

© Домбровський Д.Б.

УДК 611.013.395:616.13 – 002 – 005.4 – 092.4

## **УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ЕНДОТЕЛІАЛЬНИХ КЛІТИН КАПІЛЯРІВ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ**

*Д.Б.Домбровський*

*Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О.Шалімова, м. Київ*

**Резюме.** Вивчена ультраструктура ендотеліальних клітин капілярів м'язової тканини у лабораторних щурів. Наведена характеристика органел ендотеліоцитів інтактною м'язової тканини та зміни цих клітин у різні терміни після моделювання ішемії. Доведена доцільність застосування методу електронної мікроскопії в експериментальних та клінічних дослідженнях для оцінки патологічних процесів на субклітинному рівні.

**Ключові слова:** ішемія, капіляр, електронна мікроскопія.

Особливості структурної реакції м'язової тканини на ішемію вивчені недостатньо, що пов'язано з низькою інформативністю гістологічних досліджень на субклітинному рівні. Особливо доцільним є вивчення структурної перебудови м'язової тканини з погляду збільшення частоти захворювань на облітеруючі ураження судин кінцівок, які супроводжуються ішемічним синдромом [1, 2]. Оскільки зміни клітини під впливом ішемії починаються з порушення функції та структури клітинних органел, перспективним є дослідження стану клітин м'язової тканини за допомогою електронної мікроскопії [3, 4].

**Мета дослідження.** Вивчити особливості ультраморфометричного стану м'язової тканини при експериментальній ішемії кінцівки.

**Матеріал і методи.** Експериментальні дослідження проведені на 20 нелінійних білих щурах, масою  $370,47 \pm 8,31$  г, віком  $6 \pm 1,2$  місяців, яких утримували на звичайному лабораторному раціоні при кімнатній температурі

повітря. Оперативні втручання проводили під кетаміновим наркозом, в умовах асептики та антисептики, на базі експериментального відділу Національного інституту хірургії та трансплантології ім. О.О.Шалімова. Ішемію тканин кінцівки моделювали за методом Т.А.Князевої (1974). На етапі забору матеріалу тварин виводили з експерименту передозуванням наркозу. М'язову тканину для електронно-мікроскопічного дослідження брали з медіальної та латеральної поверхонь стегна на 1-шу, 2-гу, 3-тю, 7-му, 10-ту, 15-ту, 20-ту і 25-ту доби. Як контроль досліджували біопсійний матеріал від інтактних тварин. Шматочки м'язової тканини фіксували в 2,5 % розчині глутаральдегіду на фосфатному буфері (рН – 7,2-7,4) і дофіксували в 1% розчині  $O_3$ . Матеріал зневоднювали в спиртах висхідної концентрації, поміщали в аралдит. Морфологічні структури контрастували в процесі зневоднення матеріалу насиченим розчином уранілацетату, а на зрізах – цитратом

свинцю. Зрізи завтовшки 40-60 нм, одержані на ультратомі УМТП-3, вивчали в електронному мікроскопі ТЕСЛА БС-500.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Електронномікроскопічно у м'язовій тканині інтактних тварин клітинні контакти являють собою достатньо варіабельні за шириною міжклітинні щілини, які у вигляді стрічки обмежують кожний ендотеліоцит. Люменальна поверхня має нерівний контур і вкрита пластівцевоподібною речовиною. Цитоплазматична мембрана ендотеліоцитів утворює псевдоподії та інвагінації, містить мікроевезикули, які забезпечують транспорт речовин крізь ендотеліальну стінку. Поверхня клітин, спрямована у просвіт судини, нерівна, формує множинні мікророзростки і складки, які контактують з клітинами крові, а поверхня, яка спрямована до базальної мембрани, – гладенька. Цитоплазма ендотеліальних клітин характеризується різною електронною щільністю, що залежить від ступеня розвитку ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі. Окрім органел, ендотеліоцити мікросудин містять значну частину спеціалізованих структур (мікроевезикули, трансендотеліальні канали і мікророзростки, відростки). У цитоплазмі візуалізуються мітохондрії різної форми та розмірів, які характеризуються короткими

та впорядкованими кристами і матриксом. Ядро ендотеліоцитів овальної або округлої форми, його мембрана рівна і гладенька. Залежно від стану функціональної активності клітини ядро змінювало свою форму та розміри. На периферії цитоплазми ендотеліоцитів містяться поодинокі мітохондрії та везикулярні структури. Більшість мікроевезикул визначається безпосередньо біля цитоплазматичної мембрани та відкривається на її поверхні. Пори ендотеліоцитів представлені редукованими трансендотеліальними каналами, які мають полігональну форму і локалізуються в найтонших ділянках клітинної стінки.

