



Л.В. Бабийчук, В.П. Невзоров,
О.Ф. Невзорова

*Институт проблем
криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков*

*ГУ Институт общей
и неотложной хирургии
НАМН Украины, г. Харьков*

© Коллектив авторов

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КАРДИОМИОЦИТОВ МИОКАРДА СТАРЫХ КРЫС В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ НЕВРОГЕННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Резюме. Изучена динамика развития деструктивных и дистрофических нарушений субмикроскопических перестроек органелл клеток миокарда старых крыс на фоне неврогенной артериальной гипертензии. Установлено, что ведущим звеном дистрофических процессов в кардиомиоцитах является развитие митохондриальной дисфункции, которая нарастает по мере прогрессирования артериальной гипертензии. Выявлена активация катаболических процессов в ультраструктурной организации кардиомиоцитов, что косвенно подтверждается исчезновением в саркоплазме гранул гликогена, рибосом, появлением включений липидов, редукцией пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи.

Ключевые слова: *ультраструктура миокарда, митохондриальная дисфункция, гипертония, кардиомиоциты.*

Введение

Проблема гипертонической болезни является одной из актуальных среди сердечно-сосудистых патологий человека. Высокая распространенность, многообразие и тяжесть осложнений, приводящих к ранней инвалидизации значительной части трудоспособного населения, его преждевременной смертности определяют медико-социальную значимость этого заболевания.

Многочисленные исследования, проведенные на организме человека, позволили сформировать ряд теорий по вопросам этиологии и патогенеза гипертонической болезни [3]. Среди них в последние годы особый интерес привлекает клеточная концепция [2], которая оказалась способной дать объяснения многим противоречиям различных точек зрения на патогенез гипертонической болезни. Ее появлению и развитию в значительной степени способствовало создание модели гипертонической болезни на экспериментальных животных - крысах со спонтанной неврогенной гипертензией. Как показали многолетние исследования, эта модель наиболее адекватно отражает гипертоническую болезнь у человека и по настоящее время широко используется в биохимических, молекулярно-генетических, физиологических и других исследованиях этого заболевания [1, 4, 6].

Цель исследований

Изучить динамику изменений в ультраструктурной организации кардиомиоцитов миокарда старых крыс в процессе развития и прогрессирования неврогенной артериальной гипертензии.

Материалы и методы исследования

Исследования проводили на белых старых крысах-самцах линии Вистар (возраст 28-30 месяцев). Все животные были разделены на две группы: первая группа – контрольные (интактные) крысы; вторая группа – животные, которым моделировалась неврогенная артериальная гипертензия.

Эксперименты на животных проведены в соответствии с Общими принципами работы на животных, одобренными 1 Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, Украина, 2001) и согласованными с положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, Франция, 1985).

Моделирование неврогенной стресс – индуцированной артериальной гипертензии проводилось по методу [5], до получения стойких повышенных цифр АД, путем комплексного, периодического воздействия на организм животных различными видами раздражителей: светового, звукового, электрического.

После получения стойкой артериальной гипертензии, животных декапитировали на 3, 7 и 30 сутки и производили забор кусочков ткани миокарда для электронно-микроскопического исследования. Предварительную фиксацию проводили в глутарово-формальдегидном фиксаторе при температуре 4°C в течении 5-6 часов. Затем кусочки миокарда переносили в 1 % забуференный раствор четырехоксида осмия на 3-4 часа при температуре 4°C для окончательной фиксации. В дальнейшем ткань обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне, пропитывали в смеси эпоксидных смол (эпон-аралдит) и за-



ключали в блоки по стандартным методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при 60°C в течении двух суток.

Из полученных блоков, на ультрамикротоме УМТП – 3М, изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и, после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100 БР при ускоряющем напряжении 75 кв. Контролем качества гистологической обработки служили кусочки миокарда интактных крыс.

