

DOI 10.29254/2077-4214-2023-2-169-131-144

UDC 611.661 : 616.127-092.9:31

Zahoruyko H. E., Marcynovskyi V. P., Tsvetukh L. V., Tsaturyan O. H.,***Filatova V. L., *Matvienko T. M., *Sargosh O. D.****SOME FEATURES OF THE ULTRASTRUCTURE OF THE ENDOTHELIUM AND CAPILLARIES OF MYOCARDIUM IN THE EARLY POSTNATAL DEVELOPMENT PERIOD OF WISTAR RATS****Rivne State University of the Humanities (Rivne, Ukraine)*****Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)****prof.zagoruykoGE@gmail.com**

The conducted studies demonstrate significant changes in the endothelium's ultrastructure and myocardium's blood capillaries during the postnatal development of Wistar rats. A series of images of the ultrastructure of the blood capillaries of the myocardium of the left ventricle of rats of various ages allowed us to obtain information for further development and theoretical substantiation of the origin, mechanisms of formation of some intravascular and paravascular vesicles, which are found in ultrathin sections of pieces of the myocardium of animals. The article analyzes the possible functions of processes and lamellae, which are located on the luminal surface of the vascular endothelium of blood capillaries of the myocardium. The role of capillary erythrocytes in the formation and gradual elongation mechanisms of endotheliocyte cytoplasmic appendages, which later develop into blood capillary tubes, was investigated. Morphological manifestations of the development of physiological apoptosis of endotheliocytes in the blood capillaries of the myocardium of sheep were identified and investigated. It was established that a part of apoptotic bodies is adsorbed on the surface of erythrocytes. The obtained data suggest that erythrocytes participate in the adsorption and transport of apoptotic bodies on their surface from blood capillaries to the system of blood vessels. It has been suggested that the removal of apoptotic bodies from the blood and the surface of erythrocytes is mainly carried out by Kupffer macrophages of the liver. It has been established that in rats of various ages, the myocardium sometimes reveals morphological manifestations of diapedesis of erythrocytes from the capillaries into the connective tissue. The authors interpret diapedesis of erythrocytes as an additional mechanism of oxygen saturation of local areas of the myocardial stroma to prevent the possible development of hypoxia of the heart muscle of rats at the stages of postnatal ontogenesis.

Key words: myocardium, capillaries, endothelium, vesicles, diapedesis of erythrocytes.

Connection of the publication with planned research works.

The work was carried out in accordance with the theme of the SRW: "Anatomical and physiological aspects of growth and development of humans and animals." State registration number 0116U002990.

Introduction.

Currently, molecular and cellular mechanisms of *angiogenesis* of the microcirculatory bed (MCB) of the myocardium in the early postnatal ontogenesis of mammals and humans are being actively studied [1, 2]. It has been established that any external influences on the body of animals and humans cause the development of adequate reactions from the organs of the cardiovascular system [2, 3]. It has been proven that in conditions of normality or pathology, a special role in regulating the functions of mammalian and human organs belongs to the blood MCB [3, 4]. According to the data of morphometric studies, it was established that in the process of ontogenesis, there is a significant increase in the blood capillary link in the MCB, which, depending on the age of the animals, reaches from 7.0 to 12.0% of the volume of the heart muscle [5]. The dominant component of blood capillaries is the *endothelium*. The transport, respiratory, trophic, excretory, protective and regulatory functions of the capillary link of the MCB depend on its structural and functional changes [6, 7].

The aim of the study.

Study the features of changes in the ultrastructure of the endothelium and blood capillaries of the left ventricle during the early postnatal development of Wistar rats.

Object and research methods.

The paper examined a series of previously obtained images of the ultrastructure of the myocardium of the left ventricle of Wistar rats at the age of birth (a/b) to 45 days of postnatal development [5]. Rats from the Faculty of Biology of KhNU (Kharkiv) nursery were kept in standard vivarium conditions. In previous work, we described all manipulations with rats and methods of electron microscopic studies [5].

Experimental studies were carried out in compliance with the requirements of humane treatment of experimental animals, regulated by the Law of Ukraine "On the Protection of Animals from Cruelty" (No. 3447-IV dated 21.02.2006) and the European Convention on the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other scientific goals (Strasbourg, March 18, 1986).

Research results and their discussion.

When examining the myocardium of *newborn rats*, *polymorphism of the ultrastructure of endotheliocytes* of blood capillaries was revealed. Microvessels of small diameter, formed mainly by optically *dark* osmiophilic endotheliocytes, are often found in the capillary link of the MCB. (**fig. 1A**). The appearance of "dark" *dehydrated* endotheliocytes in the composition of the capillaries of the myocardium may indicate that after the comple-

tion of *mitotic* division, part of the *optically bright cells*, as a result of their *dehydration* significantly decreases in volume and enter a state of relative *functional rest* (G_0). The endothelial cells of capillaries at rest do not divide or migrate [7]. The nuclear envelope of such cells forms multiple deep invaginations, which may contribute to preserving the “excessive” surface area of the karyolemma. Heterochromatin fills the inner space of dehydrated nuclei. The given data indicate *minimal* activity of condensed chromatin and a significant decrease in biosynthetic processes in dehydrated endotheliocytes. Separate elongated thin microvilli are found on the *luminal* surface of dark endothelial cells.

In blood capillaries, some microvilli are in contact with the surface of deformed erythrocytes (**fig. 1A**). In addition to erythrocytes, small microscopic particles of coagulated blood plasma proteins are found in the capillary lumen. The peripheral zone of the cytoplasm of dark endotheliocytes is significantly *thinned* and practically does not contain micropinocytosis vesicles. The luminal and basal surfaces of the peripheral zone of the cytoplasm of endotheliocytes are located very close to each other. This sometimes leads to the “merger” of the inner and outer sheets of the plasmolemma.

The thinned peripheral zone of endotheliocytes contributes to the simplified diffusion of *oxygen* from blood capillaries into the extravasal space of connective tissue to cardiomyocytes. The sarcoplasm of cardiomyocytes of newborn rats contains many *glycogen granules*, the oxidation of which in the mitochondria requires *oxygen*.

Therefore, the ultrastructure of dehydrated capillary endotheliocytes indicates their *minimal* biosynthetic activity, and the peripheral part of the cells does not take part in the transendothelial transport of substances (except oxygen) due to the absence of micropinocytotic vesicles in the cytoplasm. Optically *bright* endotheliocytes mainly form other blood capillaries of the myocardium, the submicroscopic organization of which corresponds to high functional activity (**fig. 1A**). The *organelle zone* of the cytoplasm of *light* endotheliocytes is significantly increased in volume, contains many small mitochondria and glycogen granules. The Golgi apparatus and ribosomes are separated elements around the light nucleus. The nucleus of light-colored endotheliocytes is *large*, containing mainly euchromatin, the granules fairly evenly filling the karyoplasm. Several electron-dense nucleoli are located in the central zone of the nucleus. Data from the cytoarchitectonics of the microscopic structure of *light* endotheliocytes testify to *active biosynthetic* processes in the area where the organelles are located. Therefore, the revealed features of the ultrastructure give reason to believe that a significant number of light-colored endotheliocytes are at the *end* of the phase (G_1) or at the beginning of the phase (G_2/M) of the cell cycle.

Many endotheliocytes in capillaries are small and contain a nucleus of *moderate* electron density. The ultrastructure of such endotheliocytes suggests that they are at the beginning of the G_1 phase of the cell cycle (**fig. 1B**). The nucleus of endotheliocytes is irregularly elongated. Clusters of condensed chromatin granules form a narrow strip along the lateral surface of the inner membrane of the nuclear envelope. Marginally located heterochromatin has a high degree of osmiophilia. Small grains of euchromatin relatively evenly fill the

karyoplasm. Local clusters of heterochromatin granules are found at the opposite poles of some elongated nuclei. A dense nucleolus is found in the proximal zone of the nucleus. Zones of the cytoplasm of endotheliocytes, in which the nucleus is located, form local protrusions into the lumen of microvessels. This leads to the narrowing of the lumen of the capillaries up to its complete overlap. The ultrastructure of *longitudinal* sections of blood capillaries allows determining the *direction of blood flow* in a specific segment of the MCB of the myocardium and the degree of mobility of local protrusions of the luminal surface of the endothelium (**fig. 1B**). In the capillary bed, the blood flow experiences resistance from the morphological formations of the luminal surface of endotheliocytes. Under the action of the hemodynamic pressure of the moving blood, the protrusions of the cytoplasm’s nuclear zone in the capillaries’ lumen are shifted. The direction of displacement of the protrusions of the nucleus and elongated luminal microvilli indicate the direction of blood flow in the capillary lumen (\downarrow). In the process of blood movement in capillaries, erythrocytes experience mechanical resistance from the luminal protrusions, leading to blood cell deformation. The unique deformability and fluidity of the cytoplasm of erythrocytes enable them to move through narrow openings in capillaries [8]. When analyzing the electronogram in (**fig. 1B**), we drew attention to the cytoplasmic process of the capillary endothelium (\uparrow), which penetrates deeply into the interstitium of the myocardium. An *erythrocyte* is located at the base of the expanded lumen of the cytoplasmic process. Its local protrusion is directed inside the lumen of the process. This polarized cytoplasmic process has a *leading* (\uparrow) tapered blind end and a *leading* widened distal open end. The cytoplasmic process under the pressure of the local protrusion of the *erythrocyte* lengthens and expands. Therefore, it is legitimate to assume that the geometric profile of the cytoplasmic process indicates the initial stage of the capillary tube formation process. The question of how the existing capillary “determines” the place of local protrusion of the peripheral zone of the endothelium and the formation of a cytoplasmic process, which later gradually turns into a capillary tube, remains unsolved [9,10].

