

Структура ендотеліальних клітин синусоїдів печінки за умов загального охолодження шурів

О.С.КАПРЕЛЬЯНЦ, Л.М.МАРЧЕНКО, Р.К. МІГУНОВА

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків***Structure of Liver Sinusoid Endothelial Cells under the Conditions of General Cooling of Rats**

KAPRELYANTS A.S., MARCHENKO L.M., MIGUNOVA R.K.

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine, Kharkov

В результаті проведених досліджень отримано нові наукові дані щодо впливу глибокої загальної гіпотермії шурів на ультраструктуру клітин ендотелію синусоїдів печінки, обчислено морфо- та стереометричні характеристики субклітинних елементів ендотеліоцитів. Показано підвищення реактивності клітин судинного ендотелію мікрогемодинамічного русла печінки.

Ключові слова: ультраструктура, ендотелій синусоїдів печінки, комп'ютерна морфометрія.

В результате проведенных исследований получены новые научные данные о влиянии глубокой общей гипотермии крыс на ультраструктуру клеток эндотелия синусоидов печени, вычислены морфо- и стереометрические характеристики субклеточных элементов эндотелиоцитов. Показано повышение реактивности клеток сосудистого эндотелия микрогемодинамического русла печени.

Ключевые слова: ультраструктура, эндотелий синусоидов печени, компьютерная морфометрия.

As a result of the investigations performed there were obtained the novel scientific data on the effect of deep total hypothermia in rats on cell ultrastructure of liver sinusoids, as well as there have been calculated morpho- and stereometric characteristics of subcellular elements of endotheliocytes. It was shown the rise of cell reactivity in vascular endothelium of liver microcirculatory channel.

Key words: ultrastructure, endothelium of liver sinusoids, computer morphometry

Дослідженню структурно-функціонального стану судинного ендотелію як основної ланки гістогематичних бар'єрів присвячена велика кількість робіт вітчизняних та іноземних спеціалістів, що свідчить про актуальність цієї проблеми для біології та медицини. Відома важлива роль печінки в підтримці гомеостазу організму, провідне значення її у синтезі різних речовин для потреб усіх органів і тканин, участь у розвитку реакцій організму в умовах стресових впливів [1,8,13]. Багатогранні функції тканини печінки в регуляції основних ланок міжклеточного обміну можливі за умов інтенсивного функціонування мікроциркуляторного русла печінки і, зокрема, судинного ендотелію. Тонкі структурні перебудови в судинному ендотелії, що супроводжуються зміною його проникності для фізіологічно адекватних і неадекватних речовин, суттєво впливають на перебіг подій у тканинах організму при охолодженні [1-3, 7,8]. Літературні дані свідчать про те, що охолодження ендотеліальних клітин викликає значні структурні зміни [6,9,12], але аспекти, які стосуються особливостей їх ультраструктурної організації, залишаються суперечливими [16,17] і майже недослідженими, а кількісні морфометричні методи

A huge amount of Ukrainian and foreign works is dedicated to the investigation of structurally functional state of vascular endothelium, that testifies to the actuality of this problem for current biology and medicine. Liver role is known to be important in an organism homeostasis maintenance, as well as its leading place in the synthesis of various substances for the needs of all the organs and tissues, participation in the development of organism responses under stress effects [1, 8, 13]. Such combined functions of liver tissue in the regulation of main metabolism links are possible under the conditions of an intensive functioning of liver microcirculatory channel and, in particular, of vascular endothelium. Fine structural rearrangements in vascular endothelium, accompanied by its permeability alterations for physiologically adequate and non-adequate substances, significantly affect the course of events in an organism tissues during cooling [1-3, 7, 8]. The literature data testify that endothelial cells cooling causes significant structural changes [6, 9, 12] but the aspects related to the peculiarities of their ultrastructural organization are still contradictory [16, 17] and practically absent. Taking into consideration all the mentioned above, the actuality of further investigation of endothelial liver cell ultrastructure when

Адрес для корреспонденции: Марченко Л.М., Институт проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 772-10-34, факс: +38 (057) 772-00-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Address for correspondence: Marchenko L.M., Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the Natl. Acad. Sci. of Ukraine, 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +38 (057) 7721034, fax: +38 (057) 7720084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

аналізу практично відсутні. Виходячи з вищевикладеного, стає очевидною актуальність подальшого вивчення ультраструктури ендотеліальних клітин печінки при охолодженні за допомогою сучасних методів морфометричного аналізу.