Після моделювання ішемії перші ультраструктурні зміни ендотеліоцитів судин м'язової тканини спостерігалися на 1-2 добу: зниження активності трансендотеліального мікропіноцитозу, зменшення кількості мікророзросток (рис. 1). У структурі клітин комплекс Гольджі відсутній, цілісність плазматичної мембрани, як правило, порушена. Ендотеліоцити набрякли, вакуолізовані, що свідчить про різке порушення водно-електролітного балансу клітин та функції їх цитоскелету, що призводить до неспроможності забезпечення повноцінного ендоекзоцитозу. Така модифікація внутрішньоклітинних структур призводить до вираженої

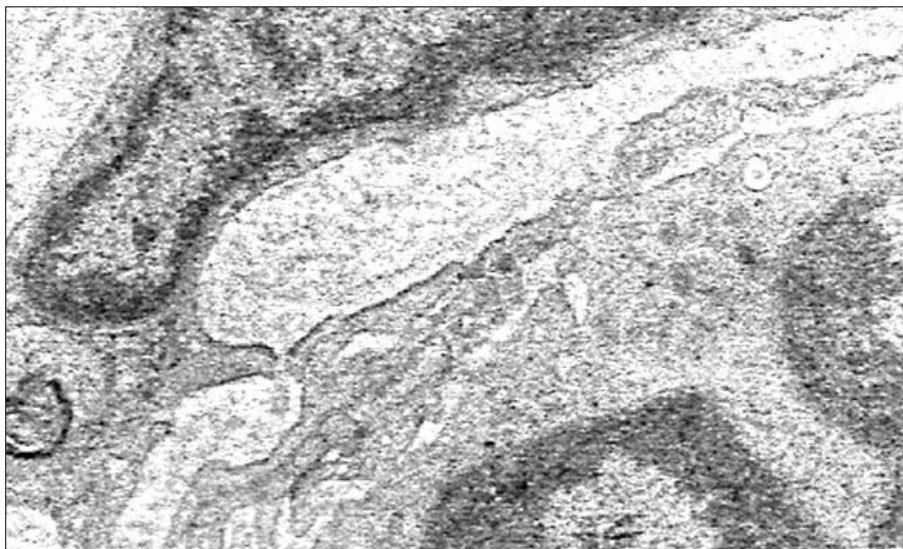


Рис. 1. Зменшення кількості мікророзросток та цитоплазматичних виростів ендотеліоцитів на 2-гу добу експериментальної ішемії. Зб. 18000 $\times$ .

деформації ендотеліоцитів та їх деструкції. Виражена неоднорідність клітин нівелює функцію збереженого ендотелію як головного компонента гістогематичного бар'єру. Ультраструктурні зміни перш за все спостерігаються з боку мітохондрій: набрякання цих органел, просвітлення їх матриксу, поява в них мієліноподібних структур. Змінюється і внутрішня структура мітохондрій: розширюються міжкристині проміжки, деструктивно змінюються кристи, аж до повного їх зникнення.

На 3-тю добу моделювання ішемії спостерігалася тенденція до поглиблення деструктивних змін. Виявлені капіляри із закритим просвітом, із вмістом вільно розташованих мембран та їх комплексів або розширених мієліноподібних структур. Базальні мембрани представлені гомогенізованими структурами з явищами розпушення та фрагментації. Мітохондрії деструктивно змінених клітин значно варіабельні за формою, розмірами та вмістом. Проте на фоні деструктивних змін трапляються малодиференційовані електроннощільні ендотеліоцити з наявністю виростів та інвагінацій плазматичної мембрани, великого гомогенізованого ядра, з великою кількістю рибосом та полісом у цитоплазмі.

На 7-му добу кількість незрілих ендоте-

ліоцитів зростає. На люменальній поверхні ендотеліоцитів формується значна кількість ворсинок та брунькоподібних виростів, що збільшує робочу поверхню капілярів (рис. 2). Незважаючи на наявність неоендотеліоцитів, процеси деструкції клітин кровоносних капілярів м'язової тканини зростають. Має місце значний субендотеліальний набряк із розшаруванням збережених ендотеліальних острівців, з деструкцією фібрилярної структури аморфної речовини субендотеліальної зони та накопиченням продуктів тканинного метаболізму. Часто виявляються клітини, ядра яких мають ексцентрично розташований хроматин та зигзагоподібні контури.

На 10-ту добу у збережених ендотеліоцитах цитоплазматичний матрикс різко просвітлюється, що свідчить про втрату внутрішньоклітинного калію та інших іонів. Фіксували наявність капілярів з порожнім розширеним просвітом. Базальна мембрана ендотелію значно набрякла, а в деяких клітинах спостерігається посилена піноцитозна активність. Окрім того, мають місце виражені зміни мітохондрій, зокрема, дисконтакція та розправлення крист, дислокація їх мембран. Ядра електроннощільних клітин набрякли, хроматин розташований пухко.