Dark dehydrated endotheliocytes are practically *absent* in the blood capillaries of the MCB of the myocardium of *5-day-old rats*. This indicates that during the first 5 days after the birth of animals, dark endotheliocytes in blood capillaries gradually come out of a state of relative *functional rest*. The cytoplasm and nucleus of such cells undergo *hydration*. This leads to the activation of soluble cytoplasmic enzymes that participate in biosynthesis, the formation of organelles and other ultrastructures. The size of endotheliocytes increases significantly, especially the *length of the peripheral* cytoplasmic area. In the myocardium, there are areas of branching of blood capillaries and the formation of single “growth buds” of new microvessels. In the peripheral zone of the cytoplasm of endotheliocytes, chains of small light-colored micropinocytotic vesicles are found, which are freely located or attached to the basal and luminal surfaces of the cytolemma. According to the specialized literature [11], pinocytotic vesicles participate in the transmembrane transport of substances between blood, myocardium and connective tissue elements. In

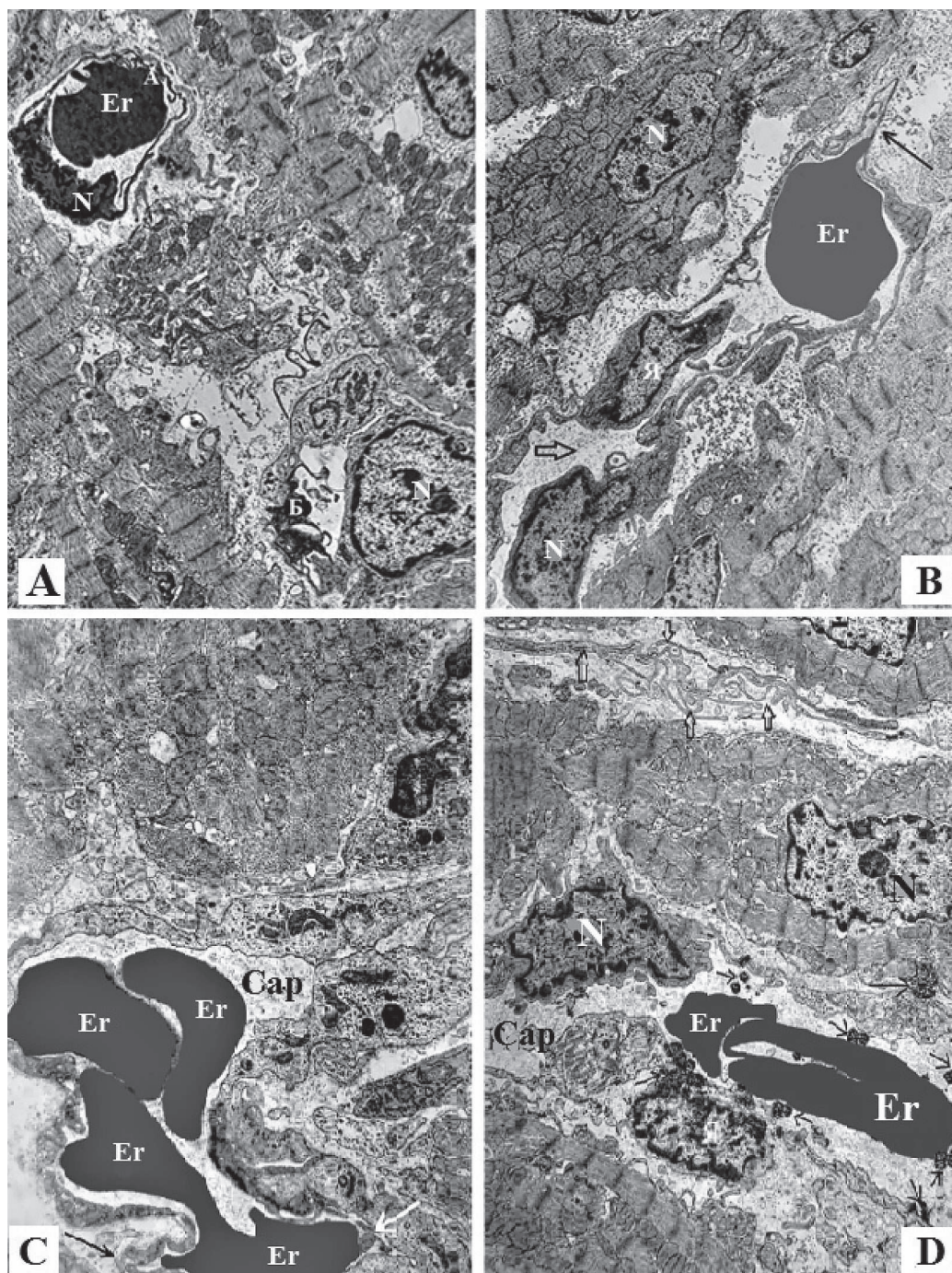


Figure 1 – Ultrastructure of blood capillaries of the myocardium of juvenile rats. Magnification. 7000x. Designation: Er-erythrocyte, Cap-capillary, N-nucleus. The description of the images is contained in the text of the article.

some blood microvessels, the length of the expanded lumen of the capillaries increases significantly. The luminal surface of such microvessels is smoothed, separate thin cytoplasmic processes are revealed, which are oriented toward blood movement along the capillary. A contoured, fully formed basement membrane is located along the basal surface of the capillary cytoplasm. In the MCB of the myocardium of the left ventricle of 5-day-old rats, the number of *capillary loops*, which are formed by bright functionally active endotheliocytes, increases (fig. 1C). Clusters of deformed erythrocytes are found in the expanded lumen of *capillary loops*. An increase in the volume of the cytoplasmic zone of the location of endotheliocyte organelles is determined. The organelle

zone contains mitochondria, microvesicles, and glycogen granules. In some microvessels, opposite protrusions of the cytoplasm of the organelle zone lead to a significant narrowing and sometimes overlapping of the lumen of the blood capillaries. Such a phenomenon is recorded in (fig. 1C). On both sides of the expanded capillary loop, morphological manifestations of narrowing and overlapping of the capillary lumen are revealed. This leads to a stoppage of blood flow in the capillary and deposition of erythrocytes. On the surface of the capillary loop, deep and large protrusions of the peripheral zone of the cytoplasm of the endothelium are formed, which are directed deep into the lumen of the microvessel. The formation of protrusions at the top of the *capillary*

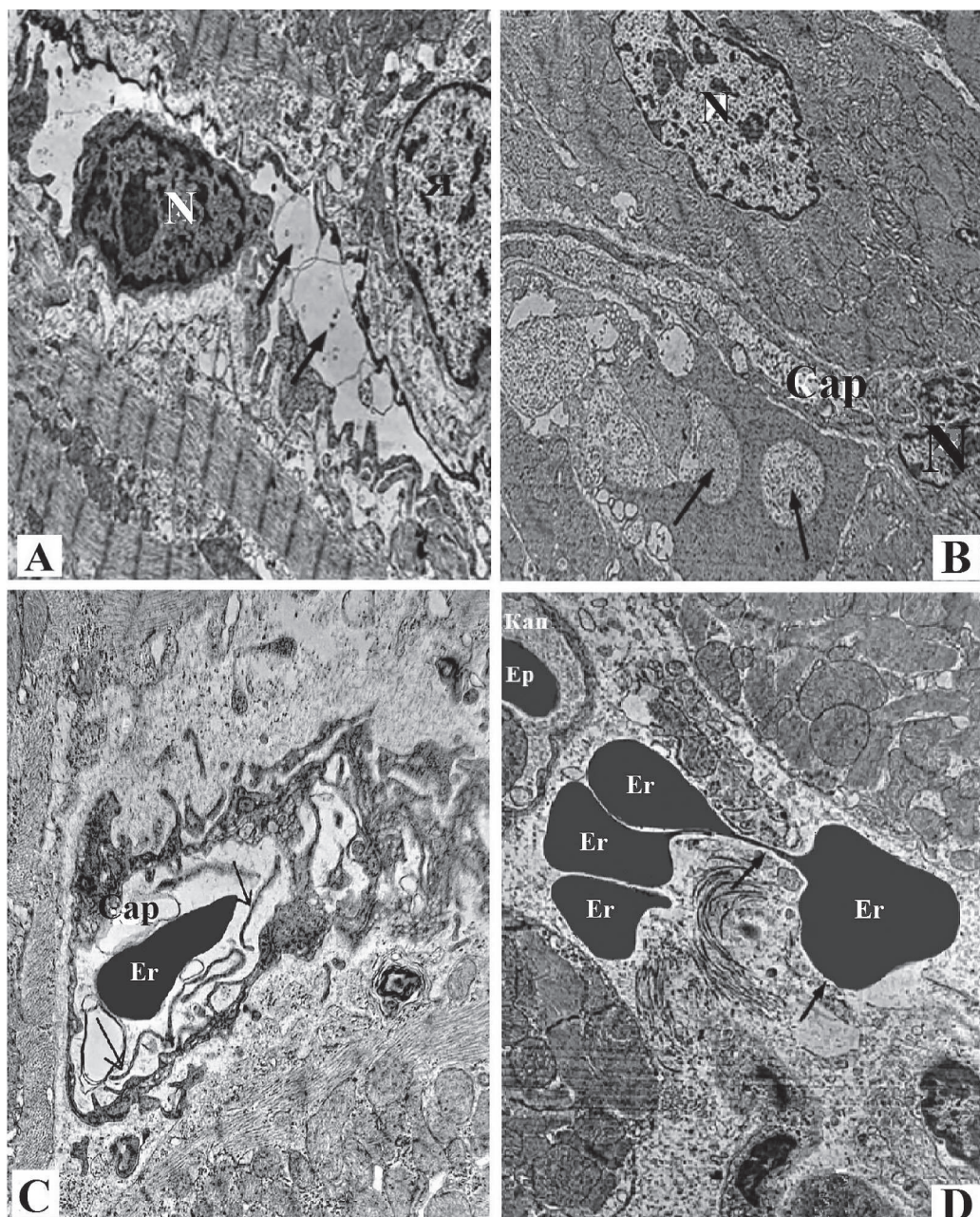


Figure 2 – Ultrastructure of blood capillaries of the myocardium of rats of different ages. Magnification. 7000x. Designation: Er-erythrocyte, Cap-capillary, N-nucleus. The description of the images is contained in the text of the article.

loop is probably due to the process of liquid *resorption* from the lumen of the capillary. Accumulation of pinocytotic microvesicles in the endotheliocyte cytoplasm and morphological manifestations of moderately expressed local paravasal swelling of the connective tissue testify to fluid removal from the capillary lumen. In the lumen of the *capillary loop*, elastically deformed erythrocytes are found, which form local protrusions. Under the pressure of erythrocyte protrusions, endothelium cytoplasm invaginates deep into the interstitium (↓). Likely, the protrusion of the cytoplasm of endotheliocytes into the interstitial space contributes to the formation of endothelial tubules on the surface of capillary loops, which in the future develop into secondary blood capillaries.

