

DOI:10.26693/jmbs04.02.069

УДК 616.36 - 073.582: 617.55 - 001 - 089.11

*Бойко В. В., Замятин П. Н., Невзоров В. П., Омельченко В. Ф.,  
Невзорова О. Ф., Проценко Е. С., Ремнёва Н. А.*

### ДИНАМИКА ВОССТАНОВЛЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ СИНУСОИДНЫХ КАПИЛЛЯРОВ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАННОЙ ТРАВМЫ ЖИВОТА

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

ivanova\_tatiana@ukr.net

В последнее время, одним из наиболее значимых результатов научного поиска явилось экспериментально обнаруженное и теоретически обоснованное неизвестное ранее явление пьезосинтетического эффекта в биологических тканях (пьезобиосинтеза), заключающегося в синтезе органических веществ в объектах биологического происхождения, под воздействием пьезоэлектричества, возникающего в жидкокристаллических структурах клеток, преимущественно биологических мембранах, при механических деформациях.

Цель исследования заключалась в изучении в динамике характерных особенностей изменений субмикроскопической архитектоники эндотелиоцитов синусоидных капилляров печени крыс после моделирования травмы и оценка степени изменения органелл с позиций как традиционных подходов к анализу электронно-микроскопических изображений, так и представлений квантово-волнового метаболизма.

В данной работе показана динамика ультраструктурных изменений эндотелиоцитов синусоидных капилляров печени крыс после моделирования травмы, из которой следует, что наиболее глубокие дистрофические и деструктивные нарушения развиваются на третьи сутки. В клетках печени обнаружены многочисленные очаги деструкции мембран ядра, митохондрий, эндоплазматической сети, а также редукция пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. В цитоплазме гепатоцитов обнаружено большое количество вторичных лизосом и включений липидов. В эндотелиоцитах разрушается цитоплазматическая мембрана, и просвет капилляра заполняется дегенератив-

но изменёнными органеллами и конгломератами аморфной субстанции.

Нарастание активности синтетических и репаративных внутриклеточных процессов в печени наступает на седьмые сутки после травмы, что структурно подтверждается гиперплазией мембран гранулярной эндоплазматической сети, появлением делящихся форм митохондрий, гипертрофией пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи, увеличением числа рибосом и гранул гликогена. К концу эксперимента ультраструктура гепатоцитов, эндотелиоцитов и звёздчатых макрофагов приобретает типичное строение.

**Ключевые слова:** травма печени, ультраструктура синусоидных капилляров печени, процессы репарации, квантово-волновой метаболизм.

**Связь работы с научными программами, планами, темами.** Работа выполнена в рамках научных тем ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМН Украины» «Разработать хирургическую тактику при повреждении полых органов брюшной полости с использованием миниинвазивных технологий», № государственной регистрации 0117U000339, сроки выполнения: 2017–2019 гг.; и «Изучить молекулярные механизмы течения раневого процесса с учетом процессов пьезобиосинтеза и разработать новые методы лечения ран с использованием комбинированных покровных материалов», № государственной регистрации 0118U000015, сроки выполнения: 2018–2020 гг.

**Введение.** Традиционные методы анализа электронно-микроскопических нарушений субмикроскопической архитектоники органелл клеток,

такие как набухание митохондрий, расширение цистерн эндоплазматического ретикулума, гипертрофия пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи, появление в цитоплазме различных включений являются стереотипными и, несмотря на их высокую информативность, не могут полностью охарактеризовать сущность происходящих патологических перестроек на уровне мембран и макромолекул [1, 4, 5].

В последнее время, одним из наиболее значимых результатов научного поиска явилось экспериментально обнаруженное и теоретически обоснованное неизвестное ранее явление пьезосинтетического эффекта в биологических тканях (пьезобиосинтеза), заключающегося в синтезе органических веществ в объектах биологического происхождения, под воздействием пьезоэлектричества, возникающего в жидкокристаллических структурах клеток, преимущественно биологических мембранах, при механических деформациях [3]. Об активности процессов жизнедеятельности клеток, в свете этого открытия, можно судить по количеству деформаций мембран, которые визуализируются на электронно-микроскопических изображениях срезов мембран. При этом количество деформаций пропорционально интенсивности внутриклеточных синтетических, репаративных и обменных процессов, протекающих на субклеточном уровне [2].

