



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

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

© Коллектив авторов

МЕХАНИЧЕСКИЕ ДЕФОРМАЦИИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН — КРИТЕРИЙ АКТИВНОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Резюме. Анализом результатов многолетних электронно-микроскопических исследований показано возрастание активности внутриклеточных органелл в начале воздействия любых патогенных и непатогенных факторов, с последующим срывом компенсаторных возможностей клетки, что объясняется включением резервных адаптационно-компенсаторных механизмов клеток. В условиях моделированной патологии, независимо от ее вида, внутриклеточные мембраны в ранние сроки эксперимента подвергаются деформации. При далеко зашедших патологических процессах количество деформаций внутриклеточных структур снижается. Установлен феномен увеличения количества деформаций внутриклеточных мембран, который является, по всей видимости, универсальным ответом клеток различных органов и не зависит от природы патогенного фактора. Показано, что метаболическая активность органелл прямо пропорциональна количеству деформаций мембранных структур.

Ключевые слова: *внутриклеточные мембраны, электронная микроскопия, деформация мембран.*

Введение

Биологические мембраны — лабильные структуры и представляют собой билипидный слой, находящийся в постоянном движении. Электронно-микроскопическое изображение мембраны — это не что иное, как зафиксированная в данный момент времени конфигурация внутриклеточных мембран, по которой можно судить о степени их деформации [8, 10].

С позиций ранее сформулированной нами квантово-биологической теории [6, 12] основными параметрами биологических структур, таких как клетки и внутриклеточные мембранные комплексы, являются масса объекта, объёмная деформация и время её развития. Нами показано, что различные патологические процессы сопровождаются деформациями мембран [7]. Дальнейшее изучение последствий, вызванных деформацией мембран, как клеточных, так и внутриклеточных, позволило нам констатировать наличие корреляции между механическими объёмными деформациями и активностью метаболических и репаративно-синтетических процессов, протекающих на уровне мембран [1, 2, 4, 5, 13, 14, 16, 18].

Несмотря на детерминированную форму клеток, специализирующихся на выполнении функций органов в составе организма, их цитоплазматическая мембрана может подвергаться всевозможным деформациям. Размеры и форма органелл также детерминирова-

ны, однако в процессе жизнедеятельности под воздействием различных факторов внешней и внутренней среды эти параметры варьируют, что может происходить только при деформациях мембран, ограничивающих органеллы [3, 9, 11, 15, 19].

Цель исследования

Изучить влияние различных факторов внешней и внутренней среды на деформацию внутриклеточных мембран клеток различных органов, а также установить предполагаемую закономерность этих конформационных изменений в зависимости от активности внутриклеточных репаративных, метаболических и синтетических процессов.

Материалы и методы исследований

Материалом для электронно-микроскопического исследования служили кусочки ткани различных органов, взятые у экспериментальных животных с моделированной патологией, а также биоптаты органов больных, взятые субоперационно. Кусочки ткани для предварительной фиксации помещали в 2,5 % забуференный раствор глутарового альдегида на 5-6 часов при температуре 4 °С. После промывки в буферном растворе ткань переносили в 1 % забуференный раствор четырехоксида осмия на 3-4 часа для окончательной фиксации при температуре 4 °С. Обезвоживание проводили в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне.



Затем ткань пропитывали смесью эпоксидных смол (эпон-аралдит) и заключали в блоки по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков осуществляли в термостате при температуре 60 °С в течение двух суток.

Из полученных блоков на ультрамикротоме УМТП-3М изготавливали ультратонкие срезы, которые монтировали на электролитические сеточки и после контрастирования цитратом свинца и уранилацетатом изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кВ.

Результаты исследований и их обсуждение

В ранние сроки после моделирования любой патологии или воздействия факторов внешней среды при электронно-микроскопическом исследовании субмикроскопической архитектоники клеток различных органов, всегда наблюдали повышение уровня метаболической активности. Структурно это проявлялось гиперплазией мембран эндоплазматического ретикулума, увеличением количества митохондрий и крист в них, гипертрофией пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи, увеличением числа рибосом и полисом в цитоплазме (рис. 1). Одновременно с этими перестройками органелл наблюдалось и повышение количества очагов деформаций мембранных структур. Исключение составляют случаи, когда в качестве патогенного фактора выступают токсины, блокирующие основные метаболические функции, например цианид калия, блокирующий окислительно-восстановительные реакции.