На 15-ту добу ішемії звертає увагу значне скупчення у сплюсненій цитоплазмі віль-

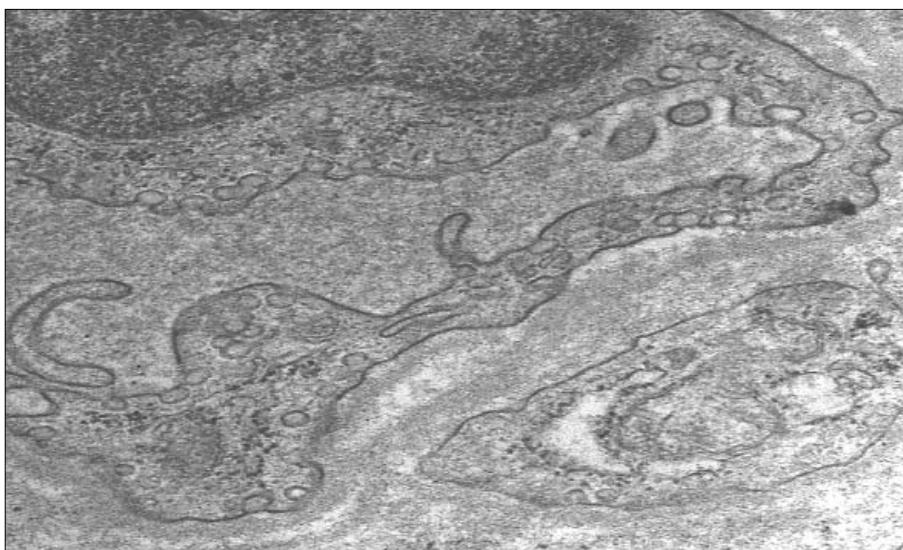


Рис. 2. Великі мікроросинки та цитоплазматичні вирости на люменальній поверхні ендотеліоцита на 7-му добу експериментальної ішемії. Зб. 18000 $\times$ .

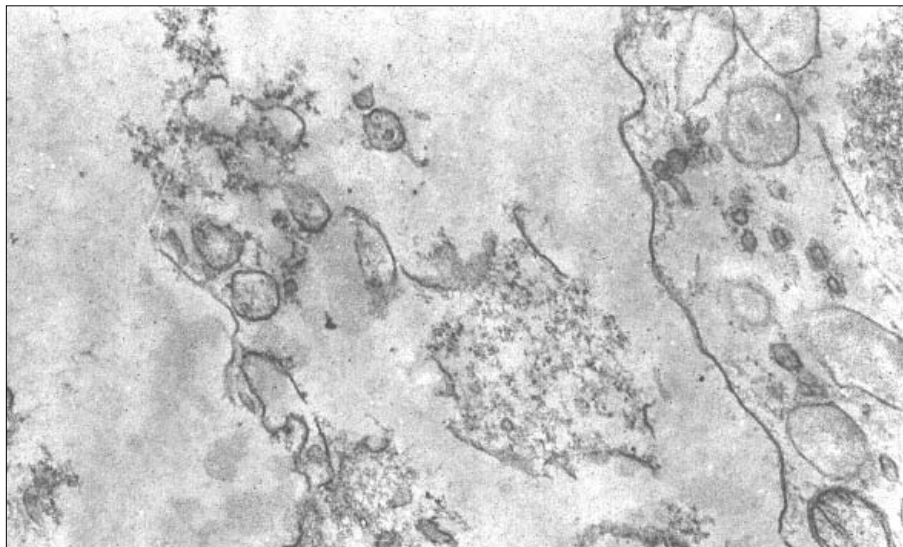


Рис. 3. Фрагмент десквамованої цитоплазми ендотеліоцитів у просвіті капіляра (25-та доба експериментальної ішемії). Зб. 28000<sup>х</sup>.

них рибосом, ліпідних гранул та мікропіноцитозних везикул. Внутрішня поверхня ендотеліоцитів має зубчасті контури за рахунок невеликих інвагінацій клітинної мембрани та наявності цитоплазматичних відростків. Спостерігається дисконплектація та розширення цистерн ендоплазматичного ретикулуму. Патологічні зміни мітохондріальної системи мали тенденцію до поглиблення. Край цитоплазми, спрямований до базальної мембрани, нерівний, а цитоплазматичні вирости випиналися в нього не глибоко. Пластинчастий комплекс Гольджі має збільшені везикули та розширені цистерни, які розташовуються в різних частинах цитоплазми.

