



С. В. Сушков, В. П. Невзоров,  
О. Ф. Невзорова, И. А. Тарабан

ГУ «Институт общей  
и неотложной хирургии  
АМН Украины», г. Харьков

© Коллектив авторов

## ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ МИТОХОНДРИЙ МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ КРЫС В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАННОЙ ГИПОВОЛЕМИИ

**Резюме.** Исследование ультраструктуры кардиомиоцитов миокарда и миосимпластов скелетных мышц крыс в условиях экспериментальной гиповолемии выявило дистрофические и деструктивные нарушения их органелл. Наиболее чувствительными к гипоксии оказались митохондрии, набухание которых с увеличением их размеров и просветлением матрикса является признаком развития митохондриальной дисфункции. Длительная гиповолемия влечет за собой истощение компенсаторных резервов и переход внутриклеточных структур, в частности митохондрий, в фазу деструкции. Уменьшение количества митохондрий и крист, а также их деструкция свидетельствуют о снижении биоэнергетического обеспечения сократительной способности. Развитие митохондриальной недостаточности влечет за собой активацию анаэробного гликолиза, который не может длительно компенсировать нарушение активности окислительно-восстановительных реакций.

**Ключевые слова:** ультраструктура, кардиомиоциты, миосимпласты, гиповолемия, гипоксия.

### Вступление

Актуальность проблемы гипоксических повреждений органов и тканей вызвана интенсивным развитием новых хирургических методов лечения. В результате расширяющихся показаний хирургической коррекции, как правило, возникает необходимость временного прекращения кровообращения в оперируемых органах. Особенно часто этот прием применяется в трансплантологии, обязательным этапом которого является тотальная ишемизация трансплантируемого органа.

В результате плохого кровоснабжения нарушается нормальное функционирование поврежденного органа в связи с нарушением доставки в ткань кислорода, субстратов окислительно-фосфорилирования и выведения метаболитов. Эти факторы приводят к повреждению тканей органов [4]. По нашим наблюдениям, первичным и основным фактором повреждения тканей является гипоксия, при которой происходят нарушения нормального функционирования различных органов и систем организма [4, 7], а факторы нарушения метаболизма на субклеточном уровне являются ее следствием [8, 9].

Как уже подчеркивалось, основные патологические процессы развиваются именно на внутриклеточном уровне. Нами выбран метод электронно-микроскопического исследования, который позволяет визуализировать нарушения метаболической активности мембран и органелл, а также выявить глубину и степень выраженности начальных фаз развития дистрофического и деструктивного процессов. Этот метод исследования дает возможность изучить изменения отдельных клеточных органелл и включений на ранних стадиях развития патологических процессов и обнаружить

ультраструктурные изменения в клетках, которые еще не удается уловить светооптическими методами.

Не оставляет сомнений тот факт, что все гипоксические повреждения начинаются на уровне мембранных и макромолекулярных внутриклеточных комплексов. Эти нарушения появляются в доклинической фазе. Начавшись, они очень быстро проявляются на тканевом и органном уровнях [1, 6, 10].

Как правило, при развитии гиповолемического шока наступают расстройства кровообращения, в основе патогенеза которых лежат нарушения центральной регуляции сосудистого тонуса и сердечной деятельности. Развивается сердечная недостаточность, уменьшается периферическое сопротивление, появляется патологическое депонирование крови, наступает расстройство микроциркуляции [2, 3, 5]. Возникающие при этом ультраструктурные изменения в большинстве случаев связаны с острой гипоксией и эндогенной интоксикацией [11]. Некоторые авторы в патогенезе массивной кровопотери придают первостепенное значение развитию сердечной недостаточности.

Исходя из изложенного, целью предпринятого нами исследования является детальное изучение ультраструктурных перестроек митохондрий кардиомиоцитов и скелетных мышц под воздействием гиповолемии.

Гипоксия в основном сказывается на энергообеспечении метаболических внутриклеточных реакций в митохондриях, что определило цель нашего исследования: выявить комплекс ультраструктурных перестроек митохондрий кардиомиоцитов и миосимпластов скелетных мышц в условиях гиповолемического шока.