Матеріали і методи

Експерименти проведено на білих щурах-самцях масою 180-220 г. Для охолодження тварин використано метод Анджуса [5,10]. Температуру вимірювали електронним термометром СТЗ-18. Тварин розташовували в скляному пеналі об'ємом 2 л з герметичною пластиковою кришкою і переносили в холодову камеру з температурою середовища 0°C. Через 2 год ректальна температура цих тварин досягала 15 °С, при цьому вони реагували на подразники, але вже не могли рухатися. Частота серцевих скорочень – 60 ударів за хвилину. Відігрів тварин до ректальної температури норми тривав 90 хв. Контролем були інтактні тварини. Всього використано 12 щурів, по 6 тварин у контрольній та експериментальній групах. Тканину печінки для електронно-мікроскопічних досліджень брали безпосередньо після закінчення відігріву, фіксували занурюванням у 3%-й глутаральдегід на 0,1М какодилатному буфері і дофіксували 1%-м осмієвим фіксатором на тому ж буфері. Після обезводнення в етанолі зростаючої концентрації (50, 70, 90, 100%) та абсолютному ацетоні (тричі по 10 хв) зразки печінки заливали в суміш епоксидних смол епон-аралдит. Напівтонкі (0,3 мкм) та ультратонкі зрізи виготовляли за допомогою ультрамікротома УМТП-6. Напівтонкі зрізи, фарбовані метиленовим синім, аналізували і фотографували в оптичному мікроскопі "Біолам". Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом і цитратом свинцю, перегляд і фотографування здійснювали в трансмісійному електронному мікроскопі ПЕМ-125К (SELM) за прискорюючою напругою 75 кВ. Морфометричний і стереометричний аналізи електронно-мікроскопічних зображень ендотеліальних клітин синусоїдів проводили за допомогою комп'ютерної системи аналізу макро- мікроскопічних та електронно-мікроскопічних структур біологічних об'єктів MORPHO-TOOLS [2,13]. Система MORPHO-TOOLS складається з комплексу технічних засобів, а також програмного забезпечення для введення зображень в інтерактивному режимі, їх обробки, створення та підтримки бази даних.

Враховуючи складну структурну організацію ендотеліальних клітин, а також довільну просторову орієнтацію їх в ультратонкому зрізі, при виборі та аналізі морфометричних параметрів віддавалася перевага відносним показникам: відношенню площ

cooling using the up-to-date methods of morphometric analysis is obvious.

Materials and methods

The experiments were carried out in white male rats with the mass of 180-220g. To cool the animals we used the Andjus method [5, 10]. The temperature was measured by STZ-18 electron thermometer. The animals were located in 2 liter glass container with hermetical plastic lid and transferred into a cooling-chamber with the temperature of 0°C. In two hours rectal temperature of these animals reached 15°C, they responded to the excitation agents, but could not move. The rate of heart beats was 60 beats/min. Warming of animals up to normal rectal temperature lasted 90 min. Intact animals served as the control. In general we used 12 animals, 6 ones in each group, in the control and experimental one. Liver tissue for electron microscopic investigations was taken already following thawing, fixed by immersion into 3% glutaraldehyde on 0.1M cocodylate buffer and additionally fixed by 1% osmium fixing agent on the same buffer. Following the dehydration in ethanol with growing concentration (50, 70, 90, 100%) and an absolute acetone (3 times for 10min) liver samples were poured into a mixture of epoxy resins. Semi-fine (0.3µm) and ultra-fine sections were prepared using the UMT-6 ultramicrotome. Semi-fine sections stained by methylene blue were analyzed and recorded with "Biolum" optic microscope. Ultra-fine sections were contrasted with uranylacetate and lead citrate, viewing and making pictures were performed using transmission electron microscopy PEM-125K (SELM) with accelerating density of 75kW. Morphometric and stereometric analyses of electron-microscopic images of endothelial sinusoids cells were accomplished using computer analysis MORPHO-TOOLS system of macro- and microscopic and electron-microscopic structures of biological objects [2, 13]. MORPHO-TOOLS SYSTEM is composed of the complex of technical means and software for using the images in interactive regimen, their processing, designing and data base support.

Considering the complete structural organization of endothelial cells, as well as free environmental orientation of those in an ultra-fine section, during the selection and analysis of morphometric parameters we favored the relative indices: the ratio of areas and perimeters of certain structures, the calculations per unit of a cross area of a cell and its cytoplasm (density of the surfaces), of the volume (volumetric parts). There were also determined the absolute indices of cell structural characteristics, which had the sizes of microns, square ones etc. Standard error of the analysis of morphometric parameters does not exceed 5%. In the MORPHO-TOOLS data base there is the

і периметрів певних структур, розрахункам на одиницю площі перетину клітини та її цитоплазми (щільність поверхонь), об'єму (об'ємні частки, тощо). Визначалися також абсолютні показники структурних характеристик клітин, що мали розмірність мікронів, мікронів квадратних та ін. Загальна похибка аналізу морфометричних параметрів не перевищує 5%. У базі даних MORPHO-TOOLS міститься інформація про такі первинні морфометричні параметри, як площа, периметр, максимальні і мінімальні розміри, проєкції на вісі X і Y, а також фактори форми (F1; F2; F3), що характеризують різні показники форми об'єкта (F1 – відношення максимального діаметра до мінімального – ступінь округлості структури, F2 і F3 – різні ступені зрізаності контурів [2,13]). За результатами аналізу не менше як 10 вимірювань на різних клітинах були розраховані середні дані: об'ємна частка, сумарна щільність поверхонь і питома поверхня субклітинних елементів ендотеліоцитів.