Результаты исследования и их обсуждение

Электронно-микроскопическое исследование кардиомиоцитов интактных животных показало адекватность применяемых методик гистологической обработки материала, так как ультраструктурная организация миокарда соответствовала современным представлениям. Изменения в ультраструктурной организации этих клеток находились в пределах возрастных особенностей. Разрушений мембранных структур кардиомиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров не наблюдалось.

На 3 сутки после развития стойкой артериальной гипертензии, ядра кардиомиоцитов миокарда имели вытянутую форму и типичное расположение в саркоплазме (рис. 1). Ядерный хроматин, находившийся в конденсированной форме, в виде глыбок, концентрировался не только вдоль ядерной мембраны, но и обнаруживался в других отделах матрикса ядра. Гранулы деконденсированного хроматина локализовались в центре матрикса ядра. Ядерная мембрана была существенно разрушена и утолщена, встречались очаги лизиса. Кариоплазма значительно просветлена, а перинуклеарные пространства умеренно и неравномерно расширились.

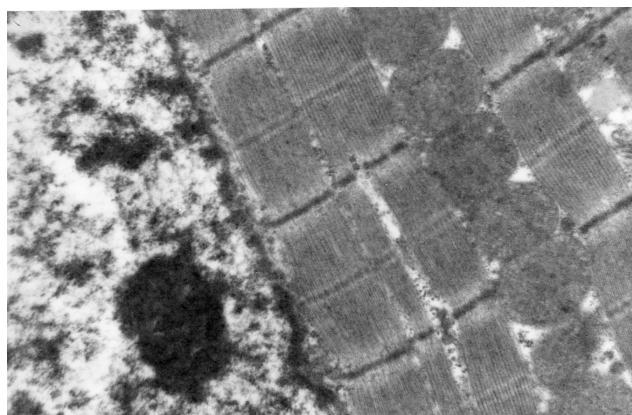


Рис. 1. Ультраструктура кардиомиоцитов старых крыс на 3 сутки после моделирования артериальной гипертензии. Конденсация ядерного хроматина, гомогенизация и очаговый лизис митохондрий. $\times 26000$. Контрастировано цитратом свинца.

Миофибриллы располагались параллельными рядами, имели типичное строение и четкую поперечную исчерченность. Между пучками миофибрилл располагались сферической формы митохондрии. Матрикс митохондрий приобретал повышенную электронную плотность и гомогенную структуру. Наружные мембраны и кристы разрыхлялись и имели очаги лизиса.

Саркоплазма обладала низкой электронной плотностью. В отличие от контрольных животных, количество рибосом и полисом существенно уменьшалось. Иногда в саркоплазме, обнаруживались мелкие включения липидов.

Эндотелиальные клетки кровеносных капилляров имели электронно-прозрачную цитоплазму. Ядра содержали преимущественно конденсированный хроматин. Ядерная мембрана образовывала глубокие инвагинации и была очагово лизирована. Митохондрии мелкие, с осмиофильным матриксом, многие кристы разрушались. Цитоплазматическая мембрана четко контурирована, без очагов разрушения. В цитоплазме отростков эндотелиоцитов выявлялось большое количество микропиноцитозных пузырьков (рис. 2).

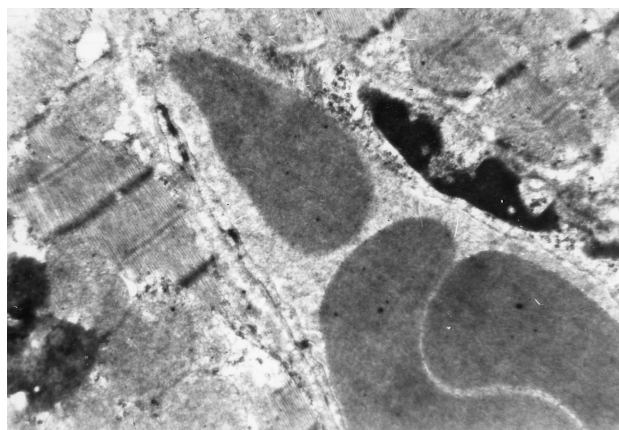


Рис. 2. Ультраструктура эндотелиоцитов кровеносных капилляров старых крыс на 3 сутки после моделирования артериальной гипертензии. Деструкция ядерной мембраны, конденсация хроматина $\times 3800$. Контрастировано цитратом свинца.