На 20-ту добу експериментальної ішемії зони збереженого ендотелію представлені у вигляді сплюснених клітин, які мають мікропіноцитозні везикули як по люменальному, так і базальному краях; везикулярні структури об'єднуються, формуючи у стоншеній частині цитоплазми розриви. Про розриви цитоплазматичних мембран ендотеліальних клітин свідчила й значна кількість вільно розташованих цитоплазматичних структур у просвіті мікросудин. У матриксі знижена кількість рибосом, з'являються фібрилярні структури з короткими

розгалуженими філаментами, що свідчить про порушення білкового обміну. Виявлені розпушення, стоншення та деструкція позаклітинного компонента базальної мембрани; в деяких випадках він фрагментується, фібрилярний компонент зникає і формується гомогенна структура, що свідчить про порушення проникності збережених ендотеліальних клітин. Реєструється деструкція структурних елементів пластинчатого комплексу.

До 25-ї доби спостереження патологічні ультраструктурні зміни поглиблювалися. Цитоплазма збережених ендотеліоцитів в основному просвітлена, кількість мітохондрій зменшена, останні малих розмірів, неправильної форми. В органелах спостерігається фрагментація та деструкція крист, пластинчастий комплекс Гольджі має вигляд цистерн із гладенькими контурними мембранними профілями, локалізується біля ядра, каналці ендоплазматичної сітки розширені. Просвіт капілярів різко звужений, заповнений еритроцитами з ознаками сладж-синдрому, що пов'язано з набуханням цитоплазми ендотеліоцитів; у деяких просвіт повністю заповнений цитоплазматичним детритом десквамованих клітин (рис. 3). Окрім цього, збільшується кількість капілярів, просвіт яких не візуалізується. Люме-

нальна поверхня ендотеліоцитів практично не має мікроворсинок, а в прекапілярному просторі, який розширений та просвітлений, виявлені колагенові волокна.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** 1. Ішемія призводить до повного структурного та функціонального руйнування м'язової тканини на субклітинному рівні. Процеси ангиогенезу, які фіксуються вже на 3-тю добу розвитку ішемії, свідчать

про компенсаторну відповідь тканинних факторів на патологічний процес, але вони нестійкі та короточасні. 2. Застосована модель ішемічного ураження дозволяє об'єктивно оцінити характер досліджуваних процесів, які відбуваються в ішемізованій м'язовій тканині. Використання в експериментальних та клінічних дослідженнях електронної мікроскопії сприяє глибшому розумінню змін на субклітинному рівні.

### Література

1. *Meta-analysis of popliteal-to-distal vein bypass grafts for critical ischemia* / M.Albers, M.Romiti, F.C.Brochadoneto [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 2006. – Vol. 43, № 3. – P. 498 – 503.
2. *Sritharan K. The ischaemic leg* / K.Sritharan, A.H.Davies // *Br. J. Hosp. Med.* – 2006. – Vol. 67, № 3. – P. 56 – 68.
3. *Therapeutic angiogenesis of critical lower limb ischemia. Review of the literature and prospects of research on stem cells* / R. Di Stefano, U.Limbruno, D.Barone, A.Balbarini // *Ital. Heart. J. Suppl.* – 2004. – № 5. – P. 1 – 13.
4. *Laissy J.P. Imaging of the lower limb arteries: when, how and why?* / J.P.Laissy, J.M.Pernes // *J. Radiol.* – 2004. – Vol. 85. – P. 845 – 850.

### УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАПИЛЛЯРОВ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

**Резюме.** Изучена ультраструктура эндотелиальных клеток капилляров мышечной ткани крыс. Приведена характеристика органелл эндотелиоцитов мышечной ткани и изменения этих клеток в разные сроки после моделирования ишемии. Доказана целесообразность использования метода электронной микроскопии в экспериментальных и клинических исследованиях для оценки патологических процессов на субклеточном уровне.

**Ключевые слова:** ишемия, капилляр, электронная микроскопия.

### ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF THE ENDOTHELIAL CELLS OF THE CAPILLARIES OF THE MUSCULAR SYSTEM UNDER CONDITIONS OF ISCHEMIA

**Abstract.** The ultrastructure of the capillary muscular tissue of laboratory rats has been studied. A characteristic of the organelles of endothelial cells of these cells during different periods following ischemia simulation has been adduced. The expediency of using the method of electron microscopy in experimental and clinical studies is corroborated in order to evaluate pathological processes at the subcellular level.

**Key words:** ischemia, capillary, electronic microscopy.

O.O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology (Kyiv)

Надійшла 27.02.2009 р.  
Рецензент – доц. Л.Я. Федонюк (Чернівці)

© Домбровський Д.Б.