Результати та обговорення

При дослідженні ультраструктури судинного ендотелію печінки за умов загального охолодження щурів (температура ядра тіла 15°C) було встановлено, що ендотеліоцити мають деякі характерні риси, притаманні нормальній тканині (рис.1). Ендотелій синусоїдів печінки щурів належить до синусоїдного або великого пористого типу. В ендотеліоцитах чітко виявляються ядерна зона і довгі периферичні дуже витончені області цитоплазми. Ядерна зона клітин мало виступає в просвіт судини. Люмінальна поверхня клітин в області перикаріону має невеликі інвагінації і мікрворсинки і навіть відростки. Аблюмінальна поверхня ендотеліоцитів має невелику кількість інвагінацій і складинок. Більша частина органел розташована в ядерній зоні ендотеліоцитів: великі овальні міто-

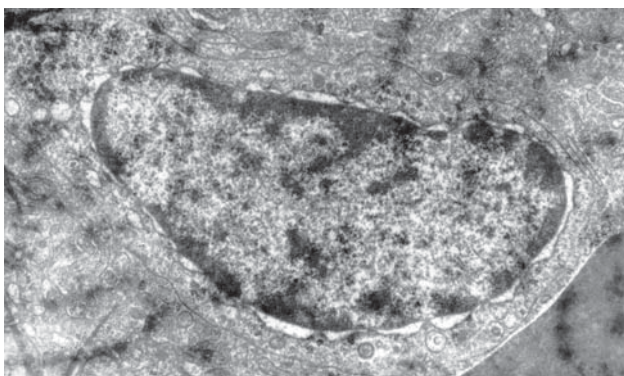


Рис.1. Ультраструктура перинуклеарної частини ендотеліоцита синусоїда печінки щура при загальному охолодженні. $\times 17000$.

Fig. 1. Ultrastructure of perinuclear part of sinusoid endothelial cell of rat liver under general cooling. $\times 17000$.

information on such primary morphometric parameters as the area, perimeter, maximum and minimum sizes, projections on X and Y axis, as well as the factors of the object shape (F1, F2, F3), characterizing various indices of the object shape (F1 as the ratio of the maximum diameter to the minimum one made the extent of the structure rounded shape, F2 and F3 as the different extent of cutting rate of the contours [2, 13]). According to the analysis results for not less than 10 measurings at different cells there were calculated the mean values: volumetric part, total density of the surfaces and specific surface of sub-cellular elements of endotheliocytes.

Results and discussion

When studying the ultrastructure of liver vascular endothelium under the conditions of total cooling of rats (the nucleus body temperature is 15°C) it has been found that endotheliocytes have some characteristic signs of normal tissue (Fig. 1). Endothelium of rat liver sinusoids is of sinusoidal or large pore type. In endotheliocytes the nuclear zone and long peripheric thinned cytoplasm sites are clearly expressed. Cellular nuclear zone is a little bit approaching into a vessel lumen. Cell luminal surface in pericarion site has slight invaginations and microvilli, and even outgrowings. Abluminal surface of endotheliocytes has a slight amount of invaginations and folds. The major part of organelles is located in a nuclear zone of endotheliocytes: large oval mitochondria, cisterns of endoplasmatic reticulum (EPR), free ribosomes, Golgi complex. Lysosomes are found in all the cell parts. In peripheric compartments the organelles amount is reduced, mitochondria are small, round, there are the fragments of endoplasmatic network, ribosomes. Along a luminal surface of peripheric endotheliocytes parts there are observed some micropinocytosis vesicles. The characteristic for liver sinusoid endotheliocytes is the presence of the diaphragmed fenestrae, as well as the opened ones (pores). The amount of fenestrae depends upon the functional state of endotheliocytes. In peripheric parts of cells the amount of opened pores and diaphragmed fenestrae is higher than in a nuclear zone. The opened fenestrae are of the size from 100 to 150nm up to 3 μ m and look like oval membrane-closed apertures. The opened oval fenestrae are located inside a cell and connected with the Disset environment, filled with glycocalix, which also covers the entire abluminal surface of endotheliocyte. The amount and sizes of opened pores are stipulated by the state of receptor-skeletal complex of endothelial cells and depolymerization extent of microfilaments in a cytoplasm [6]. The number of fenestrations depends upon the contacts of endotheliocytes and Kuppfer cells (star-like reticuloendotheliocytes), the amount of those makes almost 40% of the sinusoid endothelium [15].