**Матеріал і методи**

В експерименті були використані 18 самців крыс лінії Вистар масою від 190 до 220 г. Після фіксації крыс під внутривенним наркозом виділявся судинисто-нервний пучок з послующою канюлюючою бедренної артерії поліетиленовим катетером, вільний кінець якого піднімався вгору на 40 см і з'єднувався со шприцом, що дозволяло утримувати артеріальне тиск в межах 30 мм рт.ст. Кількість втраченої крові в середньому становила 2,5% маси тіла. Через 90 хвилин гіповолемії крыс умиряли і виробляли збір шматочків міокарда і скелетних м'язів для електронно-мікроскопічного дослідження.

Після попередньої фіксації в 2,5%-ному буферному розчині глютарового альдегіду тканину промивали в буферному розчині і поміщали в 1%-ний буферний розчин тетраоксиду осмія на 2—3 години для остаточної фіксації. Далі шматочки тканини обезживали в спиртах зростаючої концентрації і ацетоні. Пропитку і заливку проводили в сумі епоксидних смол (аралдит-епон) по загальноприйнятій

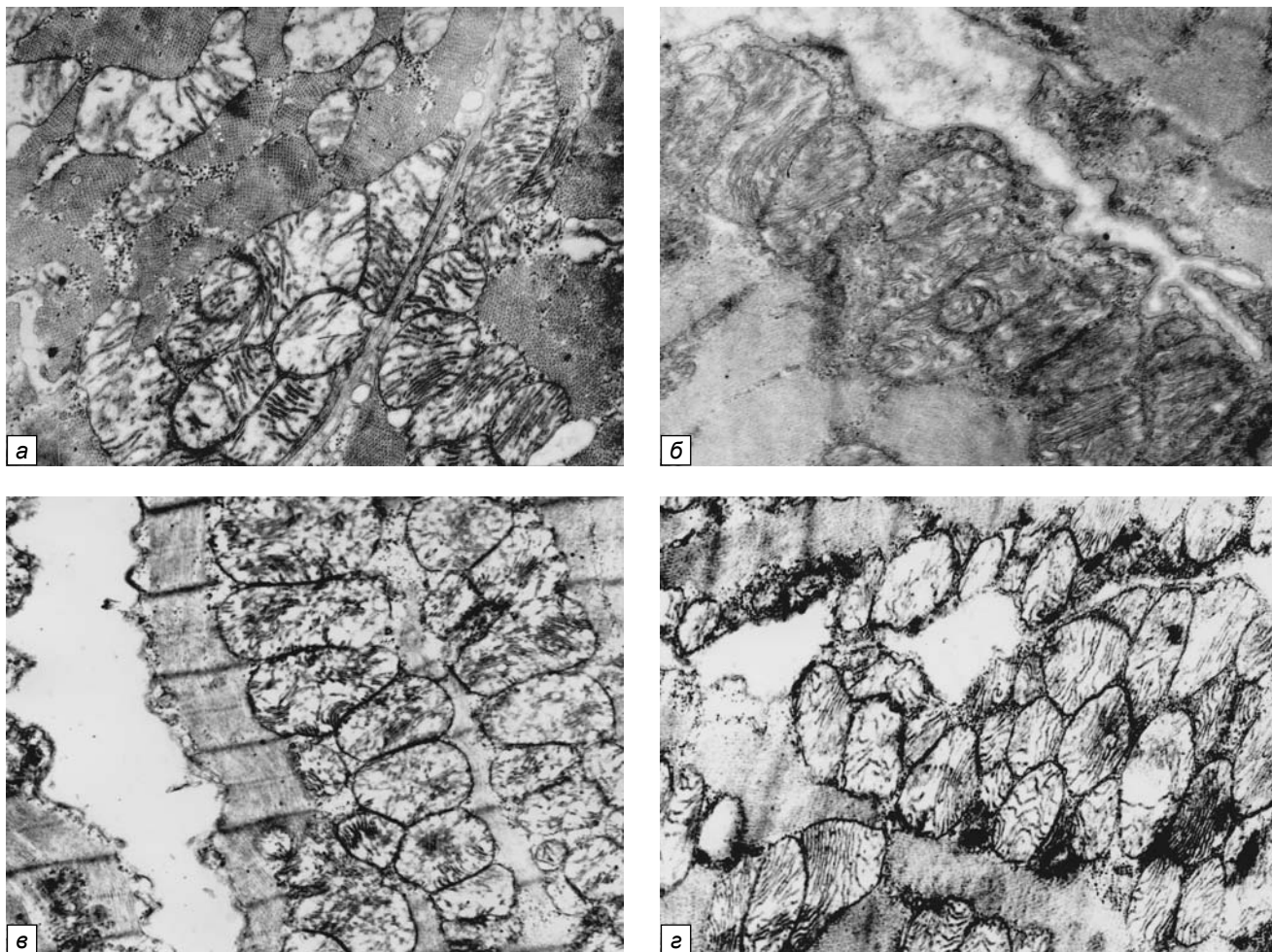
методикам. Полімеризацію блоків здійснювали в термостаті при температурі 60 °С в течение двох суток. Контролем якості гистологічної обробки ткани слугували біоптати міокарда і скелетних м'язів, взяті у інтактних тварин.