According to micromorphometry data [5], in the time interval (5-15) days after the birth of rats, the relative volume of the capillary link increases in the myocardium from 9.5% (5 days) to a maximum value equal to

12.5% (10 day) and a gradual decrease to 11.5% on the 15th day of postnatal development of rats. The number of endotheliocytes in blood capillaries increases significantly. The given morphometric data testify to intensive processes of proliferation and physiological hypertrophy of the components of the myocardium's capillary link of the MCB. In the time interval (5-15) days, the length of the capillary tubes increases significantly, the local areas of joining of capillary processes are determined. Intensive proliferation of connective tissue cells is detected in this period. Numerous tortuous and elongated processes of fibroblasts and smooth muscle cells penetrate deeply into the interstitial space of the myocardium (fig. 1D) showing the moment of development of *physiological apoptosis* of blood capillary endotheliocytes and the formation of apoptotic bodies in the myocardium of 15-day-old rats. Some of the bodies come into contact with the surface of the degraded endotheliocyte, the

other number of apoptotic bodies are adsorbed on the surface of *erythrocytes*. The cytolemma of the endothelium, undergoing physiological apoptosis, forms deep intussusceptions inside the cell. The presented data are microscopic signs of the development of apoptosis, which is characterized by the fragmentation of the cytoplasm of a degraded endotheliocyte and the formation of optically dark osmiophilic particles of a rounded shape – apoptotic bodies. **Fig. 1D** demonstrates the beginning of the 5th stage of the *degradation phase* of physiological apoptosis of the endotheliocyte [12, 13]. According to the literature, physiological apoptosis occurs quickly, and apoptotic bodies are usually phagocytosed by macrophages or neighboring cells [13]. But in this case, the *degradation phase* of physiological apoptosis of the endotheliocyte occurs in the *lumen* of the blood capillary. We assume that the removal of apoptotic bodies from the lumen of the vessels of the MCB is carried out in two ways: *passive*-blood flow and *active* – with the help of *erythrocytes*. Our studies show that a certain number of apoptotic bodies are adsorbed on the surface of erythrocytes (**fig. 1D**). The obtained data allow us to assume that erythrocytes *transport* apoptotic bodies along the bloodstream of MCB vessels to the sinusoidal exchange capillaries and spaces of Disse of the *liver* where, together with fragments of other apoptotic cells, they were named Kaunsilman bodies [14]. Kupffer macrophages of the liver mainly *remove* apoptotic bodies from the blood and the surface of erythrocytes.

When studying ultrathin sections of different organs of mammals and humans, it was established that single and small groups of light vesicles of various sizes are found inside some vessels of the MCB and in the intercellular space [10, 11]. We also drew attention to the fact that, regardless of the age of the animals, intra- and extravascular vesicles are found in the myocardium (**fig. 2A, B**). The origin of the blisters is *not known* for certain, it requires careful research and theoretical justification of the occurrence of this morphological phenomenon.

The existing literature on the composition of blood and the physiology of its microcirculation in animal organs [8, 11] allowed us to suggest that the appearance of blisters in *myocardial histological preparations* is directly related to the presence of *oxygen* in the blood of microvessels *in vivo*. Transport of oxygen through the blood vessels of the MCB occurs in two forms: *bound* to the hemoglobin of erythrocytes (15 – 21% by volume) and physically *dissolved* in the blood plasma (0.3% by volume) [8]. So, in 100 ml of *arterial* blood of animals, there is a *total* of ≈ 20 ml of oxygen. The content of *dissolved carbon dioxide* in the venous blood and *intracellular fluid* is increased.

Let's analyze the existing methods of histochemical processing of pieces of organs for electron microscopy. The following *sequence* of main processes is revealed: *extirpation* of the heart and placing it on ice to stop cardiac contractions \rightarrow cutting the organ and obtaining pieces \rightarrow *refixation* of pieces of myocardium *immersed* in a solution of glutaraldehyde \rightarrow *fixation* of pieces with tetroxide solution osmium (OsO_4) \rightarrow *dehydration* of myocardial samples with alcohol of increasing concentration (50%...100%) \rightarrow impregnation of pieces of the organ with epoxy resins \rightarrow polymerization (+60°C) of resin-impregnated pieces of the myocardium [15, 16]. After extirpation and cardiac arrest, blood flow in the

macro – and microvessels of the myocardium stops. Along with the blood, a certain volume of O_2 *remains* in the vessels. In the process of *refixation* with glutaraldehyde solution, the lipid component of membrane ultrastructures of cells and blood plasma is stabilized [1, 2]. When fixing with an OsO_4 solution, chemical reactions occur in which Os actively reacts with the ethylene groups of unsaturated blood plasma lipids. This contributes to the “crosslinking of lipids” by Os atoms and the formation of chains of polymerized lipids. *Proteins* and most free amino acids of blood plasma enter into chemical reactions with Os atoms. *Coagulation* of proteins occurs, formation of chains of amino acids connected by Os atoms. In the process of *refixation* and *fixation* of pieces of myocardium in the capillaries and extravascular space of the connective tissue, elastic stable spatial *networks* with protein-lipid “globules” are gradually formed, which acquire electron density due to the huge number of Os atoms [15, 16]. We assume that during the treatment of pieces of the myocardium with fixing solutions, O_2 in capillaries and CO_2 in the intercellular space remains *bound* and *dissolved*. But further *dehydration* of pieces of the myocardium with alcohol or acetone of increasing concentration (50%...100%) leads to the transition of O_2 and CO_2 to the *free state*. Gases gradually accumulate in the capillary lumen and extravascular space as an accumulation of *vesicles* (\downarrow). An electron-dense thin *film* of protein-lipid “globules” – a *pseudomembrane* – is formed on the outer surface of the vesicles (**fig. 2A and B**). Gases (O_2 and CO_2) located in the middle of the vesicles compress the three-dimensional mesh with protein-lipid “globules” in the *intercellular space*, forming local zones of its compaction (**fig. 2B**). Therefore, the given theoretical mechanism of the possible formation of bubbles in the capillaries and extravascular space in fixed pieces of myocardium allows us to assume that a significant part of these bubbles is an *artifact* that occurs in the process of fixation and dehydration of pieces of the myocardium and other organs that were *not perfused* with a fixing solution (*when perfusion of the blood vessels of the organs with a fixing solution, blood is removed from the vessels*).

With the help of transmission and raster electron microscopy, the ultrastructure of the vascular endothelium of the myocardium of mammals and humans has been studied quite well, but the functional purpose of specialized structures located on the luminal surface of endotheliocytes is the subject of many discussions. It is known that the *relief of the luminal surface* of the endotheliocytes of the microvessels of the myocardium is very diverse and depends on the functional state of the endothelium and hemodynamic factors in MCB [11]. The practical significance of *microvilli* and *lamella-like* formations on the capillary endothelium's luminal surface is discussed among morphologists. There is an opinion that microvilli and other specialized ultrastructures are peculiar *reserves of the cell membrane* of the luminal surface of the vascular endothelium [11]. We found endotheliocytes with different numbers of microvilli on the luminal surface in the capillaries of the myocardium of rats of different ages. In some blood microvessels, *lamellar (filamentous)* formations are elongated, tortuous, often branched, in contact with local areas of the surface of erythrocytes (**fig. 2C**). The question arises, what is the function of *lamellar* formations on the lume-

nal surface of the endothelium? Investigating the location of *lamellar* formations and *microvilli* on the luminal surface of the endothelium of the capillaries of the rat myocardium, we drew attention to the peculiarities of the structure and function of the *respiratory department* of the respiratory system of bony fishes [17, 18]. Notably, the concentration of free *oxygen* in 100 ml of water in freshwater reservoirs is 3-4 ml. The respiratory system of bony fish very efficiently absorbs up to 85% of the oxygen from the water that has passed through their gills. In fish, the respiratory part of the respiratory system functions much more efficiently than the respiratory system of terrestrial vertebrates. The respiratory department in the gills of bony fish is formed by many gill filaments called primary *lamellae* or *petals*. To significantly *increase the area of contact* with the water environment, the primary lamellae are covered with a *huge number* of tiny plates called *secondary petals* [17, 18]. Narrow blood capillaries pass through them. The large surface area of the thin shell of the *secondary lamellae* promotes effective gas exchange between the water environment and blood in the capillaries of fish gills. Comparing the ultrastructure of the respiratory department of the gills of bony fishes with the ultrastructure of the *relief of the luminal surface* of the capillaries of mammals, it is possible to reveal the *similarity of structural and functional features*. Individual blood capillaries of mammals with many *lamella-like* formations on the luminal surface of the endothelium, *morphologically and functionally similar* to the primary *lamellae* covered by many *secondary petals* in the gills of bony fish. Therefore, the conducted comparative analysis gives reason to believe that *microvilli* and *lamellar* formations of the luminal surface of the endothelium of mammalian microvessels take an active part in the *processes of effective absorption of oxygen from the surface of erythrocytes and blood plasma*. There is probably an inverse correlation between the capillary hematocrit index and the number of microvilli and lamellae on the luminal surface of microvessels.

When studying the ultrastructure of the tissues of various organs of mammals and humans, it was found that single and small groups of *erythrocytes* are extravasally observed outside the blood vessels of the MCB. This phenomenon was called *diapedesis* of formed blood elements [4, 8]. There is an assumption that diapedesis of erythrocytes is a *passive phenomenon* that occurs when blood pressure increases and the permeability of microvessel walls increases. The most frequent cause of *microbleeding* of blood in the interstitial space is the action of proteolytic enzymes on the walls of microvessels. According to [4], diapedesis of leukocytes and erythrocytes is one of the essential morphological manifestations of the development of the pathogenesis of *inflammation*. Therefore, the diapedesis of formed blood elements in the interstitium of organs is often associated with the result of a pathological process. But diapedesis's etiology (cause of occurrence) must still be fully understood. Attention is drawn to the fact that erythrocytes are also found in the interstitium of organs outside the blood microvessels under *physiological conditions*.