хондрії, цистерни ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР), вільні рибосоми, комплекс Гольджі. Лізо-соми зустрічаються в усіх частинах клітин. У периферичних відділах кількість органел зменшена, мітохондрії дрібні, мають круглу форму, є фрагменти ендоплазматичної сітки, рибосоми. Уздовж люмінальної поверхні периферичних частин ендотеліоцитів спостерігаються мікропіноцитозні везикули. Характерною ознакою ендотеліоцитів синусоїдів печінки є діафрагмовані фенестри, а також відкриті фенестри (пори). Кількість фенестр залежить від функціонального стану ендотеліоцитів. У периферичних частинах клітин відкритих пор і діафрагмованих фенестр більше, ніж в ядерній зоні. Відкриті фенестри мають розміри від 100-150 нм до 3 мкм і мають вигляд овальних отворів, які закриті мембраною. Відкриті овальні фенестри розташовані в середині клітини і зв'язані з простором Діссе, що заповнений глікокаліксом, яким вкрита і вся аблюмінальна поверхня ендотеліоцита. Кількість і розміри відкритих пор зумовлюються станом рецепторно-скелетного комплексу клітин ендотелію і ступенем деполімеризації мікрофіламентів у цитоплазмі [6]. Кількість фенестрацій залежить від контактів ендотеліоцитів і клітин Купфера (зірчастих ретикулоендотеліоцитів), доля яких складає майже 40% від ендотелію синусоїдів [15]. Ендотелій синусоїдів печінки не має типової базальної мембрани. Лише клітини, розташовані в центрі печінкової часточки і на її периферії, містяться на базальній мембрані, яка є продовженням базальної мембрани центральної вени і міждолькової гілки воротної вени. Контакти ендотеліальних клітин між собою мають вигляд міжклітинних фенестр або люків (люфтів) – це широкі міжклітинні щілини [4], – а також вузьких міжклітинних щілин розміром 10-25 нм і щільних контактів [15]. Ми спостерігали наявність переважно відносно широких щілин між ендотеліоцитами.

Гепатоцити в залежності від свого місця розташування в печінковій часточці характеризуються різним рівнем функціональної активності, що відбивається і в їх ультрамікроскопічній організації. Має місце і гетерогенність у будові ендотеліоцитів уздовж одного синусоїда. Відмінність пов'язана з різним ступенем проникності клітин ендотелію, що відбивається в різній кількості і розмірах фенестр як відкритих і діафрагмованих, так і міжклітинних. Діафрагмовані фенестри здебільшого характерні для периферичних відділів синусоїда, а також для центральної зони, де контакти між клітинами більш щільні. На 90% всієї довжини синусоїда ендотеліоцити мають значну кількість великих відкритих внутрішньоклітинних фенестр, клітини розділені в ендотелії широкими щілинами розміром 200-250 мкм. Вважається, що фенестра (круглий отвір в

Endothelium of liver sinusoids does not have a typical basal membrane. Only the cells located in the center of liver part and on its periphery are located on a basal membrane, which is the continuation of a basal membrane of the central vein and interlobal branch of a portal vein. The contacts between endothelial cells look like intercellular fenestrae or hatches, those are broad intercellular fissures [4], as well as 10-25 nm thin intercellular fissures and dense contacts [15]. We predominantly observed the presence of relatively wide fissures between endotheliocytes.

Hepatocytes depending upon the place of their location in liver site are characterized by a different stage of functional activity, that manifested in their ultramicroscopic organization. Heterogeneity is also present in endotheliocytes structure along one of the sinusoids. The difference is bound to the various degree of endothelial cells permeability, that manifested in a different amount and sizes of fenestrae, of both opened, diaphragmed, and the intercellular ones. Diaphragmed fenestrae are mostly characteristic for peripheric sites of sinusoids, as well as for the central zone, where the intercellular contacts were dense. Along the 90% of all the sinusoid length the endotheliocytes have a significant number of open intracellular fenestrae, the cells are divided in an endothelium by wide 200-250µm fissures. It is considered that the fenestra (a round aperture in an endotheliocyte cytoplasm, covered with an elementary membrane) is formed by the reduction from transendothelial channel [3], but the opened fenestrae (pores) are formed during the diaphragm reduction in the diaphragmed fenestrae. Diaphragm has a complete organization and is formed as a result of the fusion of two cytolemmas. In the center of diaphragm there is revealed the thickening of 10-20 nm diameter, from which the fibrillary bands outgrow to the walls. They known to be formed of glycosaminoglycans molecules of various polymerization degree, forming the molecular sieve, preventing the macromolecules passing through [11].

Peripheric zones of endotheliocytes are mainly characterized by the presence of open fenestrae and practically absent diaphragmed ones.

The amount of these trans-endothelial communications is increased. Intercellular distance is significantly widened. However the vesicles formation in endothelium is known as a temperature dependent process [3, 14]. Vesiculation of endotheliocytes cytoplasm is suppressed under the temperature decrease, under our experiments conditions the reduction of the volumetric part and total density of the vesicles surfaces testify to this fact. The outgrowings of Kuppfer cells have a certain effect on the fenestrations formation, and activation of these cells under cooling conditions may affect the endothelium reactivity of sinusoids. The amount of Kuppfer cells in a sinusoid wall is augmented

цитоплазмі ендотеліоцита, прикритий елементарною мембраною) утворюється з трансендотеліального каналу шляхом редукції [3], а відкриті фенестри (пори) – при редукції діафрагми у діафрагмованих фенестр. Діафрагма має складну організацію і утворюється в результаті злиття двох цитолем. У центрі діафрагми виявляється утовщення діаметром 10-20 нм, від якого до стінок відходять фібрилярні тяжі. Відомо, що вони складаються з молекул глікозаміногліканів різного ступеня полімеризації, утворюючи молекулярне сито, що перешкоджає проходженню макромолекул [11].

