

**ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ  
КАРДИОМИОЦИТОВ И ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЛЯРОВ  
МИОКАРДА КРЫС В ДИНАМИКЕ СТАРЕНИЯ****Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (г. Харьков)****ГУ Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины****(г. Харьков)**

Данная работа выполнена в рамках научной темы ИПК и К НАН Украины на 2011-2015 гг. шифр 2.2.6.63 «Особливості фізіологічних та патофізіологічних механізмів регуляції гомеостазу організму гомойо- і гетеротермних тварин при різних видах охолодження», № гос. регистрации 0111U001195.

**Вступление.** Старение является мультифакториальным процессом, который находится под влиянием генетики, образа жизни и факторов окружающей среды. Большой вклад оказывают два последних фактора, поскольку генетическая детерминация объясняет только около 20-25% различий в выживаемости человека к 80-ти годам [3, 7]. Загадка старения всё ещё остаётся неразгаданной, провоцируя увеличение количества исследований во всех сферах физиологии [6].

Старение не является болезнью, но связано с физиологическим упадком и повышением риска развития возраст-зависимых патологий, среди которых сердечно-сосудистые заболевания по-прежнему занимают одну из ведущих причин смерти населения планеты [4, 5]. С возрастом ухудшаются функциональные возможности сердечно-сосудистой системы, и к 75 годам половина их становится утрачена [4].

Известно, что патологии сердечно-сосудистой системы сопровождаются изменениями в ультраструктуре её компонентов [1, 2], однако данные о такого рода перестройках при физиологическом, не обремененном патологией, старении на разных его этапах отсутствуют.

**Цель исследования** – изучить динамику изменений в субмикроскопической организации кардиомиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда крыс в процессе их старения.

**Объект и методы исследования.** Исследования проводили на белых беспородных крысах-самцах в динамике их старения с возраста 6 месяцев. Всего было исследовано 4 экспериментальные группы разного возраста: 6, 12, 18 и 24 месяца. Все животные содержались в условиях вивария на стандартном пищевом рационе.

Эксперименты на животных проведены в соответствии с Общими принципами работы на животных, одобренными 1-м 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).

Животных выводили из эксперимента путем декапитации каждые 6 месяцев в процессе их старения (возраст 6, 12, 18 и 24 мес.) и производили забор кусочков ткани миокарда для электронно-микроскопического исследования.

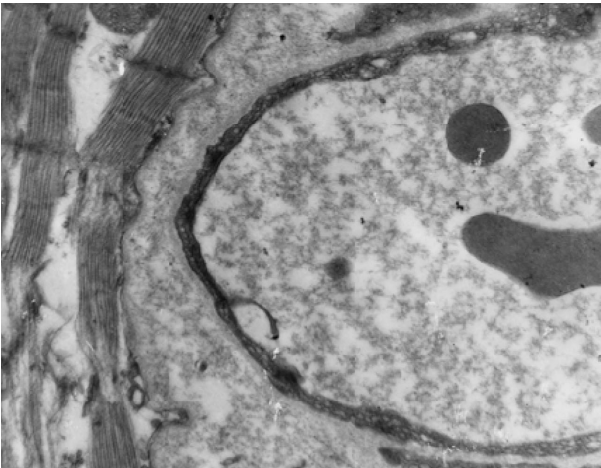
Предварительную фиксацию проводили в глицеро-формальдегидном фиксаторе при температуре 4°C в течении 5-6 часов. Затем кусочки миокарда переносили в 1%-ный забуференный раствор четырехоксида осмия на 3-4 часа при температуре 4°C для окончательной фиксации. В дальнейшем ткань обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне, пропитывали в смеси эпоксидных смол (эпон-аралдит) и заключали 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.

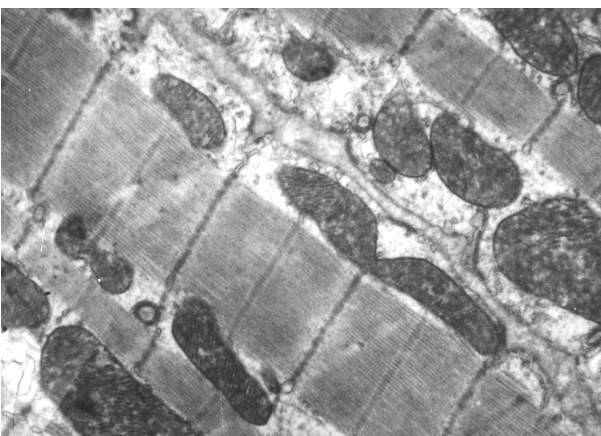
**Результаты исследований и их обсуждение.** Ядра кардиомиоцитов 6 месячных крыс имели вытянутую форму и ядерную мембрану с множественными мелкими деформациями. Ядерный хроматин находился преимущественно в деконденсированной форме и его гранулы равномерно распределялись по площади среза ядра. Довольно часто встречались ядра, мембрана которых образовывала глубокие инвагинации. Очаги разрыхления и лизиса отсутствовали.



**Рис. 1.** Ультраструктура кардиомиоцитов миокарда 6 месячных крыс. Чёткая поперечная исчерченность, митохондрии с мелкозернистым матриксом, большое количество крист x 36 000. Контрастировано цитратом свинца.



