

УДК 611.36

## Ультраструктура митохондрий печени крыс при стрессах различной этиологии

Г.Р. Карапетян

*Институт биохимии им. Г. Х. Бунятыана НАН РА  
0014, Ереван, ул. П. Севака, 5/1*

*Ключевые слова:* токсические поражения печени, синдром длительного раздавливания (СДР), карбонтетрахлорид ( $\text{CCl}_4$ ), электронная микроскопия

На сегодняшний день одной из актуальных проблем остаются токсические поражения печени, причина которых может иметь как прямой (воздействие гепатотоксических веществ, таких как  $\text{CCl}_4$ ), так и непрямой характер (травматическое повреждение мягких тканей). При воздействии большинства гепатотоксичных веществ непосредственно повреждается паренхима печени, нарушаются обменные ферментативные процессы в ее ткани. Четыреххлористый углерод ( $\text{CCl}_4$ ), являясь индустриальным растворителем, представляет собой ярко выраженный гепатотоксин, вызывающий повреждение печени путем образования свободных радикалов [1, 9, 5]. При СДР имеет место развитие иммобилизационного стресса, активаторами которого являются те токсические пептиды, которые образуются в ишемизированной мышце [8]. К одной из основных функций печени относится детоксицирующая функция. Реакции детоксикации осуществляются с помощью ферментов, связанных с эндоплазматической сетью и митохондриями (Мх), поскольку последние являются той базой, где аккумулируются вводимые в организм препараты [6].

Целью данного исследования было изучение ультраструктурных изменений Мх печени крыс при токсическом и травматическом стрессах.

### Материал и методы

В эксперименте использовалось 10 особей белых крыс линии "Wistar" массой 160-200 г. Животные были разделены на две группы: I – токсический стресс, II – травматический стресс. Модель токсического стресса вызывалась интраперитонеальным введением 0,3 мл  $\text{CCl}_4$  два раза в неделю в течение двух недель, модель травматического

стресса – сдавливанием мягких тканей с силой раздавливания 100кг/кг массы животного в течение 2 ч. По окончании эксперимента животные были декапитированы под легким эфирным наркозом. Образцы ткани печени, взятые сразу после декапитации, были помещены в холодный параформальдегид-глутаральдегидный фиксатор, после чего – в четырехокись осмия ( $OsO_4$ ). Дальнейшая обработка материала была осуществлена по традиционной методике, принятой в трансмиссионной электронной микроскопии: обезвоживание в восходящем ряду спиртов и ацетона, с последующим заключением в эпоксидные смолы. Резка препарата осуществлялась на ультратоме “Райхерт”. Полученные ультратонкие срезы были контрастированы уранил ацетатом и цитратом свинца, после чего были просмотрены под электронным микроскопом фирмы “TESLA”.

## Результаты и обсуждение

Наше исследование показало, что в опытных группах картина наблюдений резко различалась. В I группе с экспериментально вызванным токсическим повреждением печени (интраперитонеальная инъекция гепатотоксина  $CCl_4$ ) ультраструктура энергопродуцирующих структур имела следующий характер: последние либо встречаются в сгруппированном состоянии, что, вероятно, может быть объяснено повышенной потребностью в энергии; либо образуют гигантские Мх, скорее всего путем слияния и набухания более маленьких по размеру органелл [2,7,10]; либо формируют бесформенные массы, лишенные структурной целостности (рис.1).

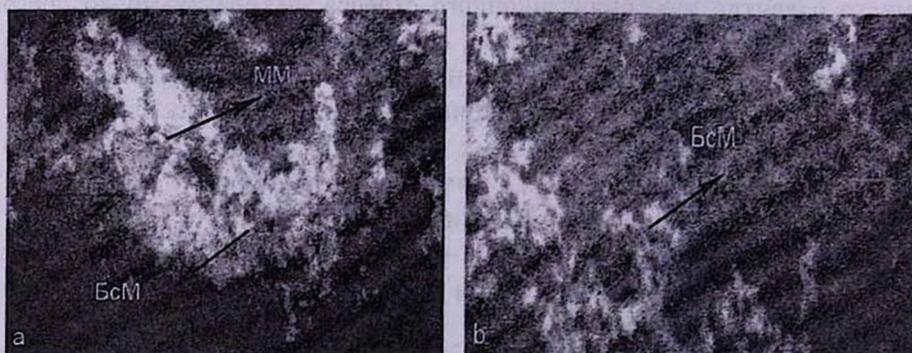


Рис.1. Процесс формирования гигантских Мх (а) и бесформенных масс (б).  
X 10000

Мх, образующие подобные структуры, оказываются в функционально неактивном состоянии, выпадая тем самым из энергопродуцирующей системы клеток. Можно предположить, что данный процесс несет необратимый характер. Конфигурация крист в Мх представлена либо в форме трубочек, либо по типу пчелиных сот. Сохранность