На 7 сутки после развития артериальной гипертензии, в ультраструктурной организации кардиомиоцитов наблюдались признаки дальнейшего развития и углубления дистрофического процесса. Ядерный хроматин кардиомиоцитов находился, в основном, в конденсированном состоянии. Его глыбки располагались, как на периферии ядра, так и в центральной области кариоплазмы. Количество деконденсированного хроматина существенно снижалось, по сравнению с интактными животными. Кариоплазма имела низкую электронную плотность. Перинуклеарные пространства местами были расширены и заполнены электронно-прозрачной субстанцией. Появлялись очаги

лизиса ядерной мембраны, она теряла чётко контурированную структуру и становилась разрыхлённой.

В данные сроки экспериментальных исследований митохондрии кардиомиоцитов сильно набухали, увеличивался их объём, а количество крист уменьшалось. Наружные мембраны и кристы митохондрий подвергались очаговому лизису (рис. 3).

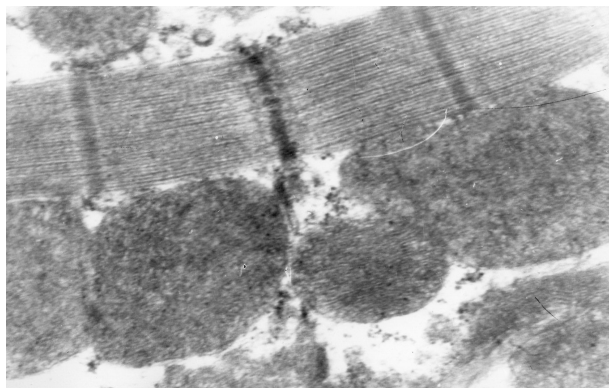


Рис. 3. Ультраструктура кардиомиоцитов старых крыс на 7 сутки после моделирования артериальной гипертензии. Гомогенизация матрикса митохондрий. $\times 34000$. Контрастировано цитратом свинца.

Пучки миофибрилл истончались и теряли параллельную ориентацию. Саркоплазма кардиомиоцитов была электронно-прозрачна, содержала небольшое количество гранул гликогена, рибосом и полисом. Саркоплазматический ретикулум развит слабо, его цистерны, также как и цистерны Т-системы электронно прозрачны и расширены. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи располагался в перинуклеарной области и был подвержен редукции, его гладкие мембраны теряли параллельную ориентацию. В области его локализации обнаруживались крупные электронно прозрачные вакуоли.

На данных этапах наблюдения, в саркоплазме кардиомиоцитов появлялись вторичные лизосомы и включения липидов (рис. 4).

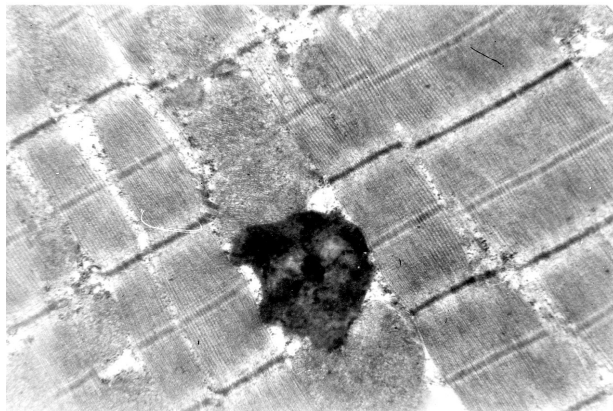


Рис. 4. Ультраструктура кардиомиоцитов старых крыс на 7 сутки после моделирования артериальной гипертензии. Крупное включения липидов в саркоплазме. $\times 35000$. Контрастировано цитратом свинца.