**Цель исследования:** изучить в динамике характерные особенности изменений субмикроскопической архитектоники эндотелиоцитов синусоидных капилляров печени крыс после моделирования травмы и оценить степень изменения органелл с позиций как традиционных подходов к анализу электронно-микроскопических изображений, так и представлений квантово-волнового метаболизма.

**Материал и методы исследования.** В эксперименте были задействованы белые крысы линии «Вистар» обоего пола с массой 200–250 г. Содержание животных и эксперименты проводились согласно положениям «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», утвержденных Пятым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013).

Травму производили наркотизированным тиопенталом натрия крысам специальным устройством для нанесения травм мелким лабораторным животным с дозировкой силой удара после лапаротомии непосредственно на печень.

После моделирования дозированной травмы печени крыс в зависимости от повреждения произ-

водили лигирование сосудов или ушивание зоны повреждения. Забор кусочков печени производили через 1 час, 1, 3, 7, 14 и 21 сутки после травмы.

Для электронно-микроскопического исследования кусочки ткани печени помещали для предварительной фиксации в 2,5% забуференный раствор глютарового альдегида на 4–6 часов при температуре 4 °С. Затем ткань промывали в буферном растворе и переносили для окончательной фиксации в 1% забуференный раствор четырехоксида осмия на 3–4 часа. Обезвоживание проводили в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. Ткань пропитывали и заливали в смесь эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60 °С в течение двух суток.

Из полученных блоков на ультрамикротоме УПТП-3М изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сетки и, после контрастирования цитратом свинца, исследовали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кВ.

Контролем качества гистологической обработки ткани служили кусочки печени интактных животных.

#### **Результаты исследования и их обсуждение.**

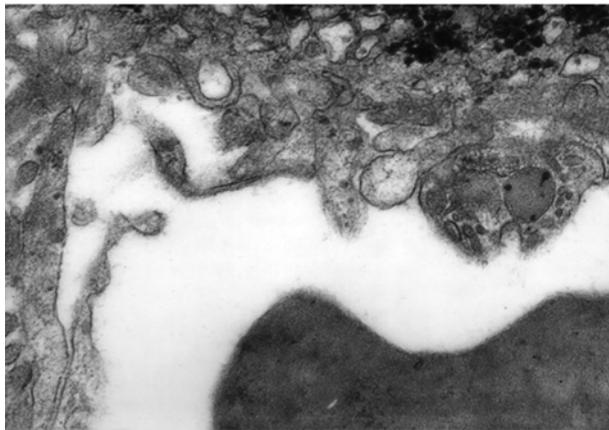
Электронно-микроскопическое исследование эндотелиоцитов синусоидных капилляров через час после моделирования травмы выявило умеренную активацию метаболических внутриклеточных процессов и снижение электронной плотности цитоплазмы.

Набухшие митохондрии содержали достаточно большое количество крист, матрикс имел мелко гранулярную структуру средней электронной плотности. Гранулярный эндоплазматический ретикулум представлен параллельно ориентированными с многочисленными деформациями мембранами, на которых присутствовало множество рибосом. В ядрах эндотелиоцитов присутствовало большое количество деконденсированного хроматина. В цитоплазме отростков эндотелиоцитов увеличивается, по сравнению с контрольной группой экспериментальных животных, число микропиноцитозных пузырьков. В целом возрастает и степень деформаций внутриклеточных мембран эндотелиоцитов.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи умеренно гипертрофирован, его гладкие мембраны параллельно ориентированы и собраны в стопки. Везикулярная часть его представлена многочисленными мелкими везикулами. Гладкие мембраны комплекса Гольджи подвержены деформациям. Цитоплазматическая мембрана с очагами деформации. В просвете синусоидных капилляров

располагаются, наряду с неизменёнными клетками крови, скопления дегенеративно изменённых митохондрий и фрагментов мембранных внутриклеточных структур.