Периферичні зони ендотеліоцитів характеризуються наявністю в основному відкритих і майже відсутністю діафрагмованих фенестр. Кількість цих трансендотеліальних комунікацій збільшена, що може пояснюватись тим, що утворення везикул і трансендотеліальних каналів в ендотелії – це температурозалежний процес [3, 14]. Везикуляція цитоплазми ендотеліоцитів пригнічується при зниженні температури, в умовах нашого експерименту про це свідчить зменшення об'ємної частки везикул. Відростки клітин Купфера мають певний вплив на формування фенестрацій, і активізація цих клітин за умов охолодження може впливати на реактивність ендотелію синусоїдів. Кількість клітин Купфера в синусоїдній стінці збільшена за умов цього експерименту. Зірчасті ендотеліоцити виявляють ознаки активного стану: розширення ядерних пор, активізація комплексу Гольджі, піноцитозу, фагоцитозу (рис.2).

При проведенні морфометричного аналізу на ультратонких зрізах синусоїдів печінки щурів визначалися параметри ендотеліальних клітин синусоїдів, а також внутрішньоклітинних органодів. Так, ядра ендотеліальних клітин у нормі мають площу перетину в межах від 4,8 до 9,7 мкм². Периметр ядра – 9,6-13,6 мкм. Максимальний розмір перетину ядра – 3,5-5,5 мкм, мінімальний – 1,3-2,4 мкм. Значення периметра ендотеліальних клітин знаходяться в межі 13,4-19,4 мкм. Максимальний лінійний розмір – до 6,5 мкм, а мінімальний – 1,7 мкм. Площа перетину ендотеліоцитів на ультратонких зрізах коливається від 5,7 до 23,3 мкм². При охолодженні клітини мають площу перетину ендотеліальних клітин, включаючи і купферові клітини, в межах 8,1-53,1 мкм². Периметр клітин варіював від 14,7 до 38 мкм. Морфометричні та стереометричні параметри ядра та ендотеліальних клітин приведені на рис.3. На рис.4 подано результати морфометричного аналізу органодів цитоплазми ендотеліальних клітин при охолодженні, які характеризують об'ємні частки, сумарну щільність поверхонь і середню питому поверхню органодів (мітохондрій, лізосом, ЕПР і везикул). Отримані морфометричні параметри доповнюють

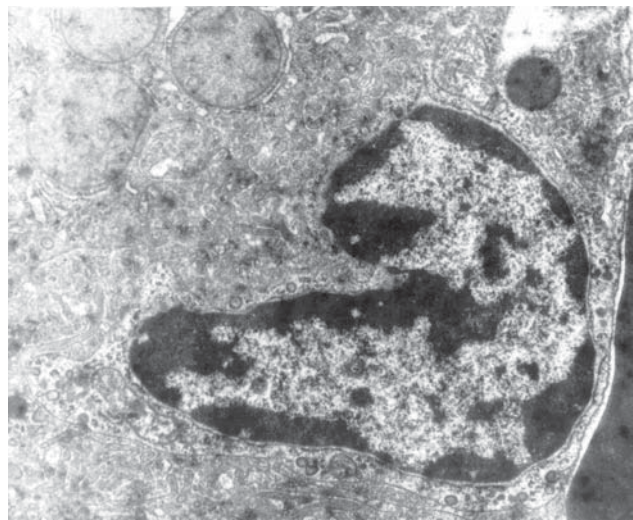


Рис.2. Клітина Купфера в каплярній стінці синусоїда печінки щура при загальному охолодженні. $\times 14000$.

Fig. 2. Kupffer cell in a capillary wall of rat liver sinusoid under general cooling. $\times 14000$.

under the experiment conditions. Star-like endotheliocytes manifest the signs of an active state: widening of nuclear pores, activation of Golgi complex, pinocytosis, phagocytosis (Fig. 2).