What is the functional significance of diapedesis of erythrocytes in the loose fibrous connective tissue under normal conditions? When studying rats of various

ages, we also found separate microregions of the loose connective tissue of the myocardium, in which *erythrocytes* are located outside the capillaries of the MCB (fig. 2D). In the given electron micrograph, the fact that the shape of erythrocytes indicates their "active movement" from the nearby *native* capillary deep into the interstitial space attracts attention. The *first* large erythrocyte has a *leading pole*, indicating the direction in which the cell moves. The content of the deformed erythrocyte "flows" through a narrow gap between the bundle of collagen fibers and the outgrowth of the connective tissue cell (fig. 2D). Along the lateral surface of an elastically deformed erythrocyte, a narrow light strip is found, which *separates* the erythrocyte from adjacent connective tissue elements. The formation of a narrow light strip around the erythrocyte probably indicates the presence of a local microzone of increased tissue fluid pressure directed from the surface of the erythrocyte into the interstitium. We assume that the light strip is formed due to the *diffusion of oxygen from the erythrocyte's surface into the connective tissue's main substance*. This is indicated by the data that the oxygen tension (pO_2) in erythrocytes is higher than in the intercellular space [8]. Therefore, during the *active migration* of erythrocytes from the capillaries to the myocardium's stromal component, erythrocytes' *deoxygenation* and an increase in the oxygen content in the local area of the connective tissue occur. It is necessary to pay attention to the fact that cells of loose connective tissue use oxygen, which is in the main substance, for metabolic processes. In conditions of *oxygen deficiency* in the interstitium (hypoxia), *active diapedesis* of erythrocytes occurs to saturate the connective tissue with oxygen. Therefore, the *etiology of diapedesis* of erythrocytes is *normally* caused by a *lack of oxygen* in a limited area of the interstitium. Diapedesis of erythrocytes in the connective tissue of the myocardium prevents the development of hypoxia. Thus, diapedesis of erythrocytes is not a "*passive phenomenon*". This results from the active migration of erythrocytes from capillaries to areas of connective tissue where the oxygen content is reduced.

Conclusions.

The results of the conducted studies indicate that the blood capillaries of the myocardium of newborn rats are formed by light (metabolically active) and dark dehydrated (inactive) endotheliocytes. It was determined that heteromorphic endotheliocytes of juvenile rats are in different stages and phases of the cell cycle. The peripheral zone of the cytoplasm of bright endotheliocytes sometimes forms deep intussusceptions in the interstitium. Intussusceptions are the initial stage of the development of future capillary tubes. It was established that local protrusions of erythrocytes contact and deform the luminal surface of capillaries. Local protrusions of erythrocytes into the peripheral zone of the cytoplasm create conditions for the formation of polarized processes of endotheliocytes. The property of reversible deformability of erythrocytes allows them to move through narrow areas of the lumen of capillaries, contributing to the formation of endotheliocyte processes, which give rise to future secondary blood capillaries of the myocardium. A theoretical justification of the possible mechanism of forming intra- and paravasal bubbles in the myocardium was developed under the perfusion-free fixation of rat heart pieces. The results of

electron microscopic studies indicate that erythrocytes take an active part in the initial stage of the formation of cytoplasmic processes, from which endothelial tubes and secondary microvessels develop in the future. Diapedesis of erythrocytes in the interstitium of the myocardium was detected under normal conditions of the functioning of the heart muscle. It is suggested that the diapedesis of erythrocytes is not a "passive phenome-

non", but prevents the development of hypoxia in local areas of connective tissue of the myocardium.

Prospects for further research.

Morphometry of the hematocrit in the blood microvessels of the myocardium will be performed, and the kinetics of postnatal proliferation of endotheliocytes of the MCB of the myocardium of rats will be investigated.

DOI 10.29254/2077-4214-2023-2-169-131-144

УДК 611.661 : 616.127-092.9:31

Загоруйко Г. Є., Марциновський В. П., Цвентух Л. В.,

*Цатурян О. Г., *Філатова В. Л., *Матвієнко Т. М., *Саргош О. Д.*

ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ УЛЬТРАСТРУКТУРИ ЕНДОТЕЛІЯ І КРОВОНОСНИХ КАПІЛЯРІВ МІОКАРДА У РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ РОЗВИТКУ ЩУРІВ WISTAR

Рівненський державний гуманітарний університет (м. Рівне, Україна)

*Полтавський державний медичний університет (м. Полтава, Україна)

prof.zagoruykoGE@gmail.com

Проведені дослідження демонструють суттєві зміни ультраструктури ендотелію та кровоносних капілярів міокарда у процесі постнатального розвитку щурів Вістар. Серія зображень ультраструктури кровоносних капілярів міокарда лівого шлуночка щурів різного віку, дозволила отримати інформацію для подальшої розробки і теоретичного обґрунтування походження, механізмів утворення деяких інтравазальних та паравазальних пухирців, які виявляються в ультратонких зрізах шматочків міокарда тварин. У статті аналізуються можливі функції відростків та ламел, які розташовані на люменальній поверхні судинного ендотелію кровоносних капілярів міокарда. Досліджена роль еритроцитів капілярів в механізмах утворення і поступового подовження відростків цитоплазми ендотеліоцитів, які надалі розвиваються у кровоносні капілярні трубки. Виявлено і досліджено морфологічні прояви розвитку фізіологічного апоптозу ендотеліоцитів в кровоносних капілярах міокарда щурів. Встановлено, що частина апоптозних тілець адсорбована на поверхні еритроцитів. Отримані дані дозволяють припустити, що еритроцити беруть участь у адсорбції і транспорті на своїй поверхні апоптозних тілець з кровоносних капілярів у систему виносячих судин. Висловлено припущення, що видалення апоптозних тілець з крові та поверхні еритроцитів здійснюється, головним чином, макрофагами Купфера печінки. Встановлено, що у щурів різного віку, в міокарді іноді виявляються морфологічні прояви діapedезу еритроцитів із капілярів у сполучну тканину. Діapedез еритроцитів в нормі трактується авторами як додатковий механізм насичення киснем локальних ділянок строми міокарда для запобігання можливого розвитку гіпоксії серцевого м'яза щурів на етапах постнатального онтогенезу.

Ключові слова: міокард, капіляри, ендотелій, пухирці, діapedез еритроцитів.

Зв'язок публікації із плановими науково-дослідними роботами.

Робота проведена відповідно до теми НДР: «Анатомо-фізіологічні аспекти росту та розвитку людини і тварин». № державної реєстрації 0116U002990.

Вступ.

В даний час активно досліджуються молекулярні і клітинні механізми *ангіогенезу* мікроциркуляторного русла (МЦР) міокарда у процесі раннього постнатального онтогенезу ссавців і людини [1, 2]. Встановлено, що будь-які зовнішні впливи на організм тварин і людини викликають розвиток адекватних реакцій з боку органів серцево-судинної системи [2, 3]. Доведено, що в умовах норми або патології, особлива роль в регуляції функцій органів ссавців і людини належить кровоносному МЦР [3, 4]. За даними морфометричних досліджень встановлено, що у процесі онтогенезу відбувається суттєве збільшення кровоносної капілярної ланки в МЦР, яка в залежності від віку тварин сягає від 7,0 до 12,0% об'єму серцевого м'яза [5]. Домінуючим компонентом кровоносних капілярів є *ендотелій*. Від його структур-

но-функціональних змін залежать транспортна, ди-хальна, трофічна, екскреторна, захисна і регуляторна функція капілярної ланки МЦР [6, 7].

Мета дослідження.

Дослідження особливостей змін ультраструктури ендотелія і кровоносних капілярів міокарда лівого шлуночка у процесі раннього постнатального розвитку щурів Вістар.

Об'єкт та методи дослідження.

У роботі було досліджено серію раніше отриманих зображень ультраструктури міокарда лівого шлуночка щурів Вістар у віці від народження (н/р) до 45 діб постнатального розвитку [5]. Щури з розплідника біологічного факультету ХНУ (м. Харків) утримувалися в стандартних умовах віварію. Усі маніпуляції з щурами та методи електронно-мікроскопічних досліджень описані нами в попередній роботі [5].

Експериментальні дослідження було проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією

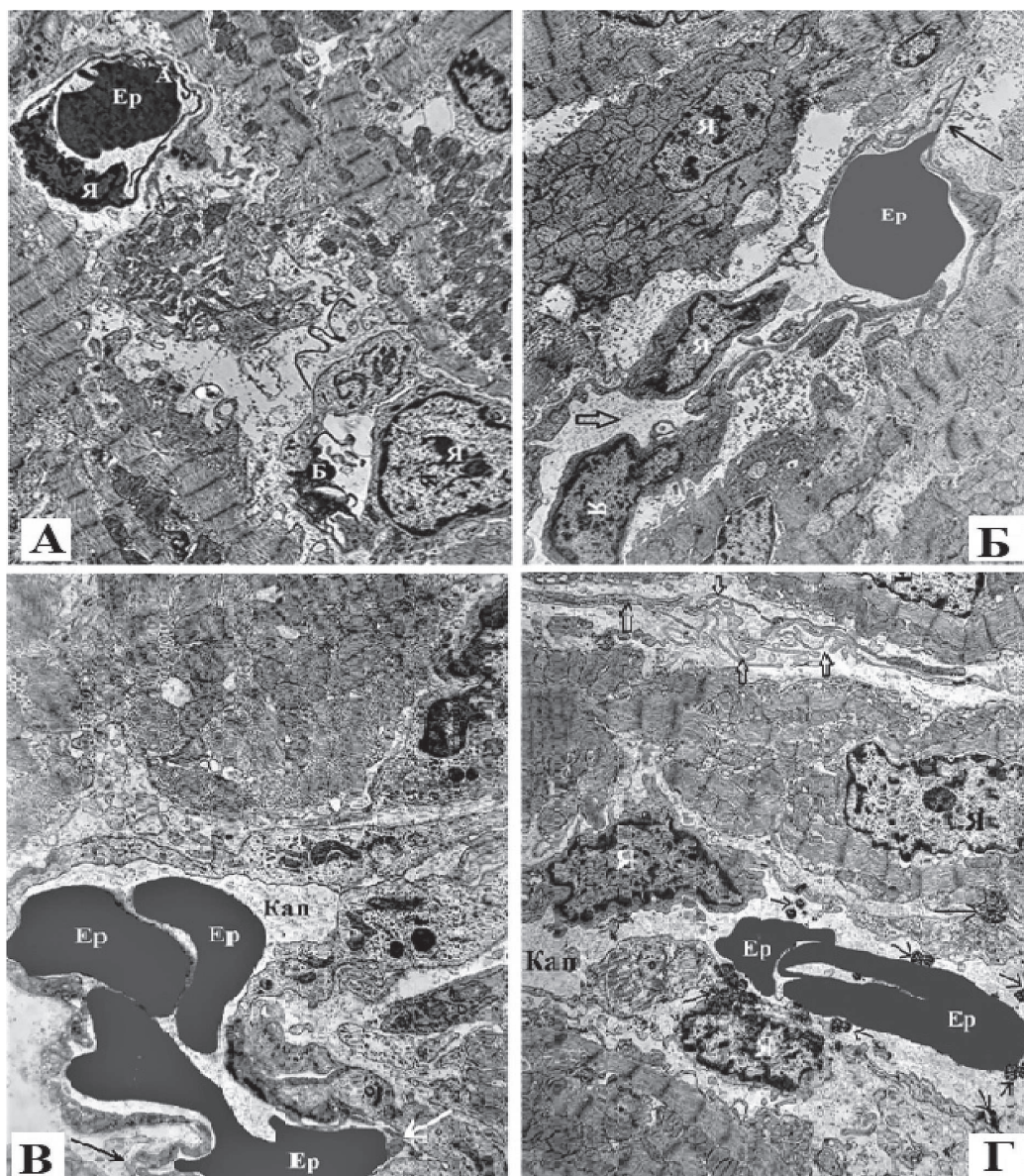


Рисунок 1 – Ультраструктура кровоносних капілярів міокарда ювенільних щурів. 36. 7000^x.
Позначення: Ер-еритроцит, Кап-капіляр, Я-ядро. Опис зображень міститься в тексті статті.