Ультратонкі срези готували на ультрамикротомі УМТП-3, які після контрастування цитратом свинцю досліджували під електронним мікроскопом ЕМВ-100 БР при прискорюючій напругі 75 кВ.

**Результати дослідження і їх обговорення**

Дослідження ультраструктурної організації кардіомиоцитів і міосімплів інтактних крыс показало задовільну збереженість тканин. В цій групі препаратів субмікроскопічна організація клітин міокарда і органелл міосімплів відповідає сучасним уявленням. Пошкоджень ультраструктурних компонентів не виявлено.

В умовах гіповолемії в саркоплазмі кардіомиоцитів спостерігається майже повне зникнення гранул глікогена. Дистрофічні і де-



**Рис. 1.** Ультраструктура кардіомиоцитів міокарда крыс з моделюваною гіповолемією: *а* — очагове просвітлення матрикса мітохондрій, деструкція зовнішніх мембран і крист.  $\times 32\,000$ ; *б* — електронно-прозорчі області в матриксі мітохондрій, дезорганізація крист.  $\times 35\,000$ ; *в* — дегенеративні зміни крист мітохондрій.  $\times 34\,000$ ; *г* — ліпідні краплі, контактуючі з зовнішньою мембраною мітохондрій.  $\times 30\,000$



структурные изменения обнаруживались и в ультраструктурной организации митохондрий, ядер, системы саркоплазматического ретикулума и элементов Т-системы.

Изменения митохондрий кардиомиоцитов носили полиморфный характер, они сильно набухали, увеличивался их объем. Матрикс их становился электронно-прозрачным, кристы укорочены и дезорганизованы (рис. 1 а). Набухание могло захватывать всю органеллу или ее часть, при этом в матриксе образовывались электронно-прозрачные вакуоли, как в центре, так и на периферии митохондрии (рис. 1 б). Резкое набухание митохондрий зачастую сопровождалось очаговым разрушением их наружных мембран и крист. Отдельные митохондрии содержали полностью лизированные кристы и имели вид вакуолей, заполненных бесструктурной грубокомковатой субстанцией. Нередко наблюдались дегенеративно измененные формы митохондрий с формированием в матриксе миелоноподобных структур (рис. 1 в).

Значительно чаще, чем у интактных животных в кардиомиоцитах обнаруживались липидные включения, располагающиеся преимущественно в тесном контакте с деструктивно измененными митохондриями (рис. 1 г).

Пучки миофибрилл в кардиомиоцитах существенно истончаются, но их поперечная исчерченность сохраняется. Наблюдается отек саркоплазмы, о чем свидетельствует ее просветление. Часто встречается расхождение и разобщение пучков миофибрилл.