Саркоплазматическая мембрана кардиомиоцитов была разрыхлена и очагово разрушена (рис. 5).

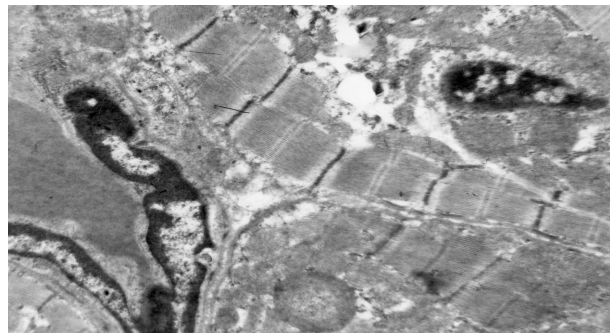


Рис. 5. Ультраструктура кардиомиоцитов старых крыс на 7 сутки после моделирования артериальной гипертензии. Очаговый лизис саркоплазматической мембраны. $\times 33000$. Контрастировано цитратом свинца.

Деструктивным изменениям подвергались и эндотелиоциты кровеносных капилляров миокарда. Ядра эндотелиоцитов заполнялись конденсированным хроматином, глыбки которого локализовались на ядерной мембране (рис. 6). Ядерная мембрана имела многочисленные очаги лизиса. Митохондрии подвергались дегенеративным изменениям. Довольно часто встречались очаги некробиоза цитоплазмы. Цитоплазматическая мембрана была разрыхлена, очагово разрушена. На поверхности цитоплазматической мембраны, обращенной в просвет капилляра, обнаруживались скопления осмиофильной субстанции.



Рис. 6. Ультраструктура эндотелиоцитов кровеносных капилляров старых крыс на 7 сутки после моделирования артериальной гипертензии. Конденсация хроматина, отложение осмиофильной субстанции на цитоплазматической мембране со стороны контакта с кровью. $\times 39000$. Контрастировано цитратом свинца.

На 30 сутки после развития артериальной гипертензии, в ультраструктурной организации кардиомиоцитов появлялись как дистрофически, так и деструктивно изменённые органеллы.

Ядерная мембрана была сильно разрыхлена и содержала крупные очаги лизиса. Перинуклеарные пространства неравномерно расширялись. Ядерный хроматин находился преимущественно в конденсированном состоянии.



Его осмиофильные глыбки располагались, как вблизи ядерной мембраны, так и в других отделах матрикса ядра. Центральная область ядра имела низкую электронную плотность. Саркоплазма кардиомиоцитов была просветлена, обладала низкой электронной плотностью, а также содержала единичные гранулы гликогена и небольшое количество полисом и рибосом.

Наиболее выраженные изменения дистрофического и деструктивного характера наблюдались в митохондриях, которые содержали электронно прозрачный матрикс и единичные разрушенные кристы. Значительное количество митохондрий имели разрушенные наружные мембраны. В отдельных митохондриях обнаруживалась начальная фаза развития дегенеративных изменений (рис. 7).

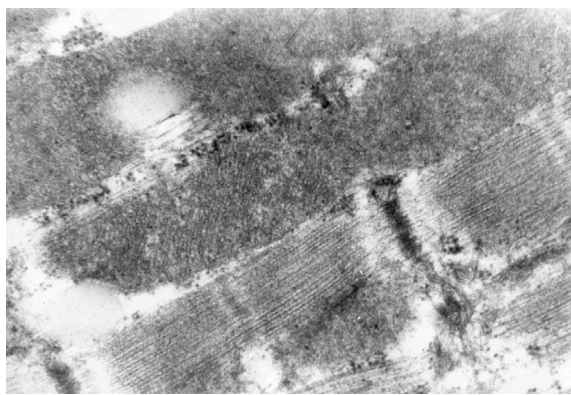


Рис. 7. Ультраструктура кардиомиоцитов старых крыс на 30 сутки после моделирования артериальной гипертензии. Лизис наружных мембран и дегенеративные изменения митохондрий. $\times 39000$. Контрастировано цитратом свинца.