точной морфологии Мх является необходимым условием для нормального функционирования клеток [3]. Во II группе с экспериментально вызванным травматическим повреждением мягких тканей картина ультраструктурных изменений в печени резко отличается от таковой при прямом токсическом воздействии  $\text{CCl}_4$ . В данной группе рассматриваются два возможных варианта действия травматического стресса. В первом случае, при 2ч раздавливании, все ультраструктурные изменения в печени вызваны, по всей вероятности, высоким уровнем катехоламинов, выброшенных в кровоток в ответ на болевой шок, тогда как во втором случае, помимо вышеизложенного, на печень оказывают непосредственное воздействие токсические пептиды, образовавшиеся в ишемизированной мышце в период компрессии и выброшенные в ток крови в период декомпрессии. Ультраструктура Мх при 2ч компрессии сильно отличается от таковой при 4ч декомпрессии. При 2ч компрессии Мх имеет напряженный характер, представлены группами, иногда цепочками, в которых органеллы плотно контактируют друг с другом. Изредка встречаются набухшие органеллы. Конфигурация крист варьирует. Последние представлены либо в форме трубочек, либо по типу везикул. Вариации в архитектуре крист отражают различные метаболические состояния органелл [4].

При 4ч декомпрессии наблюдается ярко выраженный полиморфизм Мх. Органеллы представлены группами. Наблюдается выраженное набухание матрикса всей популяции органелл. Имеет место тенденция к образованию гигантских Мх (рис.2).



Рис.2. Выраженное набухание матрикса Мх, тенденция к формированию гигантских Мх. X 30000

Отличительной характеристикой Мх в данном случае является почти полная редукция крист, что, скорее всего, связано с последовательным воздействием катехоламинов и токсинов, образованных в ишемизированной мышце. Вероятнее всего, органеллы не успевают адаптироваться к столь резким переменам. Подобные органеллы не могут функционировать, тем самым выпадая из энергопродуцирующей функции клеток, ведя к нарушению всех энергозависимых процессов протекающих в них.

Как показало наше исследование, под действием гепатотоксина  $CCL_4$ , Мх претерпевают ряд ярко выраженных ультраструктурных изменений, что сильно сказывается на падении их функциональной активности, однако процент выживаемости сильно отличается от такового при модели с травматическим стрессом, что может быть объяснено возможной адаптацией органелл к изменившимся условиям (путем ремоделирования крист). Токсины, выброшенные в кровь в период декомпрессии, вызывают структурные изменения органелл более глубокого и, скорее всего, необратимого характера (почти полная редукция крист), что исключает всякую возможность адаптации последних к изменившимся условиям, и тем самым может явиться в дальнейшем непосредственной причиной высокой летальности.

*Поступила 11.12.08*

### **Սպիտակ առնետների լյարդի միտոքոնդրիումների ուլտրակառուցվածքը տարբեր էթիոլոգիայի սրբեսերի ազդեցության ժամանակ**

**Գ.Ռ. Կարապետյան**

Աշխատանքում հետազոտվել է սպիտակ առնետների լյարդի միտոքոնդրիումների (Մք) ուլտրակառուցվածքը տրավմատիկ (երկարատև ճգնման համախտանիշ, ԵՃՀ) և տոքսիկ (CCL4 ներարկում) սրբեսերի ազդեցության ժամանակ: Փորձի ավարտից անմիջապես հետո վերցվել են լյարդի նմուշներ էլեկտրոնային մանրադիտակային հետազոտության նպատակով: ԵՃՀ (2ժ) ընթացքում խորը արտահայտված դեստրուկտիվ փոփոխություններ չեն նկատվում, Մք-ները կրում են լարված բնույթ, քրիսթները խողովակաձև են կամ վեզիկուլացված: ԵՃՀ-ի 4ժ հետհամախտանիշի ժամանակ Մք-ները կրում են խորը արտահայտված դեստրուկտիվ փոփոխություններ՝ խիստ այտուցված են, նկատվում է մեգամիտոքոնդրիումների ձևավորման միտում:

Առանձնահատուկ է քրիստների գրեթե ամբողջական ռեդուկցիան: CCL4 ներարկված խմբում նկատվում են Մք-ների հետևյալ կառուցվածքային վերափոխումները. վերջիններս հանդիպում են խմբերով, հսկա

