

Р. В. Салютін

## ЗМІНИ СТРУКТУРНИХ ЕЛЕМЕНТІВ КАПІЛЯРІВ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ

Національний інститут хірургії та трансплантології  
ім. О. О. Шалімова АМН України, Київ

Особливості структурної реакції складових частин капілярів м'язової тканини у відповідь на ішемію, яка призводить до метаболічної перебудови на рівні клітини, недостатньо вивчені. Це пов'язано насамперед з недостатньою інформативністю гістологічних досліджень, які повністю не відображають складний процес деструктивних і компенсаторних реакцій на рівні мікроструктури клітини [1].

Особливо доцільним вивчення структури капілярів м'язової тканини вважається через невинне збільшення відсотка хворих з облітеруючими ураженнями судин кінцівок, які супроводжуються ішемічним синдромом, та пошук патогенетично обґрунтованих методів лікування [2; 3]. Оскільки характер дегенеративних змін у значній мірі залежить від структурної складової клітини, нами була поставлена **мета** — дослідити за допомогою методу електронної мікроскопії особливості ультраморфометричного стану клітин капілярів м'язової тканини за умов експериментальної ішемії.

### Матеріали та методи дослідження

Нами проведено експериментальне дослідження з використанням нелінійних білих щурів ( $n=20$ ), що знаходилися при кімнатній температурі на звичайному лабораторному раціоні. Середня маса щурів становила  $(370,47 \pm 8,31)$  г, вік —  $(6,0 \pm 1,2)$  міс. Усі оперативні втручання на щурах проводилися під кетаміновим наркозом. Оперативну частину дослідження, під час якого дотримувались усіх умов асептики й антисептики, проводили на базі експериментального відділу Національного інституту хірургії та трансплантології АМН України.

Моделювання ішемії тканини кінцівки у щура проводили за методом Т. А. Князевої [4], згідно з яким навколо судинної ніжки, що кровопостаचाє тканини кінцівки, проводили дві лігатури на відстані 1 см одна від одної та перев'язували артерію разом з веною. Рану пошарово ушивали. На етапі взяття матеріалу для дослідження тварин виводили із експериментального дослідження шляхом передозування наркозу. В усіх дослідних тварин після закінчення терміну дослідження (на 1-шу, 2-гу, 3-тю, 7-му, 10-, 15-

20 та 25-ту добу) була взята м'язова тканина медіальної та латеральної поверхонь стегна на боці проведення експерименту, після чого були застосовані електронно-мікроскопічні методи дослідження отриманої м'язової тканини. Як контроль досліджували біопсійний матеріал від інтактних білих щурів.

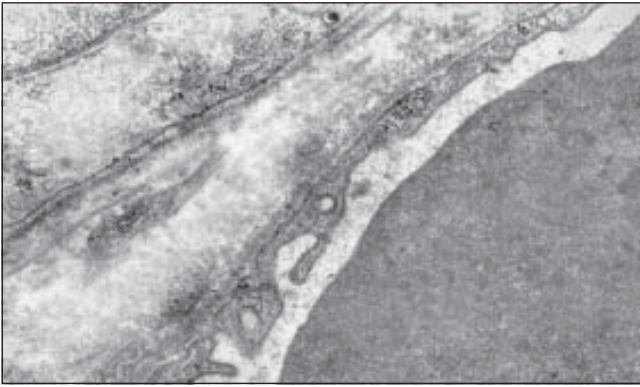
Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки м'язової тканини фіксували в 2,5%-му розчині глутаральдегіду на фосфатному буфері (рН — 7,2–7,4) і дофіксували в 1%-му розчині  $OsO_4$ . Матеріал зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації й укладали в аралдит. Морфологічні структури контрастували в процесі зневоднення матеріалу насиченим розчином ураніацетату, 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 обговорювання

Проведені електронно-мікроскопічні дослідження капілярів м'язової тканини тварин без ішемії показали, що в нормальному стані клітинні контакти являли собою достатньо варіабельну за шириною та вигнуту вузьку міжклітинну щілину, яка у вигляді стрічки обмежувала кожний ендотеліоцит, відокремлюючи його від прилеглих клітин. Люмінальна поверхня була вкрита пластівчастою речовиною та мала нерівний контур. Цитоплазматична мембрана ендотеліоцитів мала псевдоподії, інвагінації та мікровезикули, котрі зумовлювали транспорт речовин через ендотеліальну стінку. Поверхня клітини, звернута в просвіт судини, часто мала нерівний контур, формуючи множинні мікровідростки та складки, що контактували з клітинами крові, а звернута до базальної мембрани — була гладкою (рис. 1).