Электронная плотность цитоплазмы эндотелиальных клеток синусоидных капилляров через 1 сутки после моделированной травмы печени снижается. Конденсированный хроматин ядра в виде осмиофильных глыбок концентрировался по периферии матрикса. Ядерная мембрана сильно разрушена и очагово разрушена. Митохондрии содержали очаги лизиса наружных мембран и крист. Гладкие мембраны пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи дезорганизованы. Цитоплазматическая мембрана, обращенная в просвет синусоида, имела множественные очаги деструкции (рис. 1). В просвете капилляра определялись свободноплавающие фрагменты мембран, дегенеративно изменённых митохондрий и детрит осмиофильного вещества различной электронной плотности.



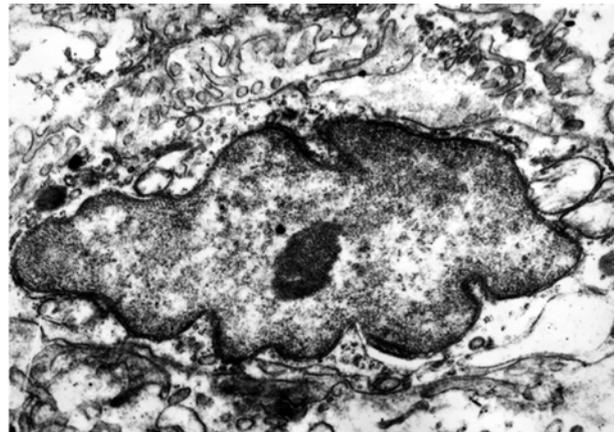
**Рис. 1.** Ультраструктура эндотелиоцитов синусоидных капилляров печени крыс через сутки после моделирования механической травмы передней стенки живота. Очаговый лизис цитоплазматической мембраны, x 46 000

Через 3 суток после дозированной травмы цитоплазма эндотелиальных клеток приобретала электронно-прозрачный вид. Мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума и митохондрий подвержены очаговому лизису. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума имели вид вакуолей сферической формы, без деформаций мембран. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован. Цитоплазматическая мембрана, обращённая к току крови, разрушена и содержала очаги лизиса. В цитоплазме отростков эндотелиоцитов выявляются единичные микропиноцитозные пузырьки. Пространство Диссе заполнено удлинёнными извитыми микро-

ворсинками, значительная часть которых подвержена деструкции. В пространстве Диссе выявлялись фрагменты дегенеративно изменённых мембран, митохондрий, а также бесструктурная аморфная субстанция различной электронной плотности

В цитоплазме отростках эндотелиоцитов синусоидных капилляров увеличивается количество микропиноцитозных пузырьков и обнаруживаются очаги деструкции цитоплазматической мембраны, обращенной к току крови с выходом дегенеративно изменённых митохондрий и фрагментов мембран в просвет капилляра.

Через 7 суток после травмы ядра эндотелиоцитов синусоидных капилляров приобретали типичную структуру. Резко уменьшается количество глыбок конденсированного хроматина и увеличивается число гранул деконденсированного. Ядерная мембрана четкая, зачастую образовывала неглубокие инвагинации и многочисленные мелкие деформации (рис. 2).



**Рис. 2.** Ультраструктура эндотелиоцитов синусоидных капилляров печени крыс на третьи сутки после моделирования механической травмы передней стенки живота. Многочисленные инвагинации ядерной мембраны, x 43 000

Митохондрии умеренно набухшие, их наружные мембраны и кристы без очагов разрушения, а матрикс приобретает мелко гранулярную структуру и среднюю электронную плотность. Цистерны гранулярной эндоплазматической сети остаются расширенными и электронно-прозрачными, имеют неправильную форму, что характерно при деформационных воздействиях на нее. В цитоплазме отростков увеличивается количество микропиноцитозных везикул. Сохраняются расширенными пространства Диссе, в которых встречались свободно плавающие органеллы гепатоцитов, среди которых фрагментированные мембраны гранулярного эндоплазматического

ретикулума и дегенеративно изменённые митохондрии.