During morphometric analysis in ultra-fine sections of rat liver sinusoids there were determined the parameters of endothelial cells of sinusoids, as well as of intracellular organoids. The endothelial cell nuclei in the norm have the cross area within the limits from 4.8 to 9.7 μm^2 . The perimeter of nucleus made 9.6 to 13.6 μm . The maximum size of the nucleus cross area made 3.5 to 5.5 μm , the minimum one was 1.3 to 2.4 μm . The perimeter values of endothelial cells are within the limit of 13.4 to 19.4 μm . The maximum linear dimension is up to 6.5 μm , and the minimum one makes 1.7 μm . The cross area of endotheliocytes on ultra-fine sections fluctuates from 5.7 to 23.3 μm^2 . During cooling the cells have the cross area of endothelial cells, including also the Kupffer cells, within the limits of 8.1 to 53.1 μm^2 . Cell perimeter varied from 14.7 to 38 μm . Morphometric and stereometric nucleus parameters and of endothelial cells are given in Fig. 3. In Fig.4 there were presented the results of morphometric analysis of cytoplasm organoids of endothelial cells during cooling, which characterize the volumetric particles, total density of the surfaces and the mean specific surface of organoids (mitochondria, lysosomes, EPR and vesicles). Morphometrical parameters obtained are convincing to the described earlier data of a visual analysis of the structural rearrangement state in endothelial cells of sinusoidal liver capillaries during cooling towards endothelium activation as the tissue, providing the metabolism between blood and liver working elements.

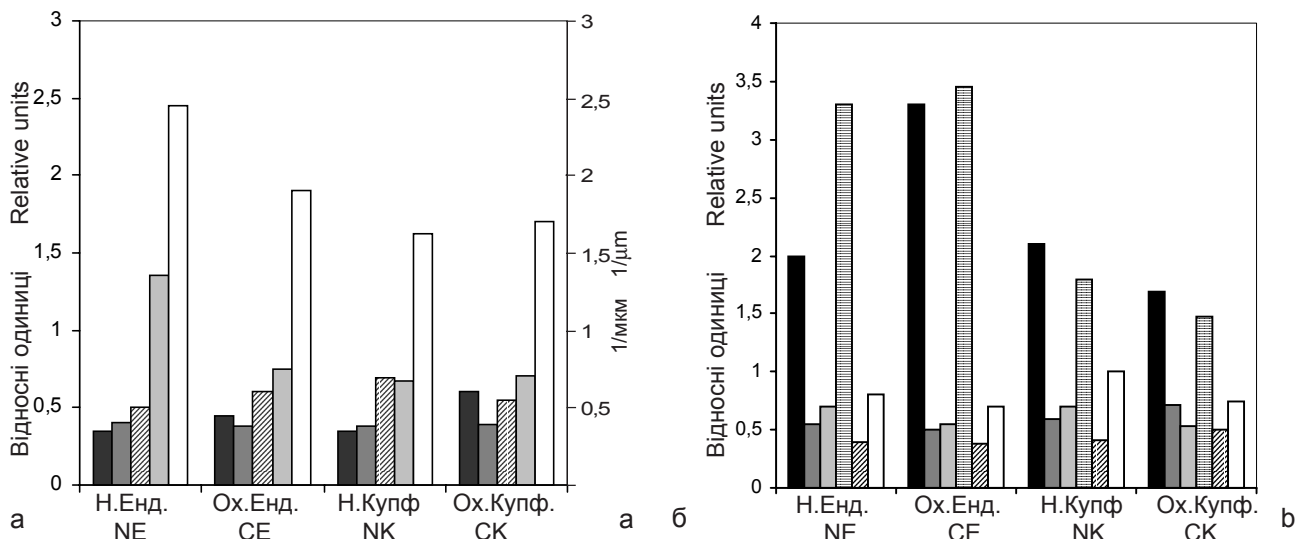


Рис.3. Морфометричні та стереометричні параметри ендотеліальних клітин та їхніх ядер при охолодженні. **а** – ■ – об'ємна частка ядра (відн. од.); ■ – об'ємна частка компактного хроматину (відн. од.); ▨ – об'ємна частка дифузного хроматину (відн. од.); □ – середня питома поверхня ядра (1/μм); □ – середня питома поверхня компактного хроматину (1/μм). **б** – фактори форми ядра ендотеліальних клітин: ■ – F1Я, ■ – F2Я, □ – F3Я; фактори форми ендотеліальних клітин: ▨ – F1К, ▨ – F2К, □ – F3К. Н.Енд. – ендотеліоцити при нормотермії; Ох.Енд. – ендотеліальні клітини після охолодження; Н.Купф. – клітини Купфера при нормотермії; Ох. Купф. – клітини Купфера після охолодження.

Fig. 3. Morphometric and stereometric parameters of endothelial cells and their nuclei under cooling. **a** – ■ – volumetric part of the nucleus (relative units); ■ – volumetric part of compact chromatin (relative units); ▨ – volumetric part of diffuse chromatin (relative units); □ – the mean specific surface of the nucleus (1/μm); □ – the mean specific surface of compact chromatin (1/μm). **b** – factors of the nucleus shape of endothelial cells – ■ – F1N, ■ – F2N, □ – F3N; factors of endothelial cells shape – ▨ – F1C, ▨ – F2C, □ – F3C. NE – endotheliocytes under normothermia; CE – endotheliocytes following cooling; NK – Kuppfer cells under normothermia; CK – Kuppfer cells following cooling.

описані вище дані візуального аналізу стану структурних перебудов ендотеліальних клітин синусоїдних капілярів печінки при охолодженні в напрямку активізації ендотелію як тканини, що забезпечує обмін речовин між кров'ю і робочими елементами печінки.