Цитоплазма ендотеліальних клітин мала різну електронну щільність, що залежало від ступеня розвитку ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі. Крім органел, ендоплазматичні клітини мікросудин мали значну частину спеціалізованих структур, таких як мікровезикули, трансендотеліальні канали, мікроворсинки та відростки. Мітохондрії мали різну форму та розміри, характе-





*Рис. 1.* Ендотелій капіляра. Люмінальна поверхня має вирости цитоплазматичної мембрани. Поверхня клітини, що прилягає до базальної мембрани, гладка. Справа у порожнині капіляра — еритроцит.  $\times 18\ 000$

ризувалися короткими та впорядкованими кристами і матриксом. Ядро ендотеліоцитів було овальної або округлої форми, його мембрана мала рівний і гладкий контур. Залежно від стану функціональної активності клітини ядро змінювало свою форму та розміри. На периферії цитоплазми ендотеліоцитів містилися поодинокі мітохондрії та везикулярні структури. Більшість мікровезикул локалізувались у безпосередній близькості від цитоплазматичної мембрани та прямо відкривалися на її поверхні. Розташування везикулярних інвагінацій на поверхні клітини має суттєве значення щодо визначення функціональної активності ендотеліоцита.

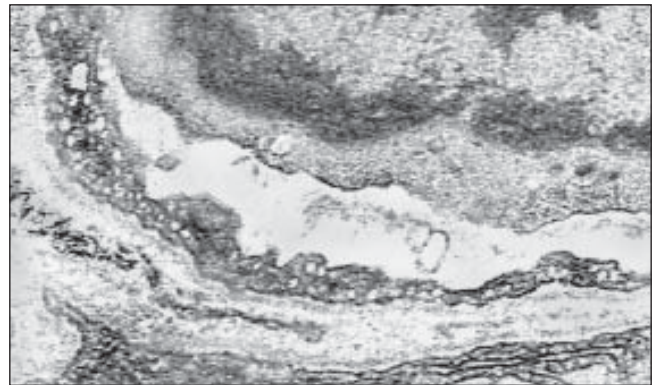
Перші прояви ультраструктурних змін клітин м'язової тканини фіксували на 1-шу–2-гу добу після моделювання ішемії. Спостерігали зниження активності трансендотеліального мікропіноцитозу та зменшення кількості мікроворсинок. У структурі клітин комплекс Гольджі фактично був відсутній, цілісність плазматичної мембрани, як правило, була ушкоджена. Багато ендотеліоцитів були набухлими, вакуолізованими, що свідчило про різке порушення водно-електролітного балансу клітин і функції їх цитоскелета і призводило до нездатності забезпечити повноцінний ендо-, екзоцитоз. Така модифікація внутрішньоклітинних структур призводила до вираженої деформації ендотеліоцитів та їх деструкції (рис. 2). Виражена неоднорідність клітин нівелювала функцію збереженого ендотелію як головного компонента гістогематичного бар'єра.

Ультраструктурні зміни перш за все спостерігалися з боку мітохондрій і проявлялися набряканням даних органел та просвітленням їх матриксу, з'являлися мітохондрії з наявністю мієліноподібних структур. Змінювалася також і внутрішня структура мітохондрій — виникало розширення міжкристичних проміжків і деструкція крист, до повного їх зникнення. До 3-ї доби змодельованої ішемії спостерігалася тенденція до поглиблення деструктивних змін. Траплялися

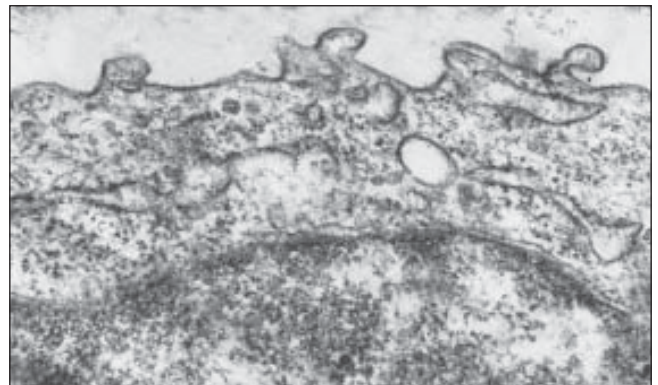
капіляри з закритим просвітом і вмістом вільно розташованих мембран та їх комплексів або розширених мієлоподібних структур і тих, які спалися. Базальні мембрани представлені гомогенізованими структурами з явищами розпушення та фрагментації. Однак на фоні деструктивних змін виявляються малодиференційовані, порівняно електронно-щільні, ендотеліоцити з наявністю виростів та інвагінацій, великого гомогенізованого ядра, багатьох рибосом та полісом (рис. 3).

На 7-му добу кількість незрілих ендотеліоцитів дещо зростала. На люмінальній поверхні ендотеліоцитів формувалася значна кількість ворсинок і брунькоподібних виростів, що збільшує робочу поверхню капілярів. Однак, незважаючи на наявність неоендотеліоцитів, процеси деструкції клітинного апарату м'язової тканини зростали. Спостерігався значний субендотеліальний набряк із розшаруванням збережених ендотеліальних острівців, деструкцією фібрилярної структури аморфної речовини субендотеліальної зони та нагромадженням продуктів порушеного тканинного метаболізму.