Существенных изменений в субмикроскопической архитектонике органелл и мембранных структур эндотелиоцитов синусоидных капилляров на 14–21 сутки эксперимента не выявлено. В цитоплазме отростков эндотелиоцитов большое количество микропиноцитозных пузырьков, заполненных веществом различной электронной плотности.

К 21 суткам эксперимента субмикроскопическая организация эндотелиоцитов синусоидных капилляров полностью восстанавливается.

**Обсуждение.** Выявленные перестройки субмикроскопической архитектоники эндотелиоцитов синусоидных капилляров подтверждают ранее установленный нами феномен повышения активности метаболических внутриклеточных процессов в ранние сроки после любого воздействия негативного фактора на организм. Так через 1 час после воздействия моделирования травмы наблюдается компенсаторное расширение цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, увеличение числа рибосом и полисом в цитоплазме, а также увеличение количества микропиноцитозных пузырьков, что характерно для повышения уровня активности внутриклеточного метаболизма. Этот феномен, вероятно, может быть объяснён включением резервных механизмов внутриклеточных репаративных процессов в ответ на факторы травматического повреждения. Наблюдаемые изменения органелл лежат в пределах физиологической компенсации.

В ранее опубликованных результатах исследований нами показано, что всякое повышение активности синтетических и репаративных внутриклеточных процессов сопровождается увеличением количества очагов деформации мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, наружных мембран и крист митохондрий, цитоплазматической мембраны и гладких мембран пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. Именно такие изменения наблюдаются через час после моделированной травмы. Связь между количеством деформаций мембран и увеличением активности метаболизма можно объяснить активацией пьезобиосинтеза, как основы квантово-волнового метаболизма клетки [1, 3].

Дистрофические, с элементами деструкции нарушения субмикроскопической архитектоники эндотелиоцитов кровеносных капилляров развиваются на 3 сутки после нанесения травмы. В эти сроки появляются очаги лизиса мембран митохондрий, гранулярного эндоплазматического ретикулума, ядерной и цитоплазматической мембран, что свидетельствует о развитии митохондриаль-

ной дисфункции и снижении активности репаративных и метаболических реакций. Уменьшается степень деформации мембран гранулярной эндоплазматической сети, их цистерны приобретают вид вакуолей имеющих преимущественно округлую форму [2, 4].

Этот процесс сопровождается выходом дегенеративно изменённых митохондрий и фрагментов мембран в просвет синусоида и в пространство Диссе [4].

Выход повреждённых митохондрий в кровеносное русло, по нашему мнению, может вызывать реакцию организма, идентичную сепсису. Известно, что митохондрии произошли от прокариотов, внедрившихся в эукариотические клетки и вошедших с ними в симбиоз. Из этих соображений логично предположить, что, попадая в кровь, они могут восприниматься иммунной системой организма как чужеродные тела и вызывать ответную иммунную реакцию организма. Мы отдаём себе отчёт, что эта гипотеза нуждается в детальном исследовании, выходящем за пределы метода электронной микроскопии [4].

В период 7–21 сутки репаративные процессы в эндотелиоцитах активируются, что структурно проявляется с одной стороны гиперплазией гранулярной эндоплазматической сети, гипертрофией пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи, снижением количества очагов лизиса их мембран, с другой – увеличением количества деформаций внутриклеточных мембран. Эти процессы к концу эксперимента приводят к восстановлению типичной субмикроскопической архитектоники эндотелиоцитов [2, 5].

#### Выводы

1. Анализ субмикроскопической архитектоники эндотелиоцитов синусоидных капилляров через 1 час после моделирования травмы подтверждает ранее установленный нами феномен повышения метаболической активности внутриклеточных процессов в ранние сроки после любого негативного воздействия на организм, что может быть объяснено включением резервных внутриклеточных компенсаторно-адаптационных механизмов.
2. Повышение активности синтетических и репаративных внутриклеточных процессов сопровождается активацией пьезобиосинтеза, на что указывает увеличение количества очагов деформации внутриклеточных мембран и органелл.
3. На протяжении первых трёх суток в эндотелиоцитах развиваются дистрофические процессы, с элементами деструкции как внутриклеточных, так и цитоплазматических мембран, что сопровождается выходом дегенеративно изменённых фрагментов мембран и органелл в просвет синусоида и в пространство Диссе.