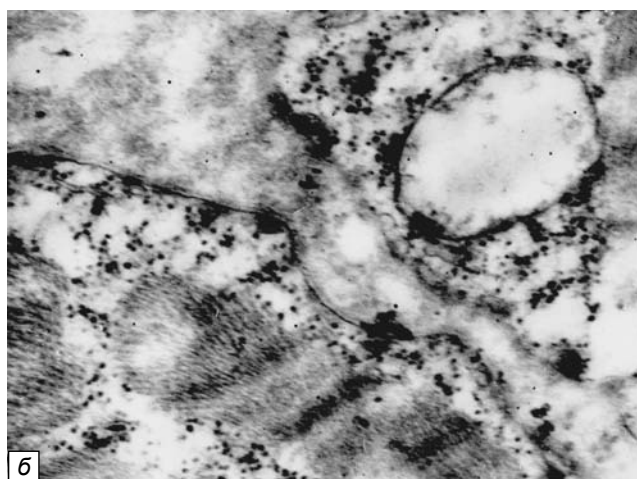
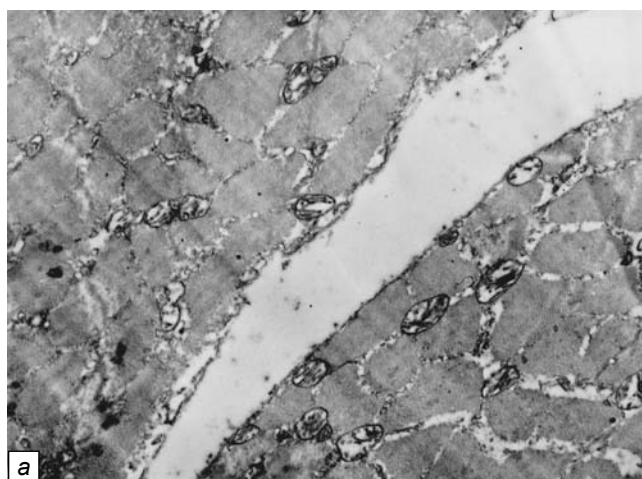
Ядерная мембрана кардиомиоцитов образовывала зачастую довольно глубокие инвагинации. Ядерный хроматин находился преимущественно в деконденсированном состоянии. Следует отметить, что в некоторых ядрах начинается процесс конденсации хроматина. Его гранулы, собранные

в глыбки, локализуются вдоль ядерной мембраны. Перинуклеарные пространства местами расширены. Деструкций ядерной мембраны не выявлено.

Аналогичные изменения наблюдались в миосимпластах скелетных мышц у крыс с моделированной гиповолемией. В этой группе препаратов при электронно-микроскопическом исследовании выявлены изменения ультраструктурных компонентов миосимпластов как дистрофического, так и деструктивного характера. Часть миосимпластов обладала лишь дистрофическими изменениями с элементами локальной деструкции мембран. Матрикс ядра имел низкую электронную плотность. Перинуклеарные пространства имели множественные локальные расширения. В перинуклеарной зоне наблюдается резкое уменьшение органелл, рибосом и гранул гликогена. Саркоплазма теряла электронную плотность и становилась электронно-прозрачной (рис. 2 а).

Митохондрии имели различную форму и электронно-прозрачный матрикс. Наружная мембрана митохондрий сохраняла структуру элементарной мембраны. В промежутках между пучками миофибрилл довольно часто обнаруживались сильно набухшие митохондрии с электронно-прозрачным матриксом. Кристы в них практически отсутствовали. Они имели вид вакуолей, заполненных нежно-волокнутой субстанцией. Наружная мембрана митохондрий очагово лизирована (рис. 2 б).

Эти изменения митохондрий свидетельствуют, прежде всего, о развитии митохондриальной дисфункции и активности биоэнергетических внутриклеточных процессов, что структурно выражается в резком уменьшении количества крист митохондрий и снижении электронной плотности их матрикса. Следствием этих нарушений является снижение сократительных возможностей миосимпласта. Надо отметить, что выявленные



**Рис. 2.** Ультраструктура миосимпластов скелетных мышц крыс с моделированной гиповолемией: *а* — просветление матрикса митохондрий, очаговый лизис наружных мембран и крист митохондрий.  $\times 27\ 000$ ; *б* — тотальный лизис крист митохондрий.  $\times 39\ 000$

изменения миосимпластов находятся в пределах физиологической компенсации и являются обратимыми после восстановления нормального кровотока.