єю про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

Результати дослідження та їх обговорення.

При дослідженні міокарда новонароджених щурят виявлений поліморфізм ультраструктури ендотеліоцитів кровоносних капілярів. У складі капілярної ланки МЦР часто виявляються невеликі за діаметром мікросудини, що сформовані переважно оптично темними осмієфільними ендотеліоцитами. (рис. 1А). Поява у складі капілярів міокарда «темних» дегідратованих ендотеліоцитів може свідчити про те, що після завершення мітотичного поділу, частина оптично світлих клітин у наслідок їх дегідратації суттєво зменшуються в об'ємі і переходять в стан відносного функціонального спокою (G₀). Ендотеліальні клітини капілярів у стані спокою не діляться і не мігрують [7]. Ядерна оболонка таких клітин утворює множинні глибокі інвагінації, які можливо сприяють збереженню «надмірної» площі поверхні каріолеми. Гетерохроматин заповнює внутрішній простір

дегідратованих ядер. Наведені дані свідчать про мінімальну активність конденсованого хроматина і суттєве зниження біосинтетичних процесів в дегідратованих ендотеліоцитах. На люменальній поверхні темних ендотеліальних клітин виявляються окремі видовжені тонкі мікроворсинки.

У кровоносних капілярах деякі мікроворсинки контактують з поверхнею деформованих еритроцитів (рис. 1А). У просвіті капілярів крім еритроцитів, виявляються дрібні мікроскопічні частинки коагульованих білків плазми крові. Периферійна зона цитоплазми темних ендотеліоцитів істотно стоншена і практично не містить мікропіноцитозних пухирців. Люменальна і базальна поверхні периферійної зони цитоплазми ендотеліоцитів розташовані дуже близько одна до одної. Це іноді призводить до «злиття» внутрішнього і зовнішнього листків плазмолем.

Стоншена периферійна зона ендотеліоцитів сприяє спрощеній дифузії кисню з крові капілярів у екстравасальний простір сполучної тканини до кардіоміоцитів. Саркоплазма кардіоміоцитів новонаро-

джених щурят містить багато гранул *глікогену*, для окислення якого в мітохондріях, потрібен *кисень*.

Отже, ультраструктура дегідратованих ендотеліоцитів капілярів свідчить про їх *мінімальну* біосинтетичну активність, а периферійна ділянка клітин не приймає участі у трансендотеліальному транспорті речовин (крім кисню), внаслідок відсутності в цитоплазмі мікропіноцитозних пухирців. Інші кровоносні капіляри міокарда утворені переважно оптично *світлими* ендотеліоцитами, субмікроскопічна організація яких відповідає високій функціональній активності (**рис. 1А**). *Зона органел* цитоплазми *світлих* ендотеліоцитів істотно збільшена в об'ємі, містить багато дрібних мітохондрій і гранул глікогену. Навколо світлого ядра виявляються окремі елементи апарату Гольджі і рибосоми. Ядро світлих ендотеліоцитів має *великі розміри*, містить переважно еухроматин, гранули якого досить рівномірно заповнюють каріоплазму. В центральній зоні ядра розташовано декілько електроннощільних ядерців. Дані цитоархітекτονіки мікроскопічної структури *світлих* ендотеліоцитів свідчать про *активні біосинтетичні* процеси, які відбуваються в зоні розташування органел. Отже, виявлені особливості ультраструктури дають підставу вважати, що значна кількість світлих ендотеліоцитів знаходиться в *кінці* фази (G_1) або на початку фази (G_2/M) клітинного циклу.

Багато ендотеліоцитів у складі капілярів мають невеликі розміри, містять ядро *помірної* електронної щільності. Ультраструктура таких ендотеліоцитів дозволяє припустити, що вони знаходяться на початку фази G_1 клітинного циклу (**рис. 1Б**). Ядро ендотеліоцитів неправильної подовженої форми. Скупчення гранул конденсованого хроматину утворюють вузьку смужку вздовж бічної поверхні внутрішньої мембрани оболонки ядра. Маргінально розташований гетерохроматин має високу ступінь осміофілії. Дрібні зерна еухроматину відносно рівномірно заповнюють каріоплазму. На протилежних полюсах деяких подовжених ядер виявляються локальні скупчення гранул гетерохроматину. В проксимальній зоні ядра виявляється щільне ядерце. Зони цитоплазми ендотеліоцитів в яких знаходиться ядро, утворюють локальні випинання у просвіт мікросудин. Це призводить до звуження просвіту капілярів аж до повного його перекриття. Ультраструктура *подовжніх* зрізів кровоносних капілярів дозволяє визначити *напрямок кровотоку* в конкретному сегменті МЦР міокарда і ступінь рухливості локальних випинань люменальної поверхні ендотелію (**рис. 1Б**). В капілярному руслі потік крові випробує опір з боку морфологічних утворень люменальної поверхні ендотеліоцитів. Під дією гемодинамічного тиску рухомої крові відбувається зсув випинань ядерної зони цитоплазми у просвіті капілярів. Напрямок зсуву випинань ядра і видовжених люменальних мікроворсинок, вказують на спрямованість кровотоку у просвіті капілярів (\downarrow). У процесі руху крові в капілярах, еритроцити зазнають механічний опір з боку люменальних випинань, що призводить до деформації клітин крові. Унікальна деформованість та плинність цитоплазми еритроцитів забезпечують їм можливість просуватися через вузькі просвіти у капілярах [8]. При аналізі електронограми на (**рис. 1Б**) ми звернули увагу на цитоплазматичний відросток ендотелію капіляра (\uparrow), який

глибоко проникає в інтерстицій міокарда. Біля основи розширеного просвіту цитоплазматичного відростка розташований *еритроцит*. Його локальне випинання спрямовано усередину просвіту відростка. Цей поляризований цитоплазматичний відросток має *провідний* (\uparrow) звуженний сліпий кінець та *ведений* розширений дистально розташований відкритий кінець. Цитоплазматичний відросток під дією тиску локального випинання *еритроциту* подовжується і розширюється. Отже, правомірно припустити, що геометричний профіль цитоплазматичного відростка свідчить про початковий етап процесу утворення капілярної трубочки. Залишається невирішеним питання, яким чином існуючий капіляр «визначає» місце локального випинання периферійної зони ендотелію та утворення цитоплазматичного відростка, який надалі поступово перетворюється у капілярну трубку [9,10].

В кровоносних капілярах МЦР міокарда *5-ти добових щурят* практично *відсутні темні* дегідратовані ендотеліоцити. Це свідчить про те, що протягом перших 5 діб після народження тварин, темні ендотеліоцити у кровоносних капілярах поступово виходять із стану відносного *функціонального спокою*. Цитоплазма і ядро таких клітин піддаються *гідrataції*. Це призводить до активації розчинних цитоплазматичних ферментів, які беруть участь у процесах біосинтезу, утворення органел та інших ультраструктур. Суттєво збільшуються розміри ендотеліоцитів, особливо *протяжність периферійної* цитоплазматичної ділянки. У міокарді виявляються зони розгалуження кровоносних капілярів і утворення поодиноких «почок росту» нових мікросудин. В периферійній зоні цитоплазми ендотеліоцитів виявляються ланцюжки дрібних мікропіноцитозних везикул, які вільно розташовані або прикріплені до базальної і люменальної поверхонь цитолемми. За даними фахової літератури [11] піноцитозні везикули приймають участь у трансмембранному транспорті речовин між кров'ю, міокардом і елементами сполучної тканини. В деяких кровоносних мікросудинах значно збільшується протяжність розширеного просвіту капілярів. Люменальна поверхня таких мікросудин згладжена, виявляються окремі тонкі цитоплазматичні відростки, які орієнтовані в напрямку руху крові по капіляру. Вздовж базальної поверхні цитоплазми капілярів розташована чітко контурована повністю сформована базальна мембрана. У МЦР міокарда лівого шлуночка *5-ти добових щурят* збільшується кількість *капілярних петель*, які утворені *світлими* функціонально активними ендотеліоцитами (**рис. 1В**). У розширеному просвіті *капілярних петель* виявляються скупчення деформованих еритроцитів. Визначається збільшення об'єму цитоплазматичної зони розташування органел ендотеліоцитів. Зона органел містить мітохондрії, мікропухирці, гранули глікогену. У деяких мікросудинах протилежні випинання цитоплазми зони органел призводять до суттєвого звуження, а іноді перекриття просвіту кровоносних капілярів. Таке явище зафіксовано на (**рис. 1В**). З обох боків розширеної капілярної петлі виявляються морфологічні прояви звуження і перекриття просвіту капіляра. Це призводить до зупинки кровотоку в капілярі та депонуванню еритроцитів. На поверхні капілярної петлі утворені глибокі і великі за