Саркоплазматическая мембрана была сильно утолщена, осмиофильна и содержала очаги разрушения. В саркоплазме кардиомиоцитов наблюдалось истончение пучков миофибрилл (рис. 8).

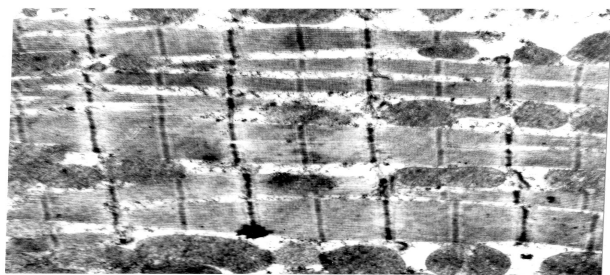


Рис. 8. Ультраструктура кардиомиоцитов старых крыс на 30 сутки после моделирования артериальной гипертензии. Истончение пучков миофибрилл. $\times 35000$. Контрастировано цитратом свинца.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи был редуцирован и представлен отдельными, беспорядочно ориентированными гладкими мембранами и единичными крупными электронно-прозрачными вакуолями. Саркоплазматический ретикулум характеризовался слабым развитием. Его цистер-

ны расширялись. Довольно часто встречались кардиомиоциты с деструктивно измененными мембранами саркоплазматической сети и Т-системы.

Эндотелиоциты кровеносных капилляров миокарда, в эти сроки экспериментальных исследований, претерпевали существенные, ярко выраженные деструктивные изменения (рис. 9).

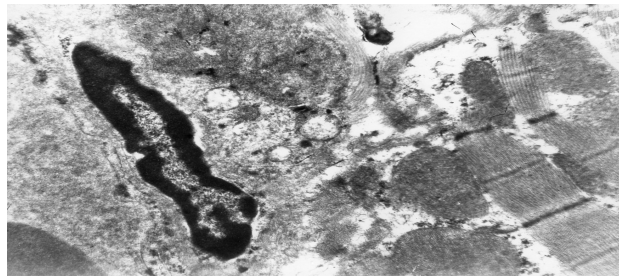


Рис. 9. Ультраструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда крыс на 30 сутки после моделирования артериальной гипертензии. Конденсация хроматина, расширение перинуклеарного пространства, набухание митохондрий. $\times 39000$. Контрастировано цитратом свинца.

Ядра эндотелиоцитов кровеносных капилляров имели вытянутую форму. Ядерная мембрана образовывала большое количество неглубоких инвагинаций. Конденсированный хроматин плотным кольцом концентрировался на ядерной мембране. Перинуклеарные пространства имели участки расширения.

Митохондрии были сильно набухшие, матрикс очень низкой электронной плотности, кристы в них практически полностью разрушались, а наружные мембраны митохондрий осмиофильны, с очагами лизиса. Гранулярный эндоплазматический ретикулум, у значительного количества эндотелиальных клеток, подвергался фрагментации, на его мембранах отсутствовали рибосомы. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи был редуцирован. В отдельных эндотелиоцитах обнаруживались включения липидов.

В просвете кровеносного капилляра располагались эритроциты, которые имели разрыхленную оболочку, а также бесструктурную аморфную субстанцию средней электронной плотности (рис. 10).

Цитоплазматическая мембрана была сильно разрыхлена. В цитоплазме отростков эндотелиальных клеток отсутствовали микропиноцитозные пузырьки (рис. 11).

Проведенные электронно-микроскопические исследования, динамики субмикроскопических перестроек органелл кардиомиоцитов миокарда старых крыс в процессе развития стойкой неврогенной артериальной гипертензии, показали постепенное нарастание деструктивных и дистрофических нарушений, ведущим звеном которых является нарушение типичной архитектоники митохондрий.



Рис. 10. Ультраструктура кровеносного капилляра миокарда старых крыс на 30 сутки после моделирования артериальной гипертензии. Скопление бесструктурной субстанции в просвете капилляра. $\times 38000$. Контрастировано цитратом свинца.