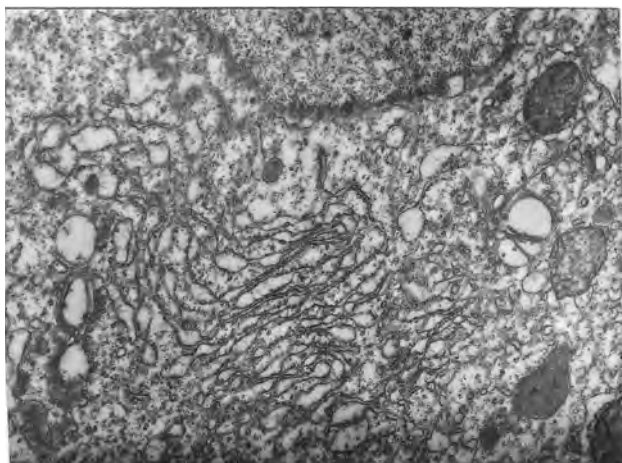


Рис. 1. Ультраструктура гепатоцитов крыс через 3 часа после моделирования перитонита. Гиперплазия мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума. $\times 30\ 000$

После фазы повышения метаболической активности при дальнейшем воздействии патогенного фактора наступает срыв компенсаторных возможностей клетки, что структурно выражается вакуолизацией цитоплазмы, лизисом и фрагментацией мембран (рис. 2).

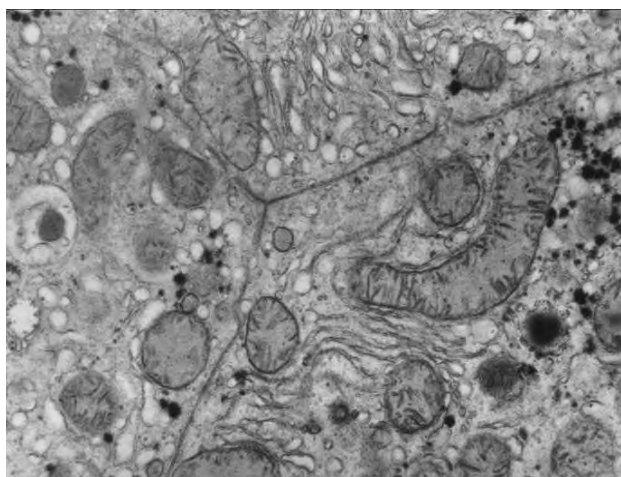


Рис. 2. Ультраструктура гепатоцитов крыс через трое суток после моделирования перитонита. Вакуолизация гранулярного эндоплазматического ретикулума, лизис цитоплазматической мембраны. $\times 29\ 000$

Эта закономерность, на наш взгляд, может быть объяснена включением резервных адаптационно-компенсаторных механизмов в ответ на негативное влияние факторов внешней и внутренней среды.

Анализ электронно-микроскопических изображений клеток различных органов экспериментальных животных также показал, что в условиях моделированной патологии, независимо от ее вида, внутриклеточные мембраны подвергаются деформации. Это относится к мембранам гранулярного и агранулярного эндоплазматического ретикулума, мембранам ядра, наружным мембранам и кристам митохондрий, цитоплазматической мембране, а также гладким мембранам пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи (рис. 3).

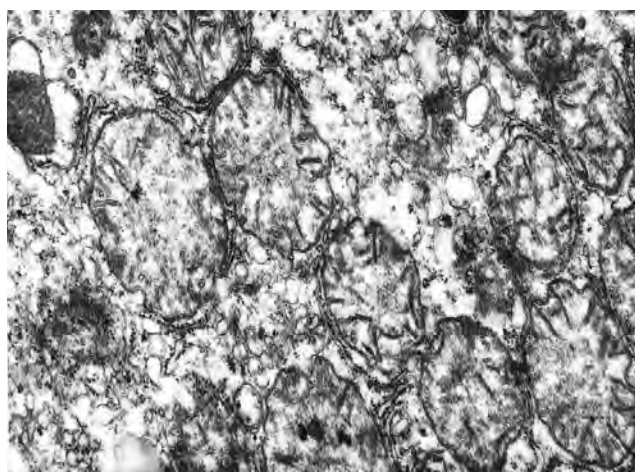


Рис. 3. Ультраструктура гепатоцитов крыс, подверженных СВЧ облучению. Деформация наружных мембран митохондрий. $\times 33\ 000$

При экспериментальном моделировании компрессионного синдрома средостения у кролей деформации были подвержены мембраны органелл гепатоцитов печени (рис. 4 а),

эпителиоцитов почечного нефрона (рис. 4б), базальные мембраны аэрогематического барьера респираторного отдела лёгких (рис. 4в), ядерные мембраны кардиомиоцитов (рис. 4г) и пирамидных нейронах головного мозга.