Висновок

Проведені дослідження ультраструктури клітин, що формують мікроциркуляторну ланку печінки щурів, свідчать про наявність перебудов реактивного характеру більшості ендотеліоцитів і клітин Купфера за умов загального охолодження тварин.

Література

1. Гичев Ю.П. Роль печени в адаптации организма к действию низких температур // Успехи физиологических наук.– 1990.– Т.21, №1.– С. 23-46.
2. Капрельянц А.С. Развитие электронной микроскопии в ИПКиК // Пробл. криобиологии.– 1997.– № 1-2.– С. 45-48.
3. Куприянов В.В., Бородин Ю.И., Караганов Я.Л., Выренков Ю.Е. Микролимфология.– М.: Медицина, 1983.– 287 с.
4. Лихачева Л.М. К вопросу об ультраструктуре стенки печеночных синусоидов // Вопросы функциональной микроангиологии и микроциркуляции. Труды 2-го МОЛГМИ.– 1972.– Т.60, №1.– С. 37-43.
5. Мельничук С.Д. Гиперкапния як фактор регуляції обміну речовин у тварин в стані природного та штучного

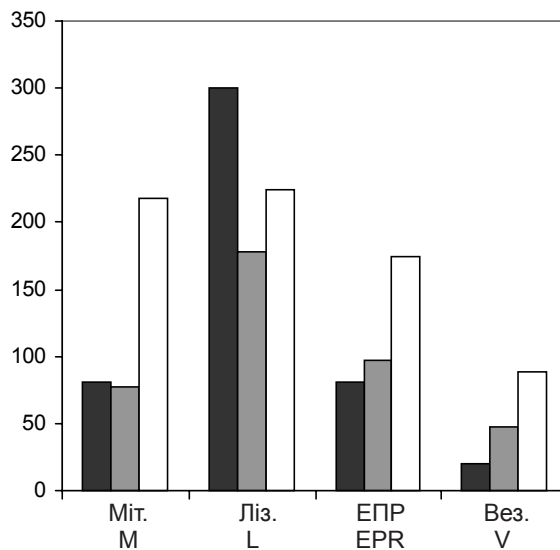


Рис. 4. Стереометричні параметри органодів цитоплазми ендотеліоцитів після охолодження (нормотермія – 100%) мітохондрії – Міт.; лізосоми – Ліз.; ендоплазматичний ретикулум – ЕПР; везикули – Вез.; ■ – об'ємна частка; ■ – сумарна щільність поверхонь; □ – середня питома поверхня.

Fig. 4. Stereometric parameters of cytoplasm organoids of endotheliocytes following cooling (normothermia – 100%): mitochondria – M; lysosomes – L; endoplasmatic reticulum – EPR; vesicles – V; ■ – volumetric part; ■ – total density of surfaces; □ – mean specific surface.

гіпобіозу: Автореф.дис...канд.біол.наук.– Київ, 1995.– 16 с.

6. *Миронов А.А., Миронов В.А., Луцки М.Д.* Электронно-микроскопический анализ рецепторно-цитоскелетического комплекса эндотелиальных клеток // Актуальные вопросы нарушений гемодинамики и регуляции микроциркуляции в клинике и эксперименте.– М.: Медицина, 1984.– С. 91-92.
7. *Пушкарь Н.С., Капрельянц А.С., Панков Е. Я.* Ультраструктура клетки при низких температурах.– Киев: Наук. думка, 1978.– 180 с.
8. *Сандомирський Б.П., Капрельянц О.С., Слета І.В. та ін.* Мікрогемодинаміка в печінці щурів при локальному охолодженні // Тез. доп. XII з'їзду Укр. фізіологічного товариства ім. І.П. Павлова.– Львів, 1986.– С. 357.
9. *Aliev G., Ragazzi E., Smith M.A., et al.* Morphological features of regeneration of rabbit aortic endothelium after cryoinduced vascular damage // J. Submicrosc. Cytol. Pathol.– 1999.– Vol.31, N4.– P. 495-502.
10. *Andjus R.K.* Suspended animation in cooled, super cooled and frozen rats // Am.J. Physiol.– 1955.– Vol.128, N3.– P. 547-556.
11. *Bearer E.L., Orci L.* Endothelial fenestral diaphragms: a quick-freeze, deep-etch study // J. Cell Biol.– 1985.– Vol.100, N2.– P. 418-428.
12. *Endrich B., Hammersen F., Messner K.* Microvascular ultrastructure in non-freezing cold injuries // Res. Exp. Med (Berl).– 1990.– N5.– P. 365-379.
13. *Kaprelyants A.S., Reylan A.N., Migunova R.K.* Ultrastructural morphometrical studing of the rats hepatocytes under cooling // Int. Congr. "Microscopy and Microanalysis'97" USA, 1997.– P. 245.
14. *Matthew C.B., Sils I.V., Bastille A.M.* Tissue-specific extravasation of albumin-bound Evans blue in hypothermic and rewarmed rats // Can.J. Physiol Pharmacol.– 2002.– 80, N3.– P. 233-243.
15. *Motta M., Muto M., Fujita T.* The liver. An atlas of scanning electron microscopy // Ygaku-Shoin, Tokyo-New York, 1978.– P.174.
16. *Wagner R.C., Andrews S.B.* Cryofixation of vascular endothelium // J. Electron Microsc. Tech.– 1991.– Vol.19, N3.– P. 276-290.
17. *Wood M.R., Wagner R.C., Andreus S.B., et al.* Rapidly-frozen, cultured, human endothelial cells: an ultrasructural and morphometric comparison between freshly-frozen and glutaraldehyde prefixed cells // Microcirc. Endothelium Lymphatics.– 1986-87.– Vol.3, N5-6.– P. 323-358.