Մք-ների տեսքով, կամ ձևավորում են տձև կույտեր: Քրիսթները խողովակաձև են կամ վեզիկուլացված:

Այսպիսով, լյարդի էներգետիկ ապարատին առավել մեծ վնաս է հասցնում ԵՃՀ-ի 4ժ հետհամախտանիշը, որի ժամանակ տեղի է ունենում քրիսթների ռեդուկցիա, ինչը կրում է անդարձելի բնույթ, ի տարբերություն CCL<sub>4</sub> ազդեցության, որի ժամանակ քրիսթների անդարձելի փոփոխություններ տեղի չեն ունենում, ինչը և հիմք է հանդիսանում օրգանիզմի արապատացիային՝ փոփոխվող պայմանների նկատմամբ:

### White rats liver mitochondria ultrastructure at stress conditions of various etiology

G.R. Karapetyan

In the study there was investigated mitochondria (Mch) ultrastructure under influence of traumatic (Crush syndrome - CS) and toxic (influence of CCL<sub>4</sub>) stresses. Immediately after the experiment, liver pieces were taken for further electron microscopic study. At 2h of CS destructive changes of organelles were not shown. Mch were strain, with cristae, presented in tubules or of a vesicle type. At 4h of decompression strong destructive changes of Mch were presented, which were swollen, with tendency to form giant Mch. There were no cristae in Mch. In the group with CCL<sub>4</sub> injection Mch were presented as a group, giant Mch, or forming shapeless masses. Cristae were presented in tubules or of a vesicle type.

Our investigation has demonstrated, that liver Mch mostly are damaged at 4h of decompression, during which there takes place a process of cristae reduction, which could be irreversible, as distinct from CCL<sub>4</sub>, during which it depends on Mch ultrastructure deep changes; a process of cristae reduction is absent, that can be a basis for organelles adaptation to changes.

### Литература

1. Abraham P., Wilfred G. Cathrine. Oxidative damage to the lipids and proteins of the lungs, testis and kidney of rats during carbon tetrachloride intoxication. Clin. Chim. Acta., 1999; 289:177-179.
2. Bakeeva L.E., Manteifel' V.M., Rodichev E.B., Karu T.I. Formation of gigantic mitochondria in human blood lymphocytes under the effect of an He-Ne laser. Mol. Biol. (Mosk), 1993 May-Jun; 27(3): 608-17.
3. Chen H., Chan D.C. Hum. Mol. Genet., 2005;14: R283-R289.(PubMed)
4. George B. John, Yonglei Shang, Li Li, Christian Renken, Carmen A. Mannella, Jeanne M.L. Selker, Linda Rangell, Michael J. Bennett, AND Jiping Zha. The Mitochondrial Inner Membrane Protein Mitofilin Controls Cristae Morphology. Mol. Biol. Cell., 2005 March; 16(3): 1543-1554.
5. Guven A., Guven A., Gulmez M. The effect of kefir on the activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH and LPO levels in carbon tetrachloride-induced mice tissue. J. Vet. Med. B. Infect. Dis.

Vet. Public Health, 2003; 50: 412-416.

6. *Fellous R., Coulaud D., el Abed I., Roques B.P., Le Pecq J.B., Delain E., Gouvette A.* Cytoplasmic accumulation of ditercalinium in rat hepatocytes and induction of mitochondrial damage. *Cancer Res.*, 1988 Nov 15; 48(22): 6542-9.
7. *Knabe W., Kuhn H.J.* Morphogenesis of megamitochondria in the retinal cone inner segments of *Tupaia belangeri* (Scandentia). *Cell Tissue Res.*, 1996 Jul; 285(1):1-9.
8. *Rawlins M., Gullichsen E., Kuttala K., Peltala O., Niinikoski J.* Central hemodynamic changes in experimental muscle crush injury in pigs. *Europ. Surg. Res.*, 1999, 31, 5, p. 9-18.
9. *Szymonik-Lesiuk S., Czechowska G., Stryjecka-Zimmer M., Slomka M., MAdro A., Celinski K., Wielosz M.* Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.*, 2003; 10: 309-315.
10. *Wakabayashi T., Horiuchi M., Sakaguchi M., Misawa K., Onda H., Iijima M., Allmann D.W.* Mechanism of hepatic megamitochondria formation by ammonia derivatives. Correlation between structure of chemicals and their ability to induce the formation of megamitochondria. *Eur J. Biochem.*, 1984 Sep 3: 143(2): 455-65.