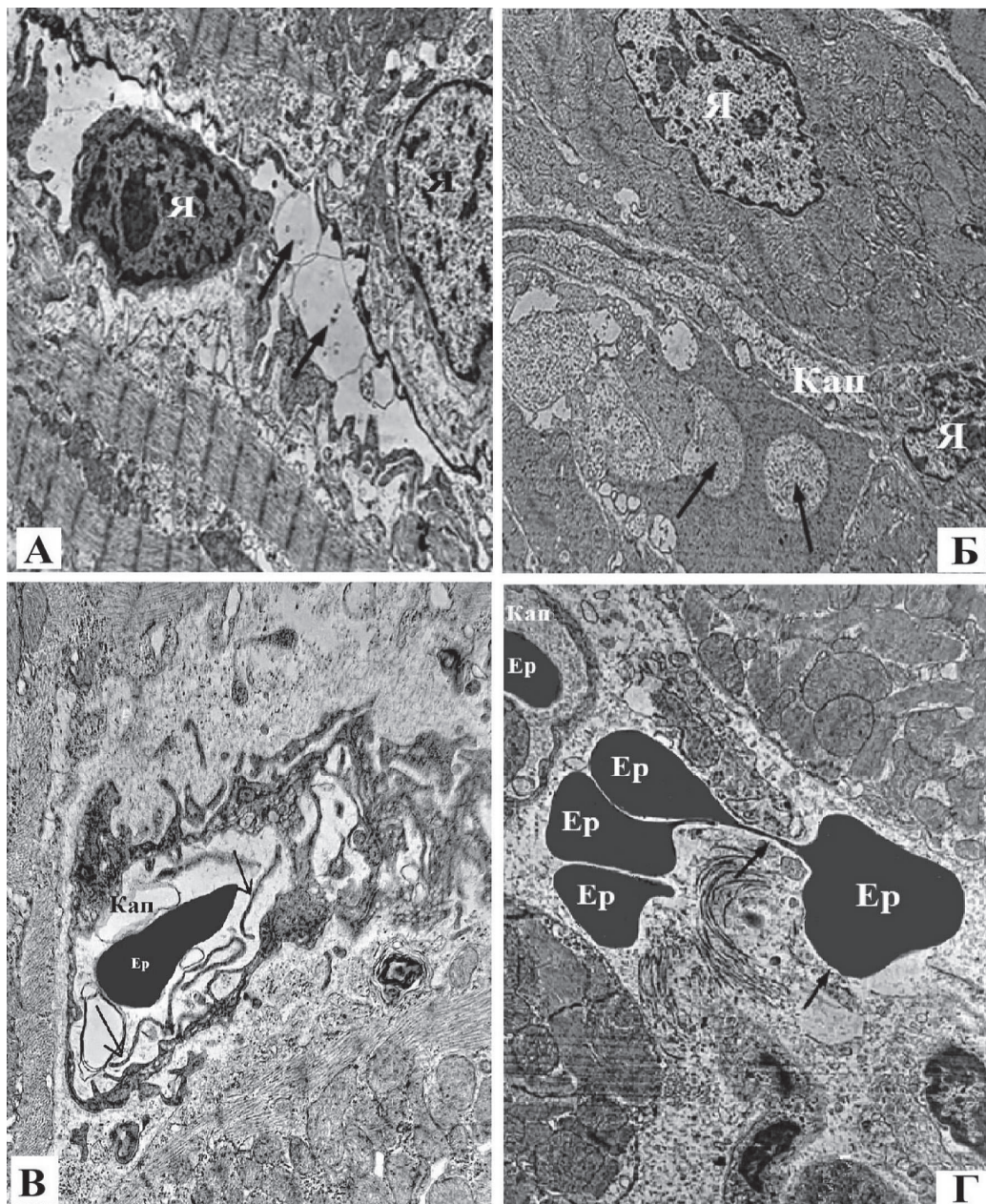


Рисунок 2 – Ультраструктура кровоносних капілярів міокарда щурів різного віку. $\times 36.7000^{\circ}$.
Позначення: Ер-еритроцит, Кап-капіляр, Я-ядро. Опис зображень міститься в тексті статті.

розміром випинання периферійної зони цитоплазми ендотелію, які направлені вглиб просвіту мікросудини. Утворення випинань на вершині *капілярної петлі* ймовірно, обумовлено процесом *резорбції* рідини із просвіту капіляра. Про видалення рідини з просвіту капіляра свідчать скупчення піноцитозних міковезикул у цитоплазмі ендотеліоцита та морфологічні прояви помірно вираженого локального паравазального набряку сполучної тканини. У просвіті капілярної петлі виявляються пружно деформовані еритроцити, які утворюють локальні випинання. Під тиском еритроцитарних випинань, відбувається інвагінація цитоплазми ендотелію вглиб інтерстицію (\Downarrow). Ймовірно випинання цитоплазми ендотеліоцитів в інтерстиційний простір, сприяють утворенню на поверхні *капілярних петель* ендотеліальних трубочок, які у майбутньому розвиваються во вторинні кровоносні капіляри.

За даними мікроморфометрії [5], в інтервалі часу (5-15) діб після народження щурів, в міокарді відбувається збільшення відносного об'єму капілярної ланки з **9,5%** (5 доба) до максимального значення, рівного **12,5%** (10 доба) і поступове зменшення до 11,5% на 15 добу постнатального розвитку щурів. Суттєво збільшується кількість ендотеліоцитів у складі кровоносних капілярів. Наведені морфометричні дані свідчать про інтенсивні процеси проліферації і фізіологічної гіпертрофії компонентів капілярної ланки МЦР міокарда. В інтервалі часу (5-15) діб суттєво збільшується протяжність капілярних трубочок, визначаються локальні зони стикування відростків капілярів. У цей період часу виявляється інтенсивна проліферація клітин сполучної тканини. Чисельні звивисті і подовжені відростки фібробластів та гладком'язових клітин глибоко проникають в інтерстиціальний простір міокарда. На (рис. 1Г) зображе-

ний момент розвитку в міокарді 15-ти добових щурят фізіологічного апоптозу ендотеліоцита кровносно-го капіляра і утворення апоптозних тілець. Частина тілець контактує з поверхнею деградованого ендотеліоцита, інша кількість апоптозних тілець адсорбована на поверхні еритроцитів. Цитолемма ендотеліа, що піддається фізіологічному апоптозу, утворює глибокі інвагінації усередину клітини. Представлені дані є мікроскопічними ознаками розвитку апоптозу, для якого характерні фрагментація цитоплазми деградованого ендотеліоцита і утворення оптично темних осмієфільних частинок округлої форми – апоптозних тілець. **Рис. 1Г** демонструє початок 5-го етапу *деградаційної фази* фізіологічного апоптозу ендотеліоцита [12, 13]. За даними фахової літератури, фізіологічний апоптоз відбувається доволі швидко, а апоптозні тільца зазвичай фагоцитуються макрофагами чи сусідніми клітинами [13]. Але у даному випадку *деградаційна фаза* фізіологічного апоптозу ендотеліоцита відбувається у *просвіті* кровносно-го капіляра. Ми припускаємо, що видалення апоптозних тілець із просвіту судин МЦР здійснюється двома шляхами: *пасивним* – потоком крові, та *активним* – за допомогою еритроцитів. Проведені нами дослідження свідчать, що на поверхні еритроцитів адсорбована певна кількість апоптозних тілець (**рис. 1Г**). Отримані дані дозволяють припустити, що еритроцити *транспортують* апоптозні тільца по кровносно-му руслу судин МЦР у синусоїдальні обмінні капіляри та простори Диссе печінки де разом з фрагментами інших апоптичних клітин отримали назву тільца Каунсильмана [14]. *Видалення* апоптозних тілець з крові та поверхні еритроцитів здійснюється, головним чином, макрофагами Купфера печінки.

При дослідженні ультратонких зрізів різних органів ссавців і людини було встановлено, що всередині деяких судин МЦР та у міжклітинному просторі виявляються поодинокі та невеличкі групи світлих пухирців різних розмірів [10, 11]. Ми також звернули увагу на те, що незалежно від віку тварин, інтра – і екстравазально у міокарді виявляються пухирці (**рис. 2А, Б**). Походження пухирців достеменно *невідомо*, потребує ретельного дослідження і теоретичного обґрунтування виникнення цього морфологічного феномену.

Існуюча література стосовно складу крові та фізіології її мікроциркуляції в органах тварин [8, 11], дозволили нам висловити припущення, що поява пухирців у *гістопрепаратах міокарда* безпосередньо пов'язано з присутністю кисню у крові мікросудин *in vivo*. Транспортування кисню по кровносно-му руслу МЦР відбувається у двох формах: *пов'язаній* з гемоглобіном еритроцитів (15 – 21об.%) і *фізично розчиненій* у плазмі крові (0,3 об.%) [8]. Отже, в 100 мл *артеріальної* крові тварин сумарно знаходиться до ≈ 20 мл кисню. У *венозній* крові та *міжтканинній рідині* збільшений вміст *розчиненого вуглекислого газу*.

Якщо проаналізувати існуючі методи гістохімічної обробки шматочків органів для електронної мікроскопії, то виявляється наступна *послідовність* основних процесів: *екстирпація* серця та його розміщення на лід для зупинки серцевих скорочень → розрізання органа і отримання шматочків → *префіксація* шматочків міокарда *занурених* у розчин глутарового альдегіду → *фіксація* шматочків розчином

чотириокиси осмія (OsO_4) → *дегідратація* (зневоднення) зразків міокарда спиртом зростаючої концентрації (50%...100%) → просочування шматочків органу епоксидними смолами → полімеризація (+60°C) просочених смолами шматочків міокарда [15, 16]. Після екстирпації і зупинки серцевих скорочень, рух крові в макро – і мікросудинах міокарда припиняється. Разом з кров'ю в судинах *залишається* і певний об'єм O_2 . У процесі *префіксації* розчином глутарового альдегіду відбувається *стабілізація ліпідного* компоненту мембранних ультраструктур клітин і плазми крові [1, 2]. При *фіксації* розчином OsO_4 відбуваються хімічні реакції, в яких Os активно реагує з етиленовими групами ненасичених ліпідів плазми крові. Це сприяє «зшиванню ліпідів» атомами Os і утворенню ланцюжків полімеризованих ліпідів. Білки та більшість вільних амінокислот плазми крові вступають у хімічні реакції з атомами Os. Відбувається *коагуляція* білків, утворення ланцюжків амінокислот з'єднаних атомами Os. В процесі *префіксації і фіксації* шматочків міокарда, в капілярах і екстравазальному просторі сполучної тканини поступово утворюються пружні стабільні просторові *сітки* з білково-ліпідними «глобулами», які набувають електронної щільності за рахунок величезної кількості атомів Os [15, 16]. Ми припускаємо, що в процесі обробки шматочків міокарда фіксуючими розчинами, O_2 у капілярах і CO_2 у міжклітинному просторі залишаються у *пов'язаному* і *розчиненому* стані. Але подальша *дегідратація* шматочків міокарда спиртом або ацетоном зростаючої концентрації (50%...100%) призводить до переходу O_2 і CO_2 , у *вільний стан*. Газу поступово накопичуються в просвіті капілярів та екстравазальному просторі у вигляді *скупчення пухирців* (↓). На зовнішній поверхні пухирців утворюється електронно-щільна тонка *плівка* з білково-ліпідних «глобул» – *псевдомембрана* (**рис. 2А і Б**). Газу (O_2 і CO_2) що знаходяться в середині бульбашок, стискають у *міжклітинному просторі* тривимірну сітку з білково-ліпідними «глобулами», утворюючи локальні зони її ущільнення (**рис. 2Б**). Отже, приведений теоретичний механізм можливого утворення пухирців в капілярах і екстравазальному просторі у фіксованих шматочках міокарда, дозволяє припустити, що значна частина цих бульбашок є *артефактом*, який виникає у процесі фіксації і зневоднення шматочків міокарда та інших органів, які *не піддавалися перфузії* фіксуючим розчином (*при перфузії кровносно-го русла органів фіксуючим розчином відбувається видалення крові з судин*).