Надійшла 10.12.2002

Conclusions

The investigations performed for the tissue ultrastructure, which forms the microcirculatory link in rat liver, testify to the presence of rearrangements of the reactive character in the major part of endotheliocytes and Kupffer cells under the total cooling of animals.

References

1. *Gichev Yu.P.* Liver role in an organism adaptation to the effect of low temperatures// Uspekhi fiziol. nauk.– 1990.– Vol.21, N1.– P. 23-46.
2. *Kaprelyants A.S.* Electron microscopy development at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine// Problems of Cryobiology.– 1997.– N1-2.– P. 45-48.
3. *Kupriyanov V.V., Borodin Yu.I., Karaganov Ya.L., Vyrenkov Yu.E.* Microlymphology.– Moscow:Meditsina, 1983.– 287p.
4. *Likhacheva L.M.* Towards the question of a wall ultrastructure of liver sinusoids // Questions of functional microangiology and microcirculation. Collection of works of the II-nd Moscow State Medical Institute.– 1972.– Vol.60, N1.– P.37-43.
5. *Melnichuk S.D.* Hypercapnia as a factor of the metabolism regulation in animals under natural and artificial hypobiosis.– Author's abstract of thesis for obtaining of candidate's degree.– Kiev, 1995.– 16p.
6. *Mironov A.A., Mironov V.A., Lutsik M.D.* Electron-microscopic analysis of receptor-cytoskeletal complex of endothelial cell // Actual questions of the impairment in haemodynamics and microcirculation regulation in clinics and experiment.– Moscow: Meditsina, 1984.– P. 91-92.
7. *Pushkar N.S., Kaprelyants A.S., Pankov E.Ya.* Cell ultrastructure under low temperatures.– Kiev: Naukova dumka, 1978.– 180p.
8. *Sandomirsky B.P., Kaprelyants O.S., Sleta I.V. et al.* Microcirculation in rat liver under local cooling // Abstract of the XII Meeting of the Ukrainian physiological society named by Pavlov I.P., Lviv, 1986.– P.357.
9. *Aliev G., Ragazzi E., Smith M.A., et al.* Morphological features of regeneration of rabbit aortic endothelium after cryoinduced vascular damage // J. Submicrosc. Cytol. Pathol.– 1999.– Vol.31, N4.– P. 495-502.
10. *Andjus R.K.* Suspended animation in cooled, super cooled and frozen rats // Am.J. Physiol.– 1955.– Vol.128, N3.– P. 547-556.
11. *Bearer E.L., Orci L.* Endothelial fenestral diaphragms: a quick-freeze, deep-etch study // J. Cell Biol.– 1985.– Vol.100, N2.– P. 418-428.
12. *Endrich B., Hammersen F., Messner K.* Microvascular ultrastructure in non-freezing cold injuries // Res. Exp. Med (Berl).– 1990.– N5.– P. 365-379.
13. *Kaprelyants A.S., Reylan A.N., Migunova R.K.* Ultrastructural morphometrical studing of the rats hepatocytes under cooling // Int. Congr. "Microscopy and Microanalysis'97" USA, 1997.– P. 245.
14. *Matthew C.B., Sils I.V., Bastille A.M.* Tissue-specific extravasation of albumin-bound Evans blue in hypothermic and rewarmed rats // Can.J. Physiol Pharmacol.– 2002.– 80, N3.– P. 233-243.
15. *Motta M., Muto M., Fujita T.* The liver. An atlas of scanning electron microscopy // Ygaku-Shoin, Tokyo-New York, 1978.– P.174.
16. *Wagner R.C., Andrews S.B.* Cryofixation of vascular endothelium // J. Electron Microsc. Tech.– 1991.– Vol.19, N3.– P. 276-290.
17. *Wood M.R., Wagner R.C., Andreus S.B., et al.* Rapidly-frozen, cultured, human endothelial cells: an ultrasructural and morphometric comparison between freshly-frozen and glutaraldehyde prefixed cells // Microcirc. Endothelium Lymphatics.– 1986-87.– Vol.3, N5-6.– P. 323-358.

Accepted in 10.12.2002