Деформации мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, наружных мембран митохондрий, гладких мембран пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи и цитоплазматической мембраны наблюдались в печёночных клетках в различные сроки после моделирования у крыс механической желтухи (рис. 5). При более длительных воздействиях патогенных факторов количество участков деформации мембран уменьшается наряду со снижением активности внутриклеточного метаболизма. Этот процесс наблюдается при экспериментальном моделировании перитонита у крыс.

Экспериментальная ишемия кишечника у крыс приводила к деформации мембран гра-

нулярного эндоплазматического ретикулума и митохондрий в столбчатых эпителиоцитах и бокаловидных экзокриноцитах слизистой оболочки тонкой и толстой кишки (рис. 6).

Нанесение тупой механической травмы передней стенки живота у экспериментальных животных в ранние сроки также вызывает деформацию мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, ядерных мембран и цитоплазматической мембраны в клетках печени (рис. 7а), поджелудочной железы (рис. 7б), цитоплазматических мембран эндотелиоцитов и альвеолоцитов I типа, составляющих аэрогематический барьер лёгких (рис. 7в) и наружных мембран и крист митохондрий кардиомиоцитов миокарда (рис. 7г).

Выраженные деформации митохондриальных внутренних мембран (крист) митохондрий наблюдались в гепатоцитах печени кролей с моделированной пневмонией (рис. 8).

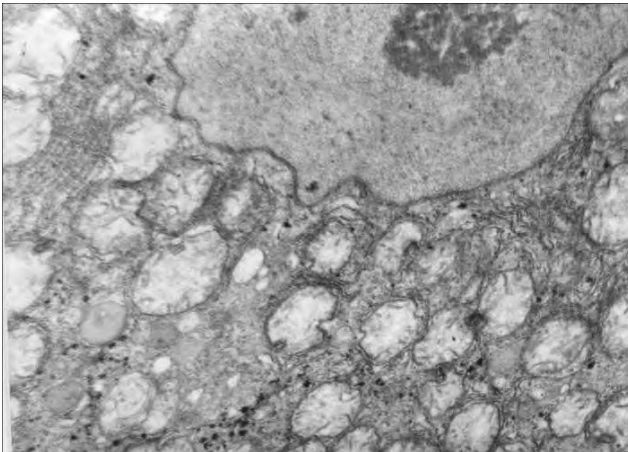


Рис. 4а. Ультраструктура клеток различных органов кролей при моделировании компрессионного синдрома средостения. Деформация наружных мембран и крист митохондрий гепатоцитов печени. $\times 31\ 000$

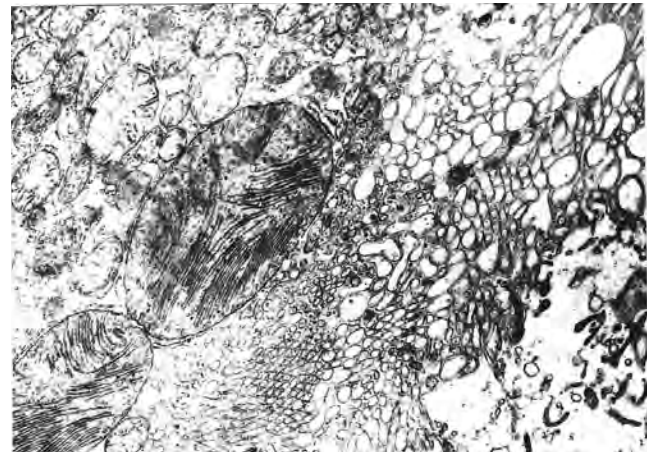


Рис. 4б. Ультраструктура клеток различных органов кролей при моделировании компрессионного синдрома средостения. Деформация крист митохондрий почечного нефрона. $\times 40\ 000$