### Заключение

Проведенное электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры кардиомиоцитов миокарда и миосимпластов скелетных мышц крыс в условиях экспериментальной гиповолемии выявило дистрофические нарушения внутриклеточных органелл и мембран, степень выраженности которых граничила с деструктивной фазой.

Гиповолемия и вызванная ею гипоксия довольно быстро приводят к изменениям ультраструктурной организации всех внутриклеточных органелл. Наиболее чувствительными к ней оказались митохондрии, набухание которых с увеличением их размеров и просветлением матрикса, становится проявлением компенсаторно-адаптационных реакций и развития митохондриальной дисфункции. Длительная гиповолемия влечет за собой истощение компенсаторных резервов и переход внутриклеточных структур, в частности митохондрий, в фазу деструкции, что подтверждается появлением очагового лизиса как их наружных мембран, так и крист. Уменьшение количества крист в митохондриях свидетельствует о снижении биоэнергетического обеспечения сократительной способности кардиомиоцитов. Второй не менее важный фактор, касающийся подтверждения нарушений внутриклеточной биоэнергетики, — это резкое уменьшение гранул гликогена в саркоплазме.

Параллельно с нарушениями внутриклеточной биоэнергетики возникают деструкции саркоплазматической сети и элементов Т-системы, что, с одной стороны, в сочетании с очаговым лизисом ядерных мембран не обеспечивает адекватных процессов внутриклеточных репарации, с другой — учитывая роль этих органелл в проведении нервных импульсов к саркомерам, ведет к нарушению ритма сокращения и расслабления миофибрилл.

Следует отметить, что далеко не все кардиомиоциты миокарда и миосимпластов скелетной мускулатуры повреждаются одинаково. Очень часто можно было наблюдать на одном срезе два расположенных рядом кардиомиоцита или миосимпласта, ультраструктура одного имела слабо выраженные дистрофические нарушения, лежащие в физиологических пределах, а ультраструктура соседнего с ним находилась на стадии деструкции. Такое положение, вероятно, можно объяснить биохимической разнородностью кардиомиоцитов и миосимпластов, их различной функциональной активностью.

Нарушение структуры митохондрий приводит к недостаточному уровню активности окислительно-восстановительных реакций, вызывает усиление анаэробного гликолиза, в результате которого наблюдается резкое сокращение числа гранул гликогена в саркоплазме.

Отметим, что процесс анаэробного гликолиза не может длительное время компенсировать нарушение энергообеспечения сократительной способности мышечных тканей и к концу эксперимента в их ультраструктурной организации появляются признаки развития деструктивных процессов в виде очаговой деструкции мембран митохондрий и их крист, а также расщепления и истончения миофибрилл.

### Выводы

1. Длительная гиповолемия приводит к развитию митохондриальной дисфункции и снижает уровень биоэнергетического обеспечения сократительной способности миокарда.
2. Развитие митохондриальной недостаточности влечет за собой активацию анаэробного гликолиза, что структурно проявляется в резком сокращении числа гранул гликогена в саркоплазме кардиомиоцитов.
3. Анаэробный гликолиз не может длительно компенсировать нарушение активности окислительно-восстановительных реакций, и к концу эксперимента обнаруживаются деструкции наружных мембран митохондрий и крист.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *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.
2. *Бабийчук В.Г.* Ультраструктурные изменения миокарда старых крыс после криовоздействия / В.Г. Бабийчук, В.П. Невзоров // Харківська хірургічна школа. — 2005. — №2(16). — С. 67—70.
3. *Берштейн С.А.* Дефицит кислорода и сосудистый тонус / С.А. Берштейн, М.И. Гуревич, А.Н. Соловьев. — Киев: Наукова Думка, 1984. — 263 с.
4. *Биленко И.В.* Ишемические и реперфузионные повреждения органов / И.В. Биленко. — М.: Медицина, 1989. — 368 с.
5. *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.
6. *Владимиров Ю.Ф.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.Ф. Владимиров, Р.М. Арчаков. — М.: Наука, 1972. — 252 с.