За допомогою трансмісійної та растрової електронної мікроскопії ультратруктура судинного ендотеліа міокарда ссавців і людини вивчена досить добре, але функціональне призначення спеціалізованих структур, що розташовані на люменальній поверхні ендотеліоцитів, викликають багато дискусій. Відомо, що *рельєф люменальної поверхні* ендотеліоцитів мікросудин міокарда дуже різноманітний і залежить від функціонального стану ендотеліа та гемодинамічних чинників у МЦР [11]. Серед морфологів дискутується питання про функціональне значення *мікрворсинок* і *ламелеподібних* утворень на люменальній поверхні ендотеліа капілярів. Є думка, що мікрворсинки та інші спеціалізовані ультратруктури є *своєрідними резервами клітинної мембрани*

люменальної поверхні судинного ендотелія [11]. У капілярах міокарда щурів різного віку нами виявлені ендотеліоцити з різною кількістю мікроворсинок на люменальній поверхні. В деяких кровоносних мікросудинах *ламелеподібні (ниткові)* утворення подовжені, звивисті, часто розгалужені, контактують з локальними ділянками поверхні еритроцитів (рис. 2В). Виникає питання, яку функцію виконують *ламелеподібні* утворення на люменальній поверхні ендотелія? Досліджуючи розташування *ламелеподібних* утворень і *мікроворсинок* на люмінальній поверхні ендотелія капілярів міокарда щурів, ми звернули увагу на особливості будови і функції *респіраторного відділу* дихальної системи кісткових риб [17, 18]. Варто зазначити, що концентрація вільного кисню у 100 мл води прісноводних водойм складає 3-4 мл. Дихальна система кісткових риб дуже ефективно засвоює до 85% кисню з води, що пройшла через їх зябра. У риб респіраторний відділ дихальної системи функціонує набагато ефективніше, ніж дихальна система наземних хребетних тварин. Респіраторний відділ у зябрах кісткових риб утворений рядом зябрових ниток, званих первинними *ламелами*, або *пелюстками*. Для суттєвого збільшення площі контакту з водним середовищем, первинні ламели покриті величезною кількістю крихітних пластинок, які називаються *вторинними пелюстками* [17, 18]. Через них проходять вузькі кровоносні капіляри. Велика площа поверхні тонкої оболонки *вторинних ламел* сприяє ефективному газообміну між водним середовищем і кров'ю у капілярах зябер риби. Порівнюючи ультраструктуру респіраторного відділу зябер кісткових риб з ультраструктурою *рельєфу люменальної поверхні* капілярів ссавців можна виявити *подібність структурно-функціональних ознак*. Окремі кровоносні капіляри ссавців з багатьма *ламелеподібними* утвореннями на люменальній поверхні ендотелія, *морфологічно і функціонально подібні* первинним *ламелам* що вкриті багатьма *вторинними пелюстками* у зябрах кісткових риб. Отже, проведений порівняльний аналіз дає підставу вважати, що *мікроворсинки і ламелеподібні* утворення люменальної поверхні ендотелія мікросудин ссавців приймають активну участь у *процесах ефективного поглинання кисню з поверхні еритроцитів і плазми крові*. Ймовірно існує зворотна кореляція між показником капілярного гематокриту та кількістю мікроворсинок і ламел на люменальній поверхні мікросудин.

При дослідженні ультраструктури тканин різних органів ссавців і людини було виявлено, що поза кровоносних судин МЦР екстравазально спостерігаються поодинокі та невеликі групи *еритроцитів*. Таке явище отримало назву *діapedез* формених елементів крові [4, 8]. Є припущення, що *діapedез* еритроцитів є *пасивним феноменом*, який виникає при підвищенні тиску крові і наростаючої проникності стінок мікросудин. Найбільш частою причиною *мікровиливів* крові у інтерстиційний простір є дія на стінки мікросудин протеолітичних ферментів. За даними [4], *діapedез* лейкоцитів та еритроцитів є одним із важливих морфологічних проявів розвитку патогенезу *запалення*. Отже, явище *діapedезу* формених елементів крові у інтерстицій органів часто пов'язаний з розвитком патологічного процесу. Але етіологія (причина виникнення) *діapedезу* досі повністю не вивчена. Звер-

тає на себе увагу той факт, що в умовах *фізіологічної норми*, в інтерстиції органів також виявляються еритроцити поза кровоносних мікросудин. Виникає питання, яке функціональне значення має *діapedез* еритроцитів у пухку волокнисту сполучну тканину в умовах норми? При дослідженні щурів різного віку, нами також виявлено окремі мікрорайони пухкої сполучної тканини міокарда, в яких розташовані *еритроцити* поза капілярів МЦР (рис. 2Г). У приведеній електронній мікрофотографії звертає на себе увагу той факт, що форма еритроцитів свідчить про їх «активний рух» від розташованого поруч *нативного* капіляра вглиб інтерстиціального простору. У *першого* великого за розміром еритроциту сформований *провідний полюс*, що вказує в який бік відбувається переміщення клітини. Вміст деформованого еритроциту «перетикає» через вузьку щілину між пучком колагенових волокон і відростком клітини сполучної тканини (рис. 2Г). Вздовж бічної поверхні пружно деформованого еритроциту виявляється вузька світла смужка, яка *відокремлює* еритроцит від рядом розташованих елементів сполучної тканини. Утворення вузької світлої смужки навколо еритроциту, ймовірно свідчить про наявність локальної мікрозони підвищеного тиску тканинної рідини, направленої від поверхні еритроциту в інтерстицій. Ми припускаємо, що світла смужка утворюється в результаті *дифузії кисню з поверхні еритроцита в основну речовину сполучної тканини*. На це вказують дані, що напруга кисню (pO_2) в еритроцитах більша ніж у міжклітинному просторі [8]. Отже, при *активній міграції* еритроцитів з капілярів у стромальний компонент міокарда, відбувається *деоксигенація* еритроцитів і підвищення вмісту кисню у локальній зоні сполучної тканини. Необхідно звернути увагу на той факт, що клітини пухкої сполучної тканини використовують для метаболічних процесів кисень, який знаходиться в основній речовині. В умовах *дефіциту кисню* в інтерстиції (гіпоксія), відбувається *активний діapedез* еритроцитів для насичення сполучної тканини киснем. Отже, *етіологія діapedезу* еритроцитів у *нормі* обумовлена *дефіцитом кисню* в обмеженій ділянці інтерстицію. *Діapedез* еритроцитів у сполучну тканину міокарда запобігає розвитку гіпоксії. Таким чином, *діapedез* еритроцитів не є «*пасивним феноменом*». Це результат активної міграції еритроцитів з капілярів у зони сполучної тканини де знижений вміст кисню.

Висновки.

Результати проведених досліджень свідчать про те, що кровоносні капіляри міокарда *новонароджених* щурят утворені *світлими* (метаболічно активними) і *темними дегідратованими* (не активними) ендотеліоцитами. Визначено, що гетероморфні ендотеліоцити *ювенільних* щурят знаходяться в різних стадіях і фазах клітинного циклу. Периферійна зона цитоплазми *світлих* ендотеліоцитів іноді утворює глибокі інвагінації в інтрестицій. Можливо, інвагінації являються початковою стадією розвитку майбутніх капілярних трубочок. Встановлено, що локальні випинання еритроцитів контактують і деформують люменальну поверхню капілярів. Локальні випинання еритроцитів в периферійну зону цитоплазми, створюють умови для утворення поляризованих відростків ендотеліоцитів. Властивість оборотної де-

формованості еритроцитів дозволяє їм просуватися через вузькі ділянки просвіту капілярів, сприяють утворенню відростків ендотеліоцитів, які дають початок майбутнім вторинним кровоносним капілярам міокарда. Розроблено теоретичне обґрунтування можливого механізму утворення в міокарді інтра – та паравазальних пухирців, в умовах *безперфузійної фіксації* шматочків серця щурів. Результати проведених електронно-мікроскопічних досліджень вказують на те, що еритроцити беруть активну участь на початковому етапі утворення цитоплазматичних відростків, із яких надалі розвиваються ендотеліальні

трубки і вторинні мікрососуди. В нормальних умовах функціонування серцевого м'яза виявлений діapedез еритроцитів в інтерстицій міокарда. Висловлено припущення, що діapedез еритроцитів не є *«пасивним феноменом»*, а запобігає розвитку гіпоксії в локальних ділянках сполучної тканини міокарда.

Перспективи подальших досліджень.

Буде проведена морфометрія гематокрита у кровоносних мікросудинах міокарда і досліджена кінетика постнатальної проліферації ендотеліоцитів МЦР міокарда щурів.