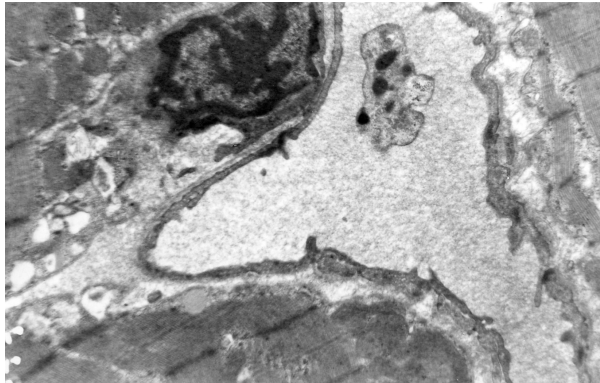


Рис. 11. Ультраструктура кровеносного капилляра миокарда старых крыс на 30 сутки после моделирования артериальной гипертензии. Отсутствие микропиноцитозных пузырьков в цитоплазме отростков эндотелиоцитов. $\times 40000$. Контрастировано цитратом свинца.

По мере прогрессирования данного патологического состояния углубляются и нарушения в митохондриях. На 3-7 сутки после развития артериальной гипертензии митохондрии набухают, их наружные мембраны и кристы подвергаются разрыхлению, появляются очаги лизиса их мембран. Эти нарушения укладываются в ультраструктурные процессы, связанные с развитием митохондриальной дисфункции.

К 30-м суткам в митохондриях кардиомиоцитов начинают превалировать катаболические процессы, структурно проявляющиеся в очаговом, а иногда и тотальном лизисе их мембран и крист.

Наряду с этим, катаболические процессы наблюдаются и в ультраструктурной организации кардиомиоцитов в целом, что косвенно подтверждается исчезновением в саркоплазме гранул гликогена, рибосом, появлением включений липидов, редукцией пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи, деструкцией саркоплазматической мембраны, переходе деконденсированного ядерного хроматина в конденсированную форму и истончение пучков миофибрилл.

Следует отметить, что эти процессы являются следствием митохондриальной дисфунк-

ции, которая существенно сказывается на внутриклеточной биоэнергетике кардиомиоцитов. Все эти нарушения могут существенным образом снижать сократительную способность кардиомиоцитов.

Вторым негативным фактором является развитие дистрофических и деструктивных нарушений субмикроскопической архитектоники эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда, на фоне развития и прогрессирования артериальной гипертензии. Изменения в виде конденсации хроматина ядер эндотелиоцитов, очаговая деструкция ядерных мембран, мембран митохондрий и цитоплазматической мембраны влекут за собой нарушения, трансцеллюлярного транспорта веществ и электролитов, что структурно проявляется прогрессирующим во времени снижением количества микропиноцитозных пузырьков в цитоплазме отростков этих клеток.

Таким образом, длительная, неврогенная артериальная гипертензия сопровождается прогрессирующим углублением степени выраженности дистрофического процесса и переходом его в деструктивную фазу, как в кардиомиоцитах, так и эндотелиоцитах кровеносных капилляров.

Выводы

1. Изменения ультраструктурной организации кардиомиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда старых крыс в начальные сроки развития артериальной гипертензии соответствуют стрессорной реакции органелл на неврогенные раздражители.

2. По мере прогрессирования данного патологического состояния, дистрофические изменения переходят в деструктивную фазу. Развивается митохондриальная дисфункция, структурно выражающаяся в очаговом лизисе наружных мембран и крист митохондрий.

3. Дистрофические и деструктивные процессы в миокарде старых крыс являются следствием митохондриальной дисфункции, которая сказывается на внутриклеточной биоэнергетике кардиомиоцитов. Все это, существенным образом снижает сократительную способность кардиомиоцитов.

