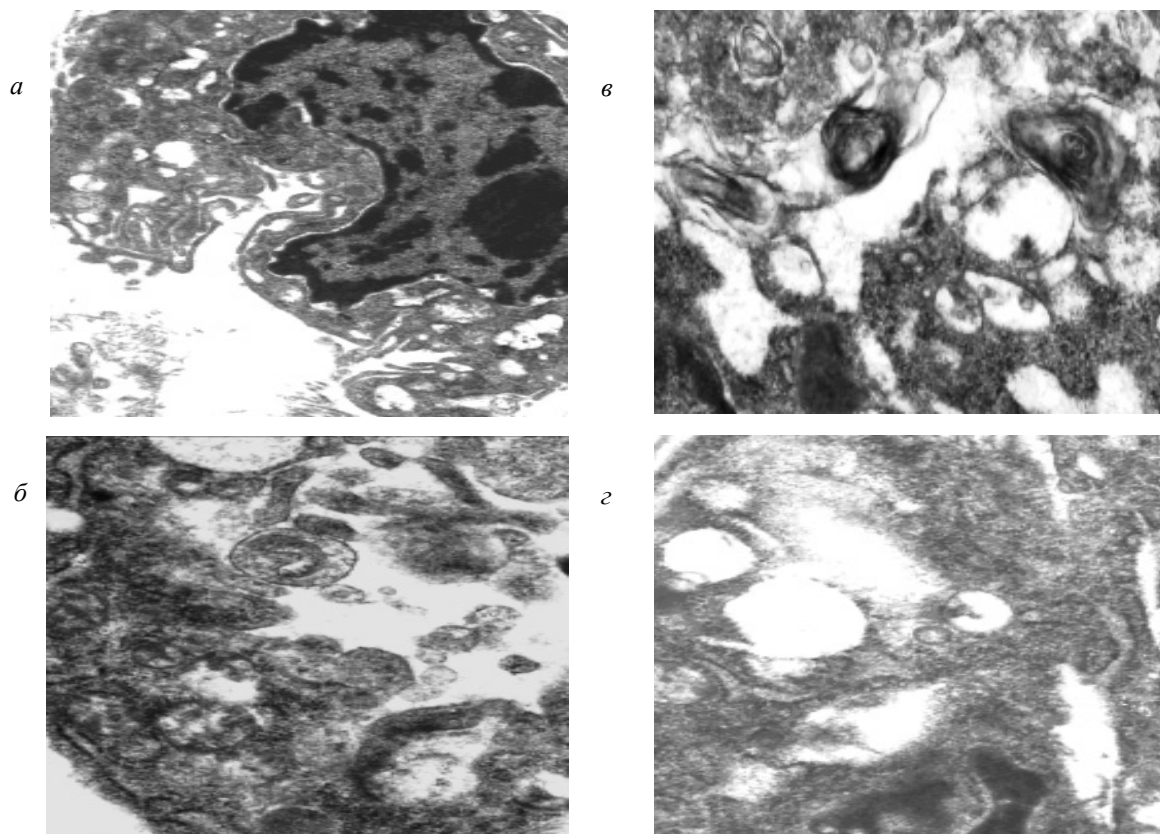


Рис. 2. Ультраструктура макрофагов из капсулы, окружающей осколок, в ткани бедренной мышцы кролей через 60 суток после огнестрельного ранения. Контрастировано цитратом свинца:

- а – конденсация хроматина, инвагинации ядерной мембраны, осмиофильные ядрышки в цитоплазме,  $\times 36\ 000$ ; б – деструкции наружных мембран и крист митохондрий,  $\times 37\ 000$ ;  
в – вторичные лизосомы и формирующиеся миелиноподобные тельца,  $\times 35\ 000$ ;  
г – очаги некроза цитоплазмы,  $\times 34\ 000$

ганеллы имеют различные размеры и форму, матрикс их варьирует по плотности. Кристы митохондрий дезорганизованы и укорочены. У значительной части митохондрий можно наблюдать очагово разрушенные наружные мембраны и кристы (рис. 2, б).

В цитоплазме отдельных макрофагочитов обнаруживаются многочисленные вторичные лизосомы, в структуре которых выявляются миелиновые образования (рис. 2, в).

В препаратах определяются отдельные макрофагоциты, содержащие в непосредственной близости от дезорганизованных гладких мембран пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи очаги некроза внутриклеточных органелл (рис. 2, г).

На 30-е сутки после формирования капсулы при электронно-микроскопическом исследовании макрофагочитов выявлен полиморфизм изменений субмикроскопической организации органелл этих клеток. В препаратах большое количество макрофагочитов находилось в состоянии высокой функциональной активности, что структурно выражалось наличием развитого гранулярного эндоплазматического ретикулума с многочисленными рибосомами, локализованными на мембранах, а также гипертрофии пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. У небольшой части макрофагочитов органеллы были подвержены дистрофическим и деструктивным нарушениям в виде очагового лизиса мембран ядра, митохондрий, гранулярного эндоплазматического ретикулума, а также плазмолеммы, что свидетельствует об активном развитии катаболических процессов, в ответ на диффузию ионов металлов и других компонентов из осколка. Это косвенно подтверждается присутствием в цитоплазме вторичных лизосом и включений липидов и большого количества фагоцитированного материала.

Электронно-микроскопическое исследование ультраструктурной организации органелл макрофагочитов на 60-е сутки после огнестрельного ранения выявило аналогичные предыдущему сроку наблюдения изменения. Вместе с тем, в препаратах возрастает число макрофагочитов, содержащих органеллы с дистрофическими и деструктивными нарушениями, что свидетельствует о нарастании активности катаболических внутриклеточных процессов. В основе этого процесса, на наш взгляд, лежит, с одной стороны,

развитие митохондриальной дисфункции, с другой – высокое содержание в цитоплазме макрофагочитов фагоцитированного вещества.