References / Література

1. Dyumin MS, Pronin VV. *Angiologia*. Ivanovo: FGBOU; 2020. 103 s.
2. Ribatti D, Nico B, Crivellato E. Morphological and molecular aspects of physiological vascular morphogenesis. *Angiogenesis*. 2009;12(2):101-111.
3. Panysheva IA, Smirnov VP. Dinamika morfometricheskikh pokazateley izmeneniya funktsionalnogo elementa ishemizirovannogo miokarda. *Molodoy uchenyy*. 2017;5(139):88-92.
4. Strukov AI, Syerov VV. *Patolohichna anatomiya*. Pidruchnyk (Per. z ros.). 4-ti vyd. Kharkiv: Stereotypne. Fakt; 2004. 864 s. [in Ukrainian].
5. Zagoruyko GE, Martsinovsky VP, Husakovska TM, Filatova VL, Zagoruyko YuV. Kinetics of the development of the microcirculatory tract of the myocardial complex (LV + IVS) in the process of early postnatal ontogenesis of rats Wistar. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*. 2022;3(166):104-114. [in Ukrainian].
6. Chertok VM, Zakharchuk NV, Chertok AG. The cellular and molecular mechanisms of angiogenesis regulation in the brain. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S. Korsakova*. 2017;117(8):43-55.
7. Byelichenko VM, Hryhoryeva TA. Novi materialy dlya rozuminnyya mekhanizmiv ontogenezu krovonosnoyi systemy teplokrovnykh. *Byuletyn ZI RAMN*. 2004;2(112):114-117. [in Ukrainian].
8. Amirov DR, Tamimdarov BF. *Klinicheskaya gematologiya zhivotnykh*. Kazan: Information Technology Centre KGAVM; 2020. 134 s.
9. Livanova AA, Deev RV. *Sovremennyye metody issledovaniya angiogeneza v eksperimente*. Genu & Cellis. 2015;X(1):195-221.
10. Chukhray SM. Ultrastruktura krovonosnykh kapilyariv miokarda yuvenilnykh ta molodykh shchuriv iz vrodzhenym hipotyreozyom. *Svit medytsyny ta biolohiyi*. 2016;1(55):174-178. [in Ukrainian].
11. Shakhlamov VA. *Kapilyary*. M.: VEDI; 2007. 288 s.
12. Abramova ZI. *Teoriya apoptozu, autofahiyi ta nekrozu*. Kazan: KFUBPF; 2011. 100 s.
13. Yarin AA. *Apoptoz: pryroda fenomena ta yoho rol normi ta patolohiyi*. Aktualni problemy patofiziolohiyi. Mater. konferen.; 2001; Moskva. Moskva: Medytsyna; 2001. s. 13-56.
14. Fomchenko NV, Voropayev YE. *Biolohichni aspekty apoptozu*. Problemy zdorovya ta ekolohiyi 2013;2(1):39-45. [in Ukrainian].
15. Morozova KN. *Elektronnaya mikroskopiya v citologicheskikh issledovaniyah: metodicheskoe posobie*. Novosibirsk: NNIGU; 2013. 85 s.
16. Hayer H. *Elektronna histokhimiya*. Moskva: Svit; 1974. 488 s.
17. Matey VYE. *Zyabrovyy epiteliy prsnovodnykh kistkovykh ryb (morfofunktsionalna orhanizatsiya, adaptatsiya, evolyutsiya)* [avtoreferat dysertatsii]. Leninhad: LHU; 1989. 44 s.
18. Seytbayev KZH, Bazarbayeva ZHM. *Histolohichne vyvchennya zyaber ta orhaniv shlunkovo-kyshkovoho traktu sudaka, shcho meshkaye v ozeri Bilikol*. *Visnyk KazNU. Ekolohichna seriya*. 2012;3(35):202-208.

ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ УЛЬТРАСТРУКТУРИ ЕНДОТЕЛІЯ І КРОВОНОСНИХ КАПІЛЯРІВ МІОКАРДА У РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ РОЗВИТКУ ЩУРІВ WISTAR

Загоруйко Г. Є., Марциновський В. П., Цвентух Л. В., Цатурян О. Г., Філатова В. Л., Матвієнко Т. М., Саргош О. Д.

Резюме. Проведено дослідження ультратонких зрізів кровоносних капілярів міокарда лівого шлуночка щурів Вістар у віці від народження до 45 діб. Отримані дані дозволили виявити деякі особливості постнатального розвитку ендотелія і кровоносних капілярів у міокарді щурів. У *новонароджених* щурят кровоносні капіляри міокарда утворені *світлимими* і *темними дегідратованими* ендотеліоцитами. Виявлена гетероморфність ендотеліоцитів кровоносних капілярів ювенільних щурят свідчить про те, що вони знаходяться на різних стадіях клітинного циклу. У МЦР міокарда лівого шлуночка *5-ти добових* щурят виявляються *капілярні петлі*, у просвіті яких розташовані скупчення еритроцитів Під тиском випинань еритроцитів утворюються інвагінації цитоплазми ендотелія вглиб інтерстицію. Інвагінації подовжуються і поступово перетворюються у нові кровоносні капіляри. В міокарді *15-ти добових* щурят виявлено морфологічні прояви розвитку *фізіологічного апоптозу* ендотеліоцитів кровоносних капілярів і утворення апоптозних тілець. Видалення апоптозних тілець із просвіту судин МЦР здійснюється двома шляхами: *пасивним* – потоком крові, та *активним* – за допомогою *еритроцитів*, які *транспортують* адсорбовані на поверхні апоптозні тільця по кровоносному руслу у синусоїдальні обмінні капіляри та простори *Диссе печінки*. При дослідженні ультраранньої структури міокарда щурів різного віку було виявлено, що за межами капілярів в сполучній тканині спостерігаються поодинокі та невеликі групи *еритроцитів*. Ми припускаємо, що в умовах фізіологічної норми, *діapedез* еритроцитів зумовлений *дефіцитом кисню* в обмеженій ділянці міокарда. Відбувається *деоксигенація* еритроцитів і підвищення вмісту кисню у локальній зоні сполучної тканини. Отже, діapedез еритроцитів у сполучну тканину міокарда запобігає розвитку гіпоксії.

Ключові слова: міокард, капіляри, ендотелій, пухирці, діapedез еритроцитів.

SOME FEATURES OF THE ULTRASTRUCTURE OF THE ENDOTHELIUM AND CAPILLARIES OF MYOCARDIUM IN THE EARLY POSTNATAL DEVELOPMENT PERIOD OF WISTAR RATS

Zahoruyko H. E., Marcynovskyi V. P., Tsvetukh L. V., Tsaturyan O. H., Filatova V. L., Matvienko T. M., Sargosh O. D.

Abstract. Ultrathin sections of blood capillaries of the myocardium of the left ventricle of Wistar rats aged from birth to 45 days were studied. The obtained data made it possible to reveal some features of the postnatal development of the endothelium and blood capillaries in the myocardium of rats. In newborn rats, blood capillaries of the myocardium are formed by light and dark dehydrated endotheliocytes. The revealed heteromorphism of the endotheliocytes of the blood capillaries of juvenile rats indicates that they are at different stages of the cell cycle. Capillary loops, in the lumen of which there are clusters of erythrocytes, are found in the MRI of the myocardium of the left ventricle of 5-day-old rats. Under the pressure of protrusions of erythrocytes, intussusceptions of the cytoplasm of the endothelium deep into the interstitium are formed. Intussusceptions lengthen and gradually transform into new blood capillaries. In the myocardium of 15-day-old rat pups, morphological manifestations of the development of physiological apoptosis of blood capillary endotheliocytes and the formation of apoptotic bodies were revealed. Removal of apoptotic bodies from the lumen of the vessels of the MCR is carried out in two ways: passively – by blood flow, and actively – with the help of erythrocytes, which transport apoptotic bodies adsorbed on the surface along the bloodstream to the sinusoidal exchange capillaries and spaces of Disse of the liver. When studying the ultrastructure of the myocardium of rats of various ages, it was found that isolated and small groups of erythrocytes are observed outside the capillaries in the connective tissue. We assume that under physiological conditions, diapedesis of erythrocytes is due to oxygen deficiency in a limited area of the myocardium. There is deoxygenation of erythrocytes and an increase in oxygen content in the local area of connective tissue. The diapedesis of erythrocytes into the connective tissue of the myocardium prevents the development of hypoxia.

Key words: myocardium, capillaries, endothelium, diapedesis of erythrocytes.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Zagoruyko H. E.: [0000-1000-1016-0246](https://orcid.org/0000-1000-1016-0246)^{BD}

Martynovsky V. P.: [0000-2000-2001-0946](https://orcid.org/0000-2000-2001-0946)^{AF}

Tsvetukh L. V.: [0000-3000-3001-7971](https://orcid.org/0000-3000-3001-7971)^B

Tsaturyan O. H.: [0000-5000-5001-4256](https://orcid.org/0000-5000-5001-4256)^C

Filatova V. L.: [0000-4000-4019-1043](https://orcid.org/0000-4000-4019-1043)^E

Matviyenko T. M.: [0000-6000-6016-0862](https://orcid.org/0000-6000-6016-0862)^B

Sargosh O. D.: [0000-7000-7002-0773](https://orcid.org/0000-7000-7002-0773)^C

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest. / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Zagoruyko Hennadiy Yevhenovych / Загоруйко Геннадій Євгенович

Rivne State University of the Humanities / Рівненський державний гуманітарний університет

Ukraine 22028, Rivne, 12 Stepan Bandera str / Адреса: Україна, 33028, м. Рівне, вул. Степана Бандери 12

Tel.: 0684857563 / Тел.: 0684857563

E-mail: prof.zagoruykoge@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 20.11.2022 / Стаття надійшла 20.11.2022 року

Accepted 05.05.2023 / Стаття прийнята до друку 05.05.2023 року

DOI 10.29254/2077-4214-2023-2-169-144-147

UDC 159.9+ 617.7

Streltsova V. V., Kuchmenko O. B.

PROCESSING OF STIMULUS ADDRESSED TO THE I AND II SIGNAL SYSTEMS AGAINST THE BACKGROUND OF ACQUIRED MYOPIA

Nizhyn Gogol State University (Nizhyn, Ukraine)

poetessakvitka@gmail.com

The main focus of the study is to investigate the correlation between myopia and immune disorders, as well as the peculiarities of stimulus processing in individuals with myopia. The research revealed that acquired moderate myopia is a pathophysiological process accompanied by immune disorders. The results showed that neurodynamic function indicators were better in individuals with myopia compared to practically healthy individuals, indicating functional strain on the central nervous system. The primary objective of the study was to examine the peculiarities of stimulus processing directed at the I and II signaling systems in the context of acquired myopia. Data on neurodynamic properties obtained through the M. Makarenko method were used for this purpose. It was found that information processing by the I signaling system occurs faster in individuals with myopia, which is related to the form of the