4. Нарушения в субмикроскопической архитектонике эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда, такие как: конденсация ядерного хроматина, очаговая деструкция ядерных, митохондриальных и цитоплазматических мембран влечёт за собой снижение активности трансцеллюлярного транспорта веществ и электролитов, что структурно подтверждается прогрессирующим во времени снижением количества микропиноцитозных пузырьков в цитоплазме отростков этих клеток.



ЛИТЕРАТУРА

1. Натрий-литиевый обмен и трансмембранный потенциал при пограничной артериальной гипертензии / А.Р. Садыкова, Я.М. Милославский, В.Н. Шегеда, Л.Р. Бадрудзинов // Кардиология. – 1990. – № 3. – С. 100 – 101.
2. Сидоренко Б.А. Международный конгресс по внутренней медицине: актуальные проблемы кардиологии / Б.А. Сидоренко, С.В. Моисеев // Кардиология. – 1991. – № 8. – С. 90 – 92.
3. Сиренко Ю. Диагностика, профилактика и лечение артериальной гипертензии / Ю. Сиренко // Ліки України. – 2004. – № 2 (79). – С. 6 – 9.
4. Транспорт катионов и индуцированный кальцием гемолиз в эритроцитах больных гипертонической болезнью и крыс со спонтанной гипертензией (сравнительный анализ) / С.Н. Орлов, И.Ю. Постнов, Н.И. Покудин [и др.] // Кардиология. – 1989. – № 7. – С. 89 – 95.
5. Шош Й. Неврогенная гипертония. Моделирование заболеваний / Й. Шош. – М: Медицина, – 1981. – С. 246 – 247.
6. Spin-Labeling study of biomembranes in spontaneously hypertensive rats: calcium- and calmodulin-dependent regulation / K. Tsuda, Y. Minatogawa, H. Iwahashi [et al.] // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Suppl. – 1995. – V. 1. – P. 234 – 236.

ДИНАМІКА ЗМІН
УЛЬТРАСТРУКТУРИ
КАРДІОМІОЦИТІВ
МІОКАРДУ СТАРИХ ЩУРІВ
В ПРОЦЕСІ РОЗВИТКУ
ТА ПРОГРЕСУВАННЯ
НЕВРОГЕННОЇ
АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

*Л.В. Бабійчук, В.П. Невзоров,
О.Ф. Невзорова*

Резюме. Вивчена динаміка розвитку деструктивних і дистрофічних порушень субмікроскопічних перебудов органел клітин міокарду старих щурів на тлі неврогенної артеріальної гіпертензії. Встановлено, що провідною ланкою дистрофічних процесів в кардіоміоцитах є розвиток мітохондріальної дисфункції, яка зростає в міру прогресування артеріальної гіпертензії. Виявлена активація катаболічних процесів в ультраструктурній організації кардіоміоцитів, що побічно підтверджується зникненням в саркоплазмі гранул глікогену, рибосом, появою включень ліпідів, редукцією пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі.

Ключові слова: ультраструктура міокарду, мітохондріальна дисфункція, гіпертонія, кардіоміоцити.

DYNAMICS OF
ULTRASTRUCTURAL
CHANGES OF AGED RATS'
CARDIOMYOCYTES
DURING DEVELOPMENT
AND PROGRESSION OF
NEUROGENIC ARTERIAL
HYPERTENSION

*L.V. Babiychuk, V.P. Nevzorov,
O.F. Nevzorova*

Summary. Developmental dynamics of destructive and dystrophic damages of submicroscopic rearrangements of myocardium cell organelles of aged rats on the background of neurogenic arterial hypertension was studied. It was established that development of mitochondrial dysfunction increasing with progression of arterial hypertension is the leading link of dystrophic processes in cardiomyocytes. There was revealed activation of catabolic processes in ultrastructural organization of cardiomyocytes, which is indirectly confirmed with disappearance of granules in sarcoplasm of glycogen, ribosome, appearance of lipids' inclusion, reduction of cytoplasm Golgi's apparatus.

Key words: ultrastructure of myocardium, mitochondrial dysfunction, hypertension, cardiomyocytes.