Таким образом, выявленные изменения ультраструктурной организации органелл макрофагочитов показал, что в области длительного нахождения чужеродного тела (огнестрельного осколка) поддерживается высокая активность макрофагочитов, связанная с длительно текущим воспалительным процессом. Последний вызывается проникновением токсических веществ в окружающую осколок ткань из огнестрельного осколка.

#### **Выводы**

1. Субмикроскопическая организация макрофагочитов из капсулы, окружающей огнестрельный осколок, на 30-е сутки обладает полиморфизмом.

2. В препаратах большое количество макрофагочитов находилось в состоянии высокой функциональной активности, что структурно выражалось наличием развитого гранулярного эндоплазматического ретикулума с многочисленными рибосомами, локализованными на мембранах, а также гипертрофии пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи.

3. Часть макрофагочитов содержала органеллы, подверженные дистрофическим и деструктивным нарушениям в виде очагового лизиса мембран ядра, митохондрий, гранулярного эндоплазматического ретикулума, а также плазмолеммы, что свидетельствует об активном развитии катаболических процессов в ответ на диффузию ионов металлов и других компонентов из осколка.

4. Ультраструктурная организации органелл макрофагочитов на 60-е сутки после огнестрельного ранения сохраняется неизменной относительно предыдущего срока наблюдения.

5. Количество макрофагочитов, содержащих органеллы с дистрофическими и деструктивными нарушениями, на 60-е сутки эксперимента растет, что свидетельствует о возрастании активности катаболических внутриклеточных процессов, связанных с развитием митохондриальной дисфункции и высоким содержанием в цитоплазме макрофагочитов фагоцитированного вещества.

6. В области длительного нахождения чужеродного тела (огнестрельного осколка) в скелетной мышце поддерживается высокая ак-

тивність макрофагоцитів, зв'язана з дилативно-текущим запальним процесом,

який викликається проникненням іонів металів і речовин з вогнестрельного осколка.

### Список литературы

1. Гистология, цитология и эмбриология: учебник / под ред. С.М. Зиматкина. Минск, 2012. 462 с.
2. Михайлюсов Р.Н. Морфометрия современных огнестрельных ран мягких тканей // Проблемы військової охорони здоров'я. 2016. Вип. 46. С. 358–366.
3. Луцик О.Д., Иванова А.Й., Кабак К.С., Чайковський Ю.Б. Гістологія людини. Київ: Книга плюс, 2010. 584 с.
4. Военно-полевая хирургия / под ред. Е.К. Гуманенко. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 768 с.
5. Патологическая анатомия боевых поражений и их осложнений / под. ред. С.А. Повзуна, Н.Д. Клочкова, М.В. Рогачева. СПб.: Военно-медицинская академия, 2002. 179 с.
6. Вказівки з військово-польової хірургії / за ред. Я.Л. Заруцького, А.А. Шудрака. К.: СПД Чалчинська Н.В. 2014. 396 с.
7. Герасименко О.І., Антонов А.Г., Герасименко К.О. та ін. Судова медицина: підручник для ВНЗ / за заг. ред. О.І. Герасименка. К.: КНТ, 2016. 630 с.

**П.М. Зам'ятін, В.В. Негадуйко, В.П. Невзоров, О.Ф. Невзорова**

#### **ВИВЧЕННЯ УЛЬТРАСТРУКТУРИ МАКРОФАГОЦИТІВ ІЗ КАПСУЛИ, ЩО ОТОЧУЄ ВОГНЕПАЛЬНИЙ ОСКОЛОК, У СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗ'АХ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

Показаний поліморфізм субмікроскопічної організації органел макрофагоцитів з капсули, що оточує вогнепальний осколок. Велика частина макрофагоцитів знаходиться в стані високої функціональної активності. Окремі макрофагоцити містять органели, схильні до дистрофічних і деструктивних порушень у вигляді осередкового лізису мембран ядра, мітохондрій, гранулярного ендоплазматичного ретикулу, плазмолем, що свідчить про активний розвиток катаболічних процесів, у відповідь на дифузію іонів металів і інших компонентів із осколка. Порушена ультраструктурна організація органел макрофагоцитів зберігається незмінною до кінця експерименту.

**Ключові слова:** ультраструктура макрофагоцитів, капсула вогнепального осколка, мітохондріальна дисфункція, металоз, кролі.

**P.N. Zamyatin, V.V. Negoduiko, V.P. Nevzorov, O.F. Nevzorova**

#### **STUDY OF ULTRASTRUCTURE OF MACROPHAGOCYTES FROM THE CAPSULE SURROUNDING THE GUNSHOT FRAGMENT IN THE SKELETAL MUSCLES IN EXPERIMENT ON RABBIT**

Show polymorphism of the submicroscopic organization of macrophagocyte organelles from the capsule surrounding the fire fragment is shown. Most of the macrophagocytes are in a state of high functional activity. Some macrophagocytes contained organelles susceptible to dystrophic and destructive disturbances in the form of focal lysis of the nuclear membranes, mitochondria, granular endoplasmic reticulum, and plasmolema, which indicates the active development of catabolic processes in response to the diffusion of metal ions and other components from the fragment. The disturbed ultrastructural organization of the macrophage organelles remains unchanged until the end of the experiment.

**Keywords:** macrophagocyte ultrastructure, fire fragment, mitochondrial dysfunction, metallosis, rabbit.

Поступила 26.04.17