7. Лопухин Ю.М. Критерии жизнеспособности органов и тканей перед трансплантацией / Ю.М. Лопухин, В.М. Коган. — М.: Медицина, 1975. — 282 с.

8. Лукьянова Л.Д. Кислородозависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние / Л.Д. Лукьянова, Б.С. Балмуханов, А.Т. Уголев. — М.: Наука, 1982. — 301 с.

9. Невзорова О.Ф. Состояние ультраструктурной организации печени экспериментальных животных в условиях геморрагического шока / О.Ф. Невзорова, В.П. Невзоров // Республ. межведом. сб.: «Общая и не-

отложная хирургия». — К.: Здоровье. — 1991, №21. — С. 90—95.

10. Невзоров В.П. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов сердца собак после лазерной реваскуляризации ишемизированного миокарда / В.П. Невзоров, А.Я. Кононов, О.Ф. Невзорова // Тез. докл. XIV Всесоюзной конференции по электронной микроскопии. — Звенигород, 1992. — С. 92.

11. Perket E.A. Morphology of the lung in late septic shock / E.A. Perket, B. Meyrick // Shock, Sepsis and Organ Failure, Tringer, 1993, P. 689.

### ЗМІНИ УЛЬТРАСТРУКТУРИ МІТОХОНДРІЙ М'ЯЗОВИХ ТКАНИН ЩУРІВ В УМОВАХ МОДЕЛЬОВАНОЇ ГІПОВОЛЕМІЇ

*С. В. Сушков, В. П. Невзоров,  
О. Ф. Невзорова, І. А. Тарабан*

**Резюме.** Дослідження ультраструктури кардіоміоцитів міокарда й міосимпластів кістякових м'язів щурів в умовах експериментальної гіповолемії виявило дистрофічні і деструктивні порушення їх органел. Найбільш чутливими до гіпоксії виявилися мітохондрії, набрякання яких зі збільшенням їхніх розмірів і просвітлінням матрикса є ознакою розвитку мітохондріальної дисфункції. Тривала гіповолемія спричиняє виснаження компенсаторних резервів і перехід внутрішньоклітинних структур, зокрема мітохондрій, у фазу деструкції. Зменшення кількості мітохондрій і крист, а також їхня деструкція свідчать про зниження біоенергетичного забезпечення скорочувальної здатності. Розвиток мітохондріальної недостатності спричиняє активацію анаеробного гліколізу, який не може довгостроково компенсувати порушення активності окислювально-відновних реакцій.

**Ключові слова:** ультраструктура, кардіоміоцити, міосимпласти, гіповолемія, гіпоксія.

### CHANGES OF THE ULTRASTRUCTURE OF MITOCHONDRIONS OF MUSCULAR TISSUES OF RATS IN THE CONDITIONS OF MODELIZED HYPOVOLEMIA

*S. V. Sushkov, V. P. Nevzorov,  
O. F. Nevzorova, I. A. Taraban*

**Summary.** Research of a ultrastructure of cardiomyocytes of a myocardium and myosimplasts of skeletal muscles of rats in the conditions of an experimental hypovolemia has revealed dystrophic and destructive disturbances of their organelles. The most sensitive to a hypoxia were mitochondrions which swelling with augmentation of their sizes and matrix enlightenment is sign of development of mitochondrial dysfunctions. The long hypovolemia involves attrition of compensatory reserves and transition of intracellular structures, in particular, mitochondrions in a destruction phase. Reduction of quantity of mitochondrions and cristas, and also their destruction testify to depression of biopower maintenance of retractive abilities. Development of mitochondrial insufficiency involves activation of an anaerobic glycolysis which can't long compensate disturbance of activity of oxidation-reduction reactions.

**Key words:** ultrastructure, cardiomyocytes, myosimplasts, hypovolemia, hypoxia.