4. Разрушенные и дегенеративно изменённые митохондрии, обнаруженные в просвете капилляров, вероятно, воспринимаются иммунной системой организма как чужеродные и вызывают воспалительную реакцию.
5. К концу эксперимента репаративные процессы в эндотелиоцитах активируются, что структурно проявляется гиперплазией мембран гранулярной эндоплазматической сети, гипертрофией пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи, увеличением количества деформаций

внутриклеточных мембран, и к концу эксперимента восстанавливается типичная ультраструктурная архитектура эндотелиоцитов синусоидных капилляров печени.

**Перспективой дальнейших исследований** является изучение иммуногистохимических особенностей микроскопической структуры печени крыс с помощью маркера Ki-67 после моделирования травмы с целью оценки степени пролиферативной активности органелл гепатоцитов.

## References

1. Boyko VV. *Pezobiosintez: predposylki, gipotezy, fakty*. V 4 t. Kharkov: Pidruchnik NTU "KhPI"; 2016. 699 p. [Russian]
2. Boyko VV, Nevzorov VP, Nevzorova OF, i dr. Mekhanicheskie deformatsii kletochnykh membran – kriteriy aktivnosti metabolicheskikh i sinteticheskikh protsessov. *Kharkivska khirurgichna shkola*. 2016; 3(78): 12-8. [Russian]
3. Boyko VV, Zamyatin PN, Zhukov VI, Shchapov PF, Nevzorov VP, Klimova EM. *Yavlenie pezosinteza v biologicheskikh tkanyakh: Materialy zayavki na otkrytie*. Diplom №454, 2012. [Russian]
4. Boyko VV, Krasnoyaruzhskiy AG, Nevzorov VP, Nevzorova OF, Korzh PI. Ultrastruktura kletok pecheni krolikov s modelirovannym kompreSSIONnym sindromom. *Kharkivska khirurgichna shkola*. 2009; 4(38): 45-9. [Russian]
5. Nevzorova OF, Taraban IA, Nevzorov VP. Submikroskopicheskie aspekty patogeneza poliorganonoy nedostatocnosti. *Kharkivska khirurgichna shkola*. 2010; 4(42): 54-62. [Russian]

УДК 616.36 - 073.582: 617.55 - 001 - 089.11

### ДИНАМІКА ВІДНОВЛЕННЯ УЛЬТРАСТРУКТУРИ ЕНДОТЕЛІОЦИТІВ СИНУСОЇДНОГО КАПІЛЯРІВ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ МОДЕЛЬОВАНОЇ ТРАВМИ ЖИВОТА

**Бойко В. В., Замятін П. Н., Невзоров В. П., Омельченко В. Ф.,  
Невзорова О. Ф., Проценко Є. С., Ремньова Н. А.**

**Резюме.** Останнім часом, одним з найбільш значущих результатів наукового пошуку стало експериментально виявлене і теоретично обґрунтоване невідоме раніше явище п'єзосинтетичного ефекту в біологічних тканинах (п'єзобіосинтеза), що полягає в синтезі органічних речовин в об'єктах біологічного походження, під впливом п'єзоелектрики, що виникає в рідкокристалічних структурах клітин, переважно біологічних мембранах, при механічних деформаціях.

Мета дослідження полягала у вивченні в динаміці характерних особливостей змін субмікроскопічної архітектури ендотеліоцитів синусоїдних капілярів печінки щурів після моделювання травми і оцінка ступеня зміни органел з позицій як традиційних підходів до аналізу електронно-мікроскопічних зображень, так і уявлень квантово-хвильового метаболізму.