На 10-ту добу в збережених ендотеліоцитах цитоплазматичний матрикс різко просвітлювався, що свідчило про втрату внутрішньоклітинного калію та інших іонів. Фіксували наявність ка-



*Рис. 2.* Дрібновакуолярна деструкція ендотеліальних клітин. Праворуч — лейкоцит у порожнині капіляра.  $\times 18\ 000$



*Рис. 3.* Незрілий ендотеліоцит неокапіляра.  $\times 28\ 000$



пілярів із порожнім розширеним просвітом. Базальна мембрана ендотелію мала добре виражений набряк, а в деяких клітинах відзначалася посилена піноцитозна активність. Окрім того, спостерігалися виражені зміни мітохондріальної системи, а саме дисконплектація та розправлення кіст, дислокація їх мембран. Ядра електронно-світлих клітин набухлі, хроматин розташований пухко. На 20-ту добу експериментальної ішемії зони збереженого ендотелію були виявлені у вигляді сплюснених клітин, котрі мають мікропіноцитозні везикули як з люмінального, так і з базального краю, причому везикулярні структури поєднувалися, формуючи у стоншеній частині цитоплазми розриви. Крім того, про розриви цитоплазматичних мембран ендотеліальних клітин свідчила значна кількість вільно розташованих цитоплазматичних структур у просвіті мікросудин. У матриці знижувалася кількість рибосом і з'являлися фібрилярні структури з короткими гілчастими філаментами, що свідчило про порушення білкового обміну. Розпушення, стоншення та деструкція позаклітинного компонента базального шару (в деяких випадках він фрагментувався, його фібрилярний компонент зникав, що призводило до формування гомогенної структури) свідчили про зміну проникності збережених ендотеліальних клітин. Реєстрували деструкцію структурних елементів пластинчастого комплексу.

До 25-ї доби спостереження патологічні ультраструктурні зміни поглиблювалися. Цитоплазма збережених ендотеліоцитів в основному просвітлена, кількість мітохондрій зменшена, останні невеликих розмірів, неправильної форми, в органелах спостерігали фрагментацію та деструкцію крист, пластинчастий комплекс у вигляді цистерн із гладко-контурними мембранними профілями, локалізувався біля ядра, канальці ендоплазматичної сітки розширені, комплекс Гольджі незадовільно розвинутий. Просвіт капілярів був різко звуженим і заповненим еритроцитами з ознаками сладж-синдрому, що було пов'язано з набуханням цитоплазми ендотеліоцитів, а в деяких просвіт повністю був заповнений цитоплазматичним детритом десквамованих клітин (рис. 4).

Крім того, збільшувалася кількість капілярів, просвіт яких не візуалізувався, в зв'язку з повним стисканням сполучною тканиною. Люмінальна поверхня ендотеліоцитів практично не мала мікрворсинок, а в прекапілярному просторі, який був розширеним і просвітленим, локалізувалися колагенові волокна.

Таким чином, результати проведеного експериментального дослідження свідчать про патологічний вплив ішемічного стану, який призводить до повної структурно-функціональної руйнації капілярів м'язової тканини на субклітинному рівні.

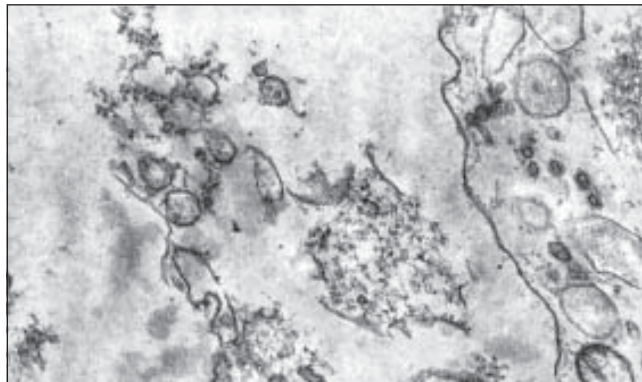


Рис. 4. Десквамація фрагментів цитоплазми ендотеліоцитів у просвіт капіляра.  $\times 28\ 000$

Процеси ангиогенезу, які фіксуються вже на 3-тю добу розвитку ішемії, свідчать про компенсаторну відповідь тканинних факторів на патологічний процес, але мають нестійкий і короткотривалий характер, вивчення цих процесів на субклітинному рівні має теоретичну та практичну значущість.

Застосована модель ішемічного ураження є адекватною та дозволяє об'єктивно оцінити характер досліджуваних процесів, які відбуваються на ультраструктурному рівні клітин капілярів ішемізованої м'язової тканини.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гистология / под ред. Ю. И. Афанасьевой, Н. А. Юриной. — М. : Медицина, 1999. — С. 543.
2. Dormandy J. A. Fate of the patient with chronic leg ischaemia / J. A. Dormandy, M. Nahir, G. Ascady // *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*. — 1999. — N 30. — P. 50–57.
3. Pell J. P. Epidemiology of critical limb ischaemia / J. P. Pell, F. G. R. Fowkes // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2005. — N 2. — P. 23–29.
4. Князева Т. А. Первичный механизм повреждения клеток в ишемизированной ткани / Т. А. Князева // *Вестник Академии медицинских наук СССР*. — 1974. — № 12. — С. 3-8.