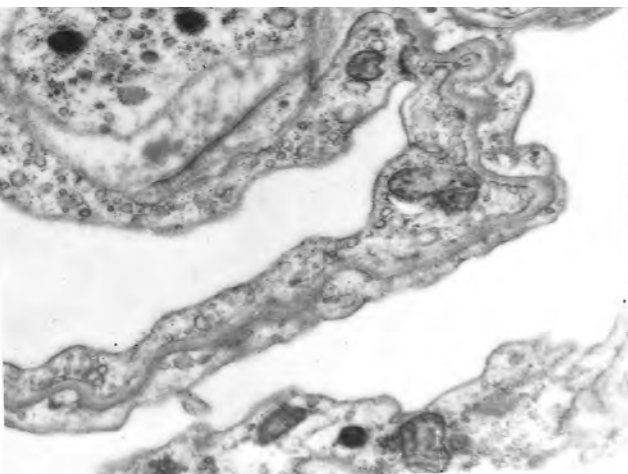


Рис. 4в. Ультраструктура клеток различных органов кролей при моделировании компрессионного синдрома средостения. Деформация базальной мембраны аэрогематического барьера респираторного отдела лёгких. $\times 42\ 000$

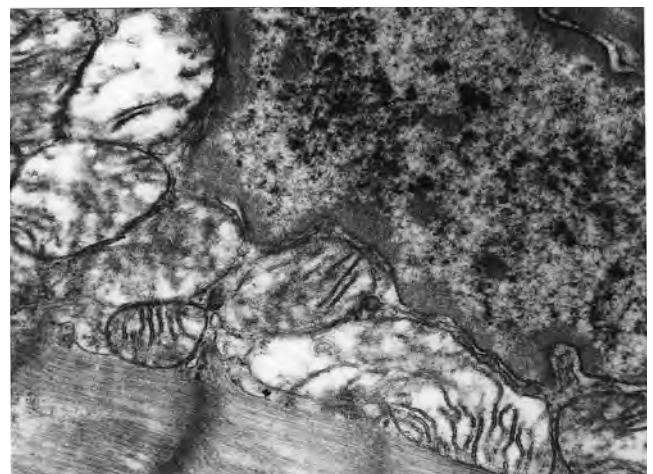


Рис. 4г. Ультраструктура клеток различных органов кролей при моделировании компрессионного синдрома средостения. Деформация ядерной мембраны кардиомиоцитов. $\times 36\ 000$

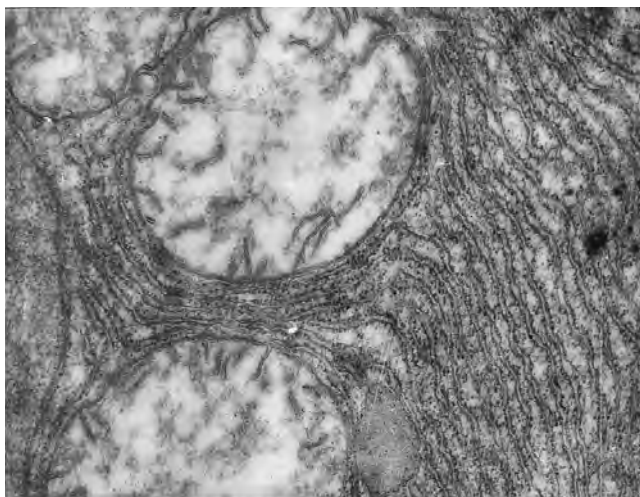


Рис. 5. Ультраструктура гепатоцитов печени собак на 30 сутки моделирования механической желтухи. Уменьшение количества деформаций наружных мембран и крист митохондрий. $\times 41\ 000$

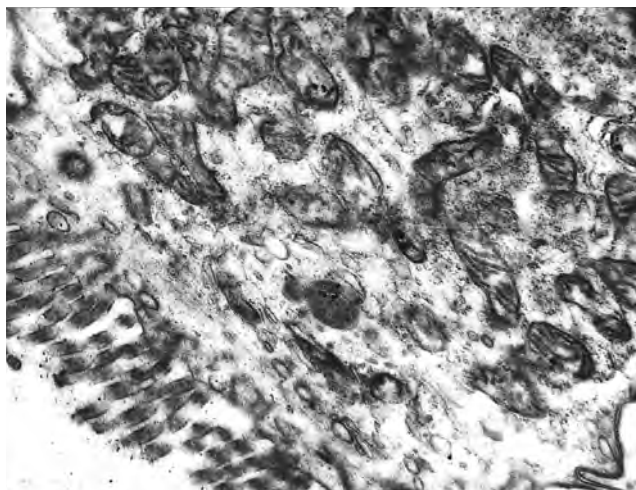


Рис. 6. Ультраструктура столбчатых эпителиоцитов крыс через два часа после моделирования ишемии тонкой кишки. Деформация наружных мембран и крист митохондрий. $\times 30\ 000$

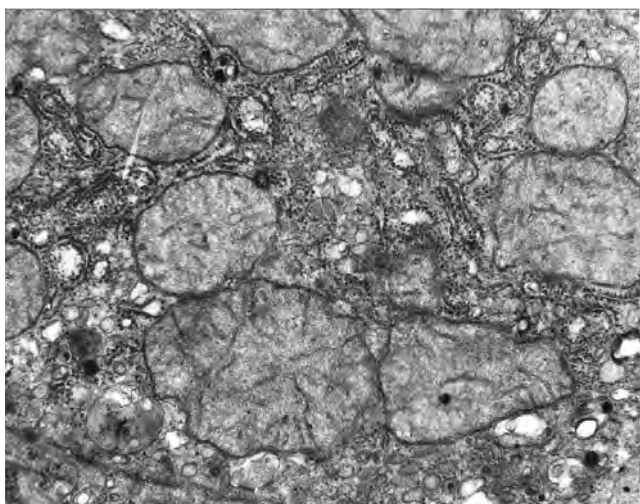


Рис. 7а. Ультраструктура клеток различных органов крыс через один час после моделирования тупой травмы живота. Деформация наружных мембран и крист митохондрий гепатоцитов печени. $\times 35\ 000$

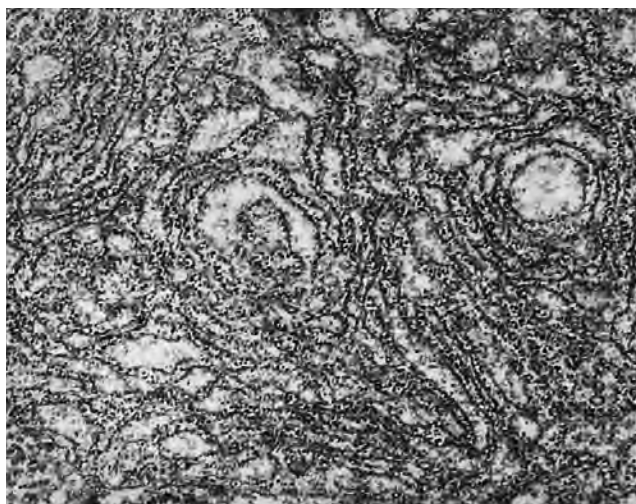


Рис. 7б. Ультраструктура клеток различных органов крыс через один час после моделирования тупой травмы живота. Деформации мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума экзокринных клеток поджелудочной железы. $\times 29\ 000$

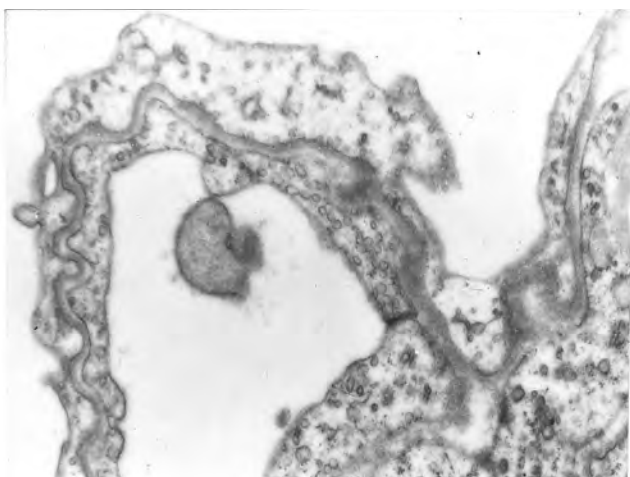


Рис. 7в. Ультраструктура клеток различных органов крыс через один час после моделирования тупой травмы живота. Цитоплазматической мембраны клеток аэрогематического барьера лёгких. $\times 43\ 000$

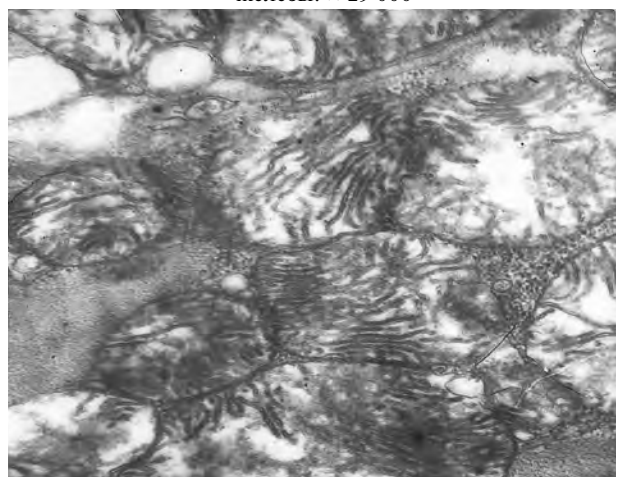


Рис. 7г. Ультраструктура клеток различных органов крыс через один час после моделирования тупой травмы живота. Ядерная мембрана кардиомиоцитов миокарда. $\times 34\ 000$

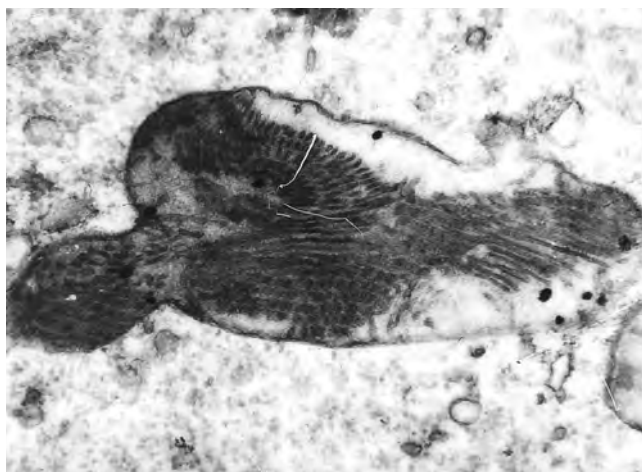


Рис. 8. Ультраструктура печени кролей с моделированной пневмонией. Деформация наружных мембран и крист митохондрий. $\times 39\ 000$

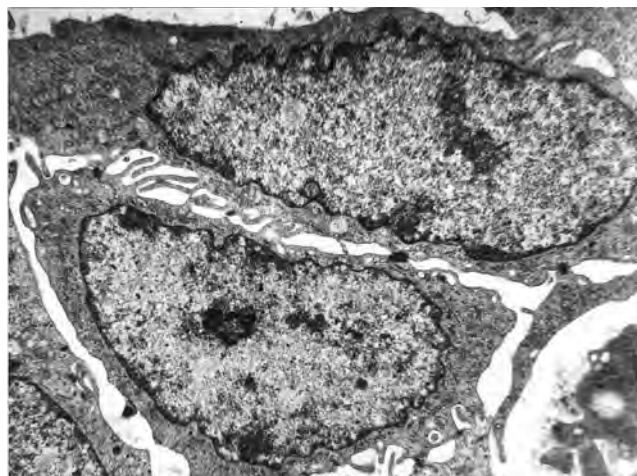


Рис. 9. Ультраструктура слизистой оболочки матки у больных с раком шейки матки. Деформация ядерной мембраны. $\times 28\ 000$

В опухолевых клетках, которые являются метаболически активными с интенсивно протекающими синтетическими процессами, также выявлены деформации мембран, особенно ядерных. Так, у больных с раком шейки матки выявлены многочисленные мелкие и глубокие инвагинации ядерных мембран (рис. 9).

Анализ результатов многолетних исследований изменений ультраструктурной организации клеток различных органов, взятых у экспериментальных животных, которым моделировались различные патологические состояния, а также у больных с различными хирургическими и онкологическими заболеваниями позволил нам утверждать о наличии корреляционной связи между количеством объемных деформаций внутриклеточных мембранных комплексов и активностью синтетических, репаративных и окислительно-восстановительных процессов. Вероятно, что увеличение количества деформаций внутриклеточных мембран является универсальным ответом клеток различных органов и не зависит от природы патогенного фактора.

Суммируя вышеизложенное, нами сделано заключение о том, что метаболическая активность органелл прямо пропорциональна количеству деформаций мембранных структур. Эта гипотеза не противоречит утвердившемуся мнению о том, что большинство метаболических, синтетических, окислительно-восстановительных и репаративных процессов протекают на мембранах и интенсивность этих реакций пропорциональна поверхности соответствующих мембран. Следовательно, увеличение количества очагов деформации неизбежно увеличивает площадь поверхности мембран.

Повышение синтетической и репаративной активности клеток и их органелл в ранние сроки воздействия любых патогенных факто-

ров внешней и/или внутренней среды связано, на наш взгляд, с включением резервных механизмов внутриклеточной компенсации. В условиях продолжающегося патологического воздействия процесс перестройки внутриклеточных мембран и органелл может развиваться по двум противоположным направлениям и приводить к двум различным исходам.

Во-первых, в случае, когда резервных механизмов компенсации достаточно для минимизации воздействий патогенных факторов, наступает восстановление типичной архитектуры клеток-мишеней. При этом наблюдаются изменения субмикроскопической архитектуры органелл в виде гиперплазии мембран гранулярной эндоплазматической сети, гипертрофии пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи, появления делящихся форм митохондрий с увеличением количества крист, а также возрастание числа рибосом и полисом в цитоплазме. В конечном итоге полностью восстанавливается типичная для данного вида клеток ультраструктурная организация.

Во-вторых, в случае, когда негативные факторы запредельны, клетки подвергаются гибели, одной из фаз которой является вакуолизация цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, деструкция митохондрий и крист и редукция пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. В итоге наступает фрагментация мембранных комплексов. Характерно, что этот процесс сопровождается уменьшением количества деформаций мембран.

Выводы

1. Моделирование любой патологии или воздействие любых патогенных и непатогенных факторов в начальные сроки эксперимента вызывает возрастание активности внутриклеточ-



ных органелл, с последующим срывом компенсаторных возможностей клетки, что структурно выражается вакуолизацией цитоплазмы, лизисом и фрагментацией мембран.

2. Выявленная закономерность объясняется включением резервных адаптационно-компенсаторных механизмов клеток в ответ на негативное влияние факторов внешней и внутренней среды.

3. Установленный нами феномен увеличения количества деформаций внутриклеточных мембран, по всей видимости, универсальный ответ клеток различных органов и не зависит от природы патогенного фактора.

4. Метаболическая активность органелл прямо пропорциональна количеству деформаций мембранных структур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авдосьев Ю. В. Ультраструктурні зміни клітин товстої кишки після ендovasкулярного гемостазу в експерименті / Ю. В. Авдосьев, Г. Е. Миловидова, В. П. Невзоров // Збірник матеріалів підсумкової науково-практичної конференції «Здобутки клінічної і експериментальної медицини». – Тернопіль, 2007. – С. 127–129.
2. Бабийчук В. Г. Ультраструктурные изменения миокарда молодых крыс после криовоздействия / В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2005. – № 1(14). – С. 57–60.
3. Бабийчук В. Г. Ультраструктура клеток надпочечников крыс, подвергшихся экстремальному криовоздействию / В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров, А. В. Гаевой // Харківська хірургічна школа. – 2005. – № 4. – С. 59–61.
4. Белозеров И. В. Ультраструктурные изменения клеток толстой кишки при непроходимости ракового генеза / И. В. Белозеров, В. П. Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2004. – №1-2. – С. 71–73.
5. Бойко В. В. Ультраструктура гладких миоцитов мышечного слоя кишечника экспериментальных животных с моделированной гипоксией / В. В. Бойко, В. Г. Грома, В. П. Невзоров // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2011. – № 3. – С. 22–25.
6. Бойко В. В. Квантово-биологическая теория. – Харьков: Факт, 2003. – С. 510–528.
7. Бойко В. В. Деформация внутриклеточных органелл, возникающая в процессе развития патологических состояний / В. В. Бойко, В. П. Невзоров // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2002. – № 4. – С. 49–54.
8. Влияние различных вариантов неоадьювантной терапии на изменения ультраструктуры опухоли у больных раком шейки матки / Ю. А. Винник, М. Ю. Неффа, Г. С. Ислямова, В. П. Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2002. – № 4(5). – С. 73–76.
9. Воздействие крайне высокочастотного излучения на ультраструктуру печени крыс с моделированным гнойным перитонитом / В. В. Бойко, О. Ф. Невзорова, Ю. В. Иванова [и др.] // Ліки людині: сучасні проблеми створення, вивчення та пробації лікарських засобів: Матеріали ХХІХ Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю. – Харків, 2012. – С. 16–18.
10. Замятин П. Н. Ультраструктурные изменения клеток печени при полиорганной недостаточности в модели травматического шока и политравмы / П. Н. Замятин, О. Ф. Невзорова, В. П. Невзоров // Медицина сегодня и завтра. – 2004. – № 1. – С. 25–28.
11. Изменения ультраструктуры митохондрий мышечных тканей крыс в условиях моделированной гиповолемии / С. В. Сушков, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова [и др.] // Харківська хірургічна школа. – 2010. – № 4(42). – С. 63–67.
12. Климова Е. М. Морфофункциональные предпосылки реализации остаточных напряжений в биологических объектах / Е. М. Климова, Л. А. Дроздова, В. П. Невзоров // Квантово-биологическая теория, 2003. – С. 528–657.
13. Логачев В. К. Ультраструктура печени экспериментальных животных при разлитом перитоните / В. К. Логачев, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова // Вісник морфології. – 2002. – № 2(8). – С. 241–243.
14. Невзоров В. П. Ультраструктурные изменения печени больных при различных стадиях желчно-каменной болезни / В. П. Невзоров, Н. В. Бондаренко // Сб. научн. работ конференции, посвященной 40-летию кафедры торокообдаминальной хирургии ХМАПО, основанной академиком А. А. Шалимовым. – Харьков, 1999. – С. 126–129.
15. Невзоров В. П. Изменение субмикроскопической архитектоники кардиомиоцитов крыс вследствие массивной кровопотери / В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова, И. А. Тарабан // Харківська хірургічна школа. – 2009. – № 1(32). – С. 36–38.
16. Невзоров В. П. Субмикроскопические аспекты патогенеза полиорганной недостаточности / О. Ф. Невзорова, И. А. Тарабан, В. П. Невзоров // Харківська хірургічна школа. – 2010. – № 4(42). – С. 54–62.
17. Ультраструктурные изменения клеток печени легких и тонкой кишки при экспериментальном остром желудочно-кишечном кровотечении / Ю. В. Иванова, С. Б. Пеев, В. П. Невзоров и др. // Харківська хірургічна школа. – № 3(3). – 2002. – С. 102–103.
18. Ультраструктура клеток венозной стенки больных острым тромбозом / В. А. Прасол, О. Ф. Невзорова, В. П. Невзоров [и др.] // Международный медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 90–94.
19. Удербаяев Н. Н. Динамика изменений ультраструктур клеток печени крыс после экспериментальной травмы / Н. Н. Удербаяев, В. П. Невзоров, В. В. Ревин // Харківська хірургічна школа. – 2005. – № 4(15). – С. 62–65.



МЕХАНІЧНІ ДЕФОРМАЦІЇ
КЛІТИННИХ МЕМБРАН —
КРИТЕРІЙ АКТИВНОСТІ
МЕТАБОЛІЧНИХ І
СИНТЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ

*В. В. Бойко, В. П. Невзоров,
О. Ф. Невзорова,
П. М. Замятін,
В. Ф. Омельченко,
О. С. Проценко,
Г. Е. Миловидова*

Резюме. Аналізом результатів багаторічних електронно-мікроскопічних досліджень показано зростання активності внутрішньоклітинних органел на початку впливу будь-яких патогенних і непатогенних факторів, з подальшим зривом компенсаторних можливостей клітини, що пояснюється включенням резервних адаптаційно-компенсаторних механізмів клітин. В умовах модельованої патології, незалежно від її виду, внутрішньоклітинні мембрани в ранні терміни експерименту піддаються деформації. При патологічних процесах, що далеко зайшли, кількість деформацій внутрішньоклітинних структур знижується. Встановлено феномен збільшення кількості деформацій внутрішньоклітинних мембран, який є, по всій видимості, універсальною відповіддю клітин різних органів і не залежить від природи патогенного фактора. Показано, що метаболічна активність органел прямо пропорційна кількості деформацій мембранних структур.

Ключові слова: внутрішньоклітинні мембрани, електронна мікроскопія, деформація мембран.

MECHANICAL
DEFORMATIONS OF
CELLULAR MEMBRANES
- CRITERION OF ACTIVITY
OF METABOLIC AND
SYNTHETIC PROCESSES

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

Summary. The analysis of the results of many years of electron microscopy studies have shown an increase in activity of intracellular organelles in the beginning of the effect of any pathogenic and non-pathogenic factors, followed by disruption of cells compensatory opportunities that due to the inclusion of reserve adaptive-compensatory mechanisms of the cell. The conditions simulated pathology, regardless of its form, intracellular membranes in the early stages of the experiment are deformable. In advanced disease processes the amount of deformation intracellular structures decreases. The phenomenon of the amount of intracellular membrane deformation increasement is set, which is apparently a universal response of cells of various organs and is not dependent on the nature of the pathogenic factor. It is shown that the metabolic activity of organelles directly proportional to the amount of deformation of the membrane structures.

Key words: intracellular membranes, electron microscopy, membrane deformation.