Показано динаміку ультраструктурних змін ендотеліоцитів синусоїдних капілярів печінки щурів після моделювання травми, з якої випливає, що найбільш глибокі дистрофічні і деструктивні порушення розвиваються на третю добу. У клітинах печінки виявлені численні осередки деструкції мембран ядра, мітохондрій, ендоплазматичної мережі, а також редукція пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі. У цитоплазмі гепатоцитів виявлено велику кількість вторинних лізосом і включень ліпідів. В ендотеліоцитах руйнується цитоплазматична мембрана, і просвіт капіляра заповнюється дегенеративно зміненими органелами і конгломератами аморфної субстанції.

Наростання активності синтетичних і репаративних внутрішньоклітинних процесів в печінці настає на сьому добу після травми, що структурно підтверджується гіперплазією мембран гранулярної ендоплазматичної мережі, появою форм мітохондрій, що діляться, гіпертрофією пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі, збільшенням числа рибосом і гранул глікогену. До кінця експерименту ультраструктура гепатоцитів, ендотеліоцитів і зірчастих макрофагоцитів набуває типової будови.

**Ключові слова:** травма печінки, ультраструктура синусоїдних капілярів печінки, процеси репарації, квантово-хвильовий метаболізм.

UDC 616.36 - 073.582: 617.55 - 001 - 089.11

**Dynamics of Ultrastructural Restoration in Sinusoidal Capillary Endotheliocytes of the Rat Liver after Simulated Abdominal Trauma**

**Boyko V. V., Zamyatin P. N., Nevzorov V. P., Omelchenko V. F., Nevzorova O. F., Protsenko E. S., Remneva N. A.**

**Abstract.** *The purpose of this study was to investigate the dynamics of ultrastructural changes in sinusoidal capillary endotheliocytes of the rat liver after simulated abdominal trauma to assess the degree of the organelles` damage using both traditional approach to the electron microscopic image analysis and the quantum-wave metabolism concepts.*

*Material and methods.* The experiment was conducted using the Wistar line of white rats of both sexes weighing 200–250 g. After the precise traumatic liver injury modeling, the damage zones were sutured. After that the liver pieces were taken for microscopic investigation in 1 hour, 1, 3, 7, 14, and 21 days.

*Results and discussion.* For electron microscopic examination, the pieces of liver tissue were placed for preliminary fixation in 2.5% buffered glutaraldehyde solution for 4–6 hours at 4 °C. Then the tissue was washed in a buffer solution and transferred for final fixation in 1% buffered solution of osmium tetroxide for 3–4 hours. Dehydration was performed in alcohols of increasing concentration and acetone. The tissue was impregnated and poured into a mixture of epoxy resins (epon-araldite) according to standard techniques. The blocks were polymerized in a thermostat at a temperature of 60 °C for two days. Ultrathin sections were made from the obtained blocks, using an UPTP-3M ultramicrotome, mounted on electrolytic grids and, after contrasting with lead citrate, were examined with an electron microscope EMV-100BR at an accelerating voltage of 75 kV. The pieces of the livers of intact animals served as a quality control.

We investigated the dynamics of ultrastructural changes in sinusoidal capillary endotheliocytes of the rat liver after simulated abdominal trauma. The most profound dystrophic and destructive processes developed on the third day. We found numerous foci of destruction of the membranes of the nucleus, mitochondria, and the endoplasmic reticulum, as well as the reduction of the Golgi cytoplasmic complex in the liver cells. A large number of secondary lysosomes and lipid inclusions in the cytoplasm of hepatocytes were also present. The endotheliocytes cell membranes were destroyed and the capillary lumens were filled with disorganized cell organelles and conglomerates of amorphous substance.

*Conclusions.* The increase of synthetic and reparative activity in the liver cells occurred on the seventh day after injury, which was structurally confirmed by granular endoplasmic reticulum membrane hyperplasia, mitochondria duplication, Golgi complex hypertrophy, and increase in the number of ribosomes and glycogen granules. At the end of the experiment, the ultrastructure of hepatocytes, endotheliocytes and stellate macrophage cells acquired a typical structure.

**Keywords:** liver injury, liver sinusoidal capillary cells ultrastructure, reparation, quantum-wave metabolism.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 22.12.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування