

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ ПРИ МЕХАНИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ СЕРДЦА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

[В. П. Новоселов¹, С. В. Савченко¹, А. Н. Порвин¹, Д. А. Кошляк¹, Ю. В. Чикинев¹, Т. А. Агеева¹, А. С. Полякевич¹, В. Э. Янковский²](#)

¹ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Новосибирск)

²ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Барнаул)

С целью выявления ультраструктурных изменений эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при механическом повреждении сердца различной степени тяжести было проведено экспериментальное моделирование ушиба сердца на апробированной модели — белых крысах-самцах породы Вистар. Выполнялось трансмиссионное электронно-микроскопическое исследование кусочков желудочков сердца животных с последующей статистической обработкой полученных результатов. Выявлен ряд характерных изменений органелл эндотелиоцитов. В частности, эксперимент позволил выявить при ушибе сердца увеличение объемных плотностей митохондрий, микропиноцитозных везикул и снижение объемных плотностей рибосом. При этом выраженность ультраструктурных изменений эндотелиоцитов зависела от степени тяжести ушиба сердца.

Ключевые слова: судебная медицина, ушиб сердца, эксперимент, крыса, трансмиссионная электронная микроскопия, эндотелиоцит.

Новоселов Владимир Павлович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой судебной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: sme@sibsme.ru

Савченко Сергей Владимирович — доктор медицинских наук, профессор кафедры судебной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: dr.serg62@yandex.ru

Порвин Александр Николаевич — ассистент кафедры судебной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: porvin@mail.ru

Кошляк Дмитрий Алексеевич — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры судебной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: expert.nsk@mail.ru

Чикинев Юрий Владимирович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной и детской хирургии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: Chikinev@inbox.ru

Агеева Татьяна Августовна — доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 225-08-63, e-mail: ageta@mail.ru

Полякевич Алексей Станиславович — доктор медицинских наук, доцент кафедры госпитальной и детской хирургии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: randorier@mail.ru

Янковский Владимир Эдуардович — доктор медицинских наук, профессор кафедры судебной медицины с основами права ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», контактный телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: shadimov_akbsme@mail.ru

Введение. Механические повреждения сердца отличаются тяжестью повреждений, учитывая высокие показатели летальности [9, 10, 14]. Одним из самых частых повреждений сердца при механических повреждениях является ушиб этого органа, возникающий при закрытой тупой травме грудной клетки в результате дорожно-транспортных происшествий, в случаях падения с большой высоты, а также при ударах тупыми предметами в проекции расположения сердца [4, 6, 7]. Несмотря на очевидную значимость проблемы, многие вопросы развивающихся при механическом повреждении сердца морфофункциональных изменений остаются малоизученными, большинство таких работ выполнено на макроскопическом и светооптическом уровнях [2, 3, 8].

Морфологическим изменениям эндотелиоцитов при механическом повреждении миокарда посвящены единичные работы. Тогда как эндотелий кровеносных микрососудов является структурным компонентом миокарда, тонко реагирующим на различные патологические воздействия [1, 13, 16]. Морфофункциональное состояние эндотелиоцитов капилляров в значительной степени определяет характер и динамику компенсаторно-приспособительных процессов, развивающихся в мышце сердца. В этой связи центральное значение принадлежит изучению функционирования эндотелиоцитов в обеспечении активного функционального состояния сосудистой стенки [5, 12]. Особое внимание привлекает микропиноцитоз эндотелия как структурное выражение его транспортной функции [15].

Цель исследования: выявить качественные и количественные ультраструктурные изменения эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при экспериментальном моделировании повреждения сердца в результате механической травмы различной степени выраженности.

Материал и методы исследования. Для решения поставленных задач в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» было осуществлено экспериментальное моделирование ушиба сердца на апробированной ранее

модели с использованием белых крыс-самцов породы Вистар, выращенных в стандартных условиях вивария на стандартном пищевом рационе массой 180–200 г [6, 8].

Моделирование ушиба сердца было осуществлено на 48-ми животных. Эксперимент был проведен под общей анестезией — обезболивание обеспечивалось диэтиловым эфиром. Непосредственно перед экспериментом животных под легким эфирным наркозом фиксировали на специальном стенде в положении на спине. С помощью игольчатых электродов электрофизиологического комплекса LabLinc model V75-25A (Coulbourn instruments, США), которые накладывались в стандартных отведениях, осуществлялась регистрация электрокардиограмм с последующей обработкой полученной информации с помощью компьютерной программы LabVIEW 5.1.

Механическое повреждение сердца воспроизводилось путем нанесения ударного травматического воздействия грузом массой 50 г при ускорении свободного падения с высоты 30 см и площади соударяющей поверхности 2 см² в точку максимального проявления сердечной пульсации на передней поверхности грудной клетки. При помощи электрокардиографического контроля животные были разделены на две группы по степени тяжести механического повреждения сердца. В группу с механическим повреждением сердца средней степени тяжести вошло 20 животных. У них электрокардиографические проявления травмы складывались из одиночных и групповых желудочковых экстрасистол и синусовой брадикардии с постепенным возвращением к нормальному ритму. После установления нормального сердечного ритма животных декапитировали. Группа с механическим повреждением сердца тяжелой степени тяжести также состояла из 20-ти животных. У этих животных через 15–20 мин от начала эксперимента, после вышеуказанных нарушений ритма сердца, наступала фибрилляция желудочков, переходящая в асистолию, после чего животных декапитировали. В качестве контрольной группы использовали 8 животных, которых в состоянии глубокой анестезии декапитировали. У погибших животных производилось быстрое вскрытие грудной клетки с последующим отсечением сердца и забором кусочков миокарда левого и правого желудочков для исследования.

Образцы миокарда для трансмиссионной электронной микроскопии подвергались стандартной обработке. При помощи светового микроскопа из полученных полутонких срезов выбирались необходимые участки для изготовления на микротоме LKB-Nova ультратонких срезов, которые в последующем контрастировались. Ультраструктурные изменения изучались и фиксировались с помощью электронного микроскопа JEM-1010 (Japan). На электронограммах с увеличением в 8000 раз точечным методом были охарактеризованы объемные плотности (Vv) органелл эндотелиоцитов капилляров миокарда желудочков сердца: митохондрий, рибосом и микропиноцитозных везикул: люминальных, свободно располагавшихся в цитоплазме (цитоплазматических), и базальных в соответствии с имеющимися рекомендациями [11].

Для статистической оценки результатов применялась общая линейная модель, реализованная в процедуре однофакторного дисперсионного анализа с фиксированными эффектами — метод ANOVA (Analysis of Variance).

Результаты исследования. Морфологическое исследование эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда контрольной группы животных позволило выявить более высокую объемную плотность митохондрий, рибосом и микропиноцитозных везикул в эндотелиоцитах левого желудочка сердца по сравнению с эндотелиоцитами правого желудочка, что, по нашему мнению, является закономерным и обусловлено более высоким метаболическим потенциалом миокарда левого желудочка сердца в связи

с участием в осуществлении кровообращения по большому кругу (рис. 1).

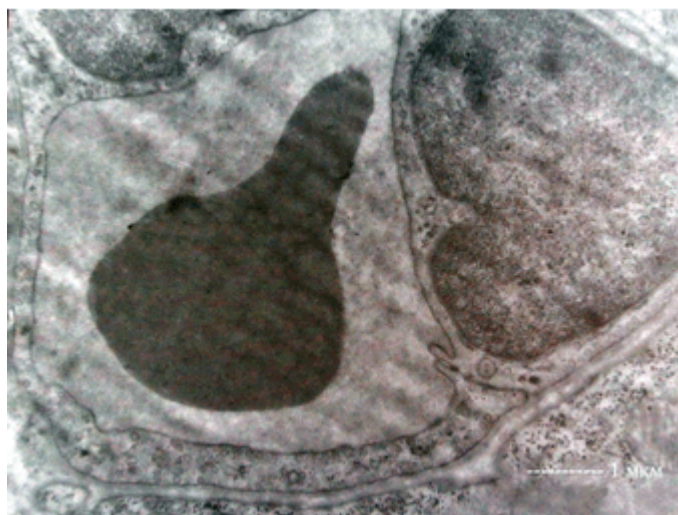


Рис. 1. Эндотелиоцит капилляра миокарда контрольной группы
(электронограмма, ув. $\times 8000$)

В результате механического повреждения сердца в эндотелиоцитах кровеносных капилляров миокарда желудочков сердца происходило увеличение объемных плотностей митохондрий и микропиноцитозных везикул, а также снижение объемных плотностей рибосом по сравнению с показателями объемной плотности указанных компонентов эндотелиоцитов желудочков сердца контрольной группы лабораторных животных. При механическом повреждении сердца более высокая объемная плотность органелл наблюдалась в эндотелиоцитах кровеносных капилляров миокарда левого желудочка сердца по сравнению с эндотелиоцитами правого желудочка.

При проведении исследования было отмечено, что в эндотелиоцитах кровеносных капилляров миокарда контрольной группы животных более высокая объемная плотность микропиноцитозных везикул наблюдалась у базальных поверхностей клеток.

При ушибе сердца средней степени тяжести наблюдалась тенденция к сокращению различий объемных плотностей микропиноцитозных везикул, сконцентрированных у базальных и люминальных поверхностей эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда желудочков. При ушибе сердца тяжелой степени наблюдалось преобладание объемной плотности микропиноцитозных везикул, сконцентрированных у люминальных поверхностей эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда над объемной плотностью микропиноцитозных везикул, расположенных у базальных поверхностей эндотелиоцитов. С учетом полученных данных можно отметить, что при механическом повреждении миокарда в случаях ушиба сердца отмечается усиление микропиноцитозной активности эндотелия кровеносных капилляров мышцы сердца, что связано с интенсификацией трансэндотелиального переноса веществ.

При оценке ультраструктурных изменений эндотелиоцитов была выявлена некоторая деформация ядер, обусловленная повышением конденсации хроматина около нуклеолеммы. Это свидетельствует о повышении синтетической активности ядер клеток в ответ на механическое повреждение.

Кроме того, было отмечено повышение складчатости люминальной поверхности эндотелиоцитов, вплоть до образования микроворсинок, что обусловлено повышением за счет активации трансэндотелиального переноса веществ. При механическом повреждении сердца тяжелой степени наблюдался отрыв микроворсинок эндотелиоцитов

от тел клеток — клазматоз.

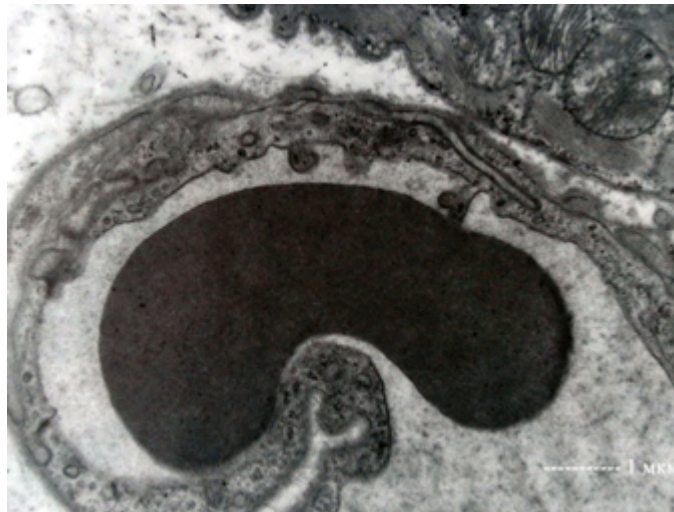


Рис. 2. Эндотелиоцит капилляра при ушибе сердца тяжелой степени (электроннограмма, ув. ×8000)

При ушибе сердца отмечалось просветление гиалоплазмы и увеличение микропиноцитозных везикул эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда с преимущественной их концентрацией в периферической зоне у люминальной поверхности эндотелиоцита, что связано с нарушением проницаемости цитоплазматической мембраны. Наряду с описанными изменениями отмечалось неравномерно выраженное расширение перикапиллярных пространств (рис. 2).

В увеличенных за счет нарастания отека митохондриях эндотелиоцитов кровеносных капилляров было заметно общее просветление их матрикса, увеличение расстояния между кристами. Часто наблюдалась деформация крист, а также их деструкция в виде разрывов. Отмеченное при проведении исследования увеличение объемной плотности митохондрий отражает особенности морфофункционального состояния эндотелиоцитов кровеносных капилляров в связи с нарушением метаболизма, обусловленного дефицитом кислорода и энергетических продуктов. При механическом повреждении сердца тяжелой степени отмечали более выраженное набухание митохондрий, сопровождавшееся деформацией и разрывами крист, гомогенизацию матрикса и возникновение разрывов наружной мембраны митохондрий.

При механическом повреждении сердца отмечено значительное снижение количества рибосом в эндотелиоцитах по сравнению с эндотелиоцитами контрольной группы экспериментальных животных, что отражает снижение белок-синтетической функции клетки.

Выводы

1. Проведенное исследование, основанное на оценке ультраструктуры эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при экспериментальном моделировании ушиба сердца, позволило выявить структурно-функциональные изменения клеток, обусловленные снижением энергообразующей, транспортной и белок-синтетической функций.
2. При механическом повреждении сердца в эндотелиоцитах кровеносных капилляров миокарда желудочков происходило увеличение объемных плотностей митохондрий, микропиноцитозных везикул и снижение объемных плотностей рибосом.

3. Наряду с повреждающим воздействием на структуру эндотелиальных клеток, при механическом повреждении сердца наблюдали развитие компенсаторно-приспособительных реакций, связанных с активацией и усилением микропиноцитозной активности эндотелия в кровеносных капиллярах миокарда; при этом в случаях ушиба сердца средней степени тяжести наблюдалось выраженное сокращение различий объемных плотностей микропиноцитозных везикул, сконцентрированных у базальных и люминальных поверхностей эндотелиоцитов; при повреждении сердца тяжелой степени отмечалось преобладание объемных плотностей микропиноцитозных везикул, сконцентрированных у люминальных поверхностей эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда над объемными плотностями микропиноцитозных везикул, расположенных у базальных поверхностей эндотелиоцитов.
4. Проведенное исследование позволило выявить характер ультраструктурных изменений эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда при ушибе сердца различной тяжести.

Список литературы

1. Волков А. М. Ультраструктура микрососудов миокарда при коррекции врожденного порока сердца в условиях бесперфузионной и перфузионной гипотермии : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А. В. Волков. — Новосибирск, 2003. — 24 с.
2. Капустин А. В. Диагностическое значение острых микроскопических изменений в миокарде / А. В. Капустин // Суд.-мед. экспертиза. — 2000. — № 1. — С. 7-11.
3. Ковалева М. А. Патоморфологическая оценка адренергических волокон и кровоизлияний в миокарде, а также клеток мозгового вещества надпочечников при ушибе сердца : автореф. дис. ... канд. мед. наук / М. А. Ковалева. — Новосибирск, 2006. — 20 с.
4. Кошляк Д. А. Морфо-гистохимические и ультраструктурные изменения миокарда при ушибе сердца : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Д. А. Кошляк. — Новосибирск, 2008. — 20 с.
5. Куприянов В. В. Микроциркуляторное русло / В. В. Куприянов, Я. Л. Караганов, В. И. Козлов. — М. : Медицина, 1975. — 213 с.
6. Патоморфология миокарда при ушибах сердца / В. П. Новоселов [и др.]. — Новосибирск : Наука, 2002. — 168 с.
7. Савченко С. В. Актуальные вопросы экспертной оценки морфологии сердца / С. В. Савченко // Вестн. судебной медицины. — 2012. — Т. 1, № 3. — С. 5-8.
8. Савченко С. В. Патоморфология и судебно-медицинская оценка изменений эндокарда и миокарда при ушибах сердца : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / С. В. Савченко. — Новосибирск, 2002. — 48 с.
9. Сапожникова М. А. Морфология повреждений органов груди и живота / М. А. Сапожникова. — М. : Медицина, 1988. — 160 с.
10. Соседко Ю. И. Внезапная смерть при травме рефлексогенных зон тела / Ю. И. Соседко. — М., 1996. — С. 21.
11. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли. — М. : Мир, 1975. — 336 с.
12. Шахламов В. А. Капилляры / В. А. Шахламов. — М. : ВЕДИ, 2007.
13. Шахламов В. А. Современные представления об ультраструктуре стенки кровеносных капилляров / В. А. Шахламов // Архив анатомии. — 1972. — Т. 62, № 1. — С. 5-15.
14. Случай недиагностированного ушиба сердца при закрытой тупой травме груди / В. В. Юрасов [и др.] // Вестн. судебной медицины. — 2012. — Т. 1, № 3. — С. 52-54.

15. Molecular Biology Of The Cell / B. Alberts [et al.]. — 5th ed. — New York : Garland Science, 2007.
16. Kumar V. Robbins and Cotran's Pathologic Basis of Disease / V. Kumar. — 7th. — Philadelphia : Elsevier Saunders, 2005. — P. 556.

MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF ENDOTHELIOCYTES AT MECHANICAL CARDIAC ABNORMALITY AT EXPERIMENT

[V. P. Novoselov¹](#), [S. V. Savchenko¹](#), [A. N. Porvin¹](#), [D. A. Koshlyak¹](#), [Y. V. Chikinev¹](#), [T. A. Ageeva¹](#),
[A. S. Polyakevich¹](#), [V. E. Yankovskiy²](#)

¹SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University» of Ministry of Health (Novosibirsk)

²SBEI HPE «Altai State Medical University» of Ministry of Health (Barnaul)

An experimental modeling of cardiac bruise on the approved model — Vistar white male rats was carried out for the purpose of identification of ultrastructural changes of endotheliocytes of vascular capillaries of myocardium at mechanical cardiac abnormality of different severity. Transmission electron and microscopical research of slices of cardiac ventricles of animals with subsequent statistical processing of the received results was performed. A series of characteristic changes of organellas of endotheliocytes is registered. In particular, experiment allowed revealing at cardiac injury the augmentation of volume densities of mitochondrions, micropinocytic vesicles and depression of volume densities of ribosomes. Thus expression of ultrastructural changes of endotheliocytes depended on severity of cardiac injury.

Keywords: forensic medicine, cardiac injury, experiment, rat, transmission submicroscopy, endotheliocyte.

About authors:

Novoselov Vladimir Pavlovich — doctor of medical science, professor, head of legal medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 346-00-19, e-mail: sme@sibsme.ru

Savchenko Sergey Vladimirovich — doctor of medical science, professor of legal medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 346-00-19, e-mail: dr.serg62@yandex.ru

Porvin Alexander Nikolaevich — assistant of legal medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 346-00-19, e-mail: porvin@mail.ru

Koshlyak Dmitry Alekseevich — candidate of medical sciences, assistant of legal medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 346-00-19, e-mail: sme@sibsme.ru.

Chikinev Yuri Vladimirovich — doctor of medical science, professor, head of chair of hospital and pediatric surgery at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 346-00-19, e-mail: Chikinev@inbox.ru

Ageeva Tatyana Avgustovna — doctor of medical science, professor of pathological anatomy chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383)-225-07-37, e-mail: ageta@mail.ru

Polyakevich Alexey Stanislavovich — candidate of medical science, assistant professor of hospital and children's surgery chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 346-30-66, e-mail: randorier@mail.ru

Yankovsky Vladimir Eduardovich — doctor of medical science, professor of chair of forensic medicine with law basics at SBEI HPE «Altai State Medical University» of Ministry of Health, office phone: 8 (383) 346-00-19, e-mail: shadimov_akbsme@mail.ru

List of the Literature:

1. Volkov A. M. Ultrastructure of myocardium microvessels at correction of congenital cardiac disease in the conditions of unperfusion and perfused hypothermia: theses.... doctor of medical science / A. V. Volkov. — Novosibirsk, 2003. — 24 P.
2. Kapustin A. V. Diagnostic value of acute microscopical changes in myocardium / A. V. Kapustin // *Medicolegal investigation*. — 2000. — N 1. — P. 7-11.
3. Kovalyova M. A. Pathomorphological assessment of adrenergic fibers and hemorrhages in myocardium, and also cells of cerebral substance of adrenals at cardiac injury: theses.... cand. of medical science / M. A. Kovalyova. — Novosibirsk, 2006. — 20 P.
4. Koshlyak D. A. Morpho-hystochemical and ultrastructural changes of myocardium at cardiac injury: theses.... cand. of medical science / D. A. Koshlyak. — Novosibirsk, 2008. — 20 P.
5. Kupriyanov V. V. Microcirculatory channel / V. V. Kupriyanov, Y. L. Karaganov, V. I. Kozlov. — M.: Medicine, 1975. — 213 P.
6. Pathomorphology of myocardium at cardiac injury / V. P. Novoselov [et al.]. — Novosibirsk: Science, 2002. — 168 P.
7. Savchenko S. V. Topical issues of expert assessment of morphology of heart / S. V. Savchenko // *Bulletin of forensic medicine*. — 2012. — V. 1, N 3. — P. 5-8.
8. Savchenko S. V. Pathomorphology and medicolegal assessment of changes of endocardium and myocardium at cardiac injury: theses.... Dr. of medical science / S. V. Savchenko. — Novosibirsk, 2002. — 48 P.
9. Sapozhnikova M. A. Morphology of damages of organs of breast and stomach / M. A. Sapozhnikova. — M.: Medicine, 1988. — 160 P.
10. Sosedko Y. I. Sudden death at trauma of reflexogenic zones of body / Y. I. Sosedko. — M, 1996. — P. 21.
11. Wikley B. Submicroscopy for beginners / B. Wikley. — M.: World, 1975. — 336 P.
12. Shakhlamov V. A. Capillaries / V. A. Shakhlamov. — M.: VEDI, 2007.
13. Shakhlamov V. A. Modern ideas of metastructure of wall of vascular capillaries / V. A. Shakhlamov // *Archive of anatomy*. — 1972. — V. 62, N 1. — P. 5-15.
14. A case of not diagnosed cardiac injury at the closed blunt injury of breast / V. V. Yurasov [et al] // *Bulletin of forensic medicine*. — 2012. — V. 1, N 3. — P. 52-54.
15. *Molecular Biology Of The Cell*/B. Alberts [et al.]. — 5th ed. — New York: Garland Science, 2007.
16. Kumar V. Robbins and Cotran's Pathologic Basis of Disease/V. Kumar. — 7th. — Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. — P. 556.