**Рис. 2.** Ультраструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда 6 месячных крыс. Многочисленные микропиноцитозные пузырьки в цитоплазме x 47 000. Контрастировано цитратом свинца.



**Рис. 3.** Ультраструктура кардиомиоцитов миокарда 12 месячных крыс. Уплотнение матрикса, многочисленные кристы и осмиофильные наружные мембраны митохондрий x 38 000. Контрастировано цитратом свинца.

Перинуклеарные пространства имели постоянную ширину.

Наблюдался полиморфизм форм и размеров митохондрий: одни содержали электронно-плотный матриксом, другие электронно-прозрачный. Митохондрии, как с электронно-плотным матриксом, так и с электронно-прозрачным, имели большое количество крист (**рис. 1**). Включения липидов и липофусцина в саркоплазме не обнаруживались.

В перинуклеарной области саркоплазмы, локализовался пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи, имеющий вид стопок параллельно ориентированных гладких мембран, окруженных множеством очень мелких электронно-прозрачных везикул. Саркоплазматическая мембрана имела структуру идентичную элементарной мембране.

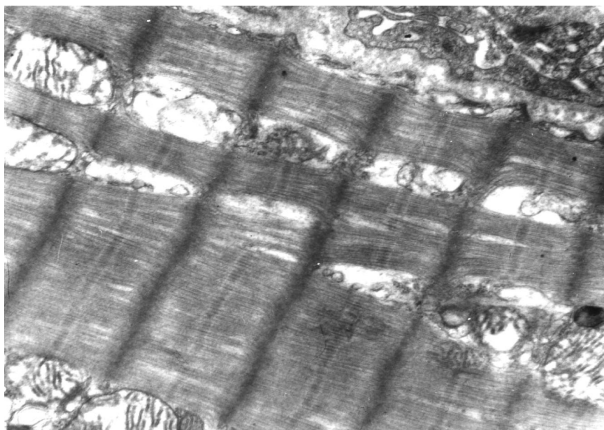
Эндотелиальные клетки кровеносных капилляров 6 месячных крыс содержали ядра, ядерная мембрана которых имела многочисленные мелкие деформации. Хроматин большей частью находился в конденсированном состоянии. В цитоплазме располагалось небольшое количество митохондрий с мелко гранулярным матриксом средней электронной плотности. Их кристы были укорочены. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума уплощались, а на мембранах локализовалось небольшое количество рибосом. Вблизи пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи присутствовали мелкие везикулы, заполненные веществом различной электронной плотности. Цитоплазма эндотелиоцитов содержала многочисленные рибосомы и полисомы. Вторичные лизосомы и включения липидов отсутствовали.

В цитоплазме отростков эндотелиоцитов присутствовало большое количество микропиноцитозных пузырьков (**рис. 2**).

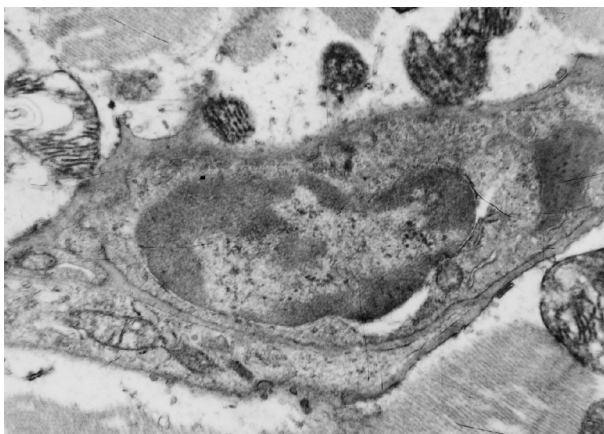
У 12 месячных крыс наблюдалась аналогичная субмикроскопическая организация кардиомиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда. Для этой группы экспериментальных животных характерным было увеличение электронной плотности матрикса митохондрий и повышение осмиофилии наружных мембран (**рис. 3**).

Субмикроскопическая архитектура кардиомиоцитов 18 месячных животных, в основном, сохраняла типичное строение. Отдельные из них имели изменения, характерные для развития умеренно выраженного дистрофического процесса.

Матрикс ядер приобретал низкую электронную плотность. Глыбки конденсированного хроматина концентрировались преимущественно в области, прилежащей к ядерной мембране. Центральная область матрикса ядра содержала гранулы деконденсированного хроматина. Ядерная мембрана образовывала небольшое количество глубоких и мелких инвагинаций. Наблюдалась мелкие участки её разрыхления. Очаги деструкции ядерной мембраны практически отсутствовали. Перинуклеарные пространства имели участки локального расширения.



**Рис. 4.** Ультраструктура кардиомиоцитов миокарда 18-месячных крыс. Просветление матрикса и очаговый лизис крист митохондрий x 39 000. Контрастировано цитратом свинца.



**Рис. 5.** Ультраструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда 18-месячных крыс. Конденсация хроматина ядра, просветление матрикса митохондрий, разрыхление цитоплазматической мембраны x 40 000. Контрастировано цитратом свинца.

Снижалось количество органелл, рибосом, гранул гликогена в перинуклеарной области кардиомиоцитов, по сравнению, с группой крыс 6-месячного возраста. Саркоплазма обладала более низкой электронной плотностью.

Изменения митохондрий носили полиморфный характер. Большая их часть имела типичную структуру с множеством параллельно ориентированных крист и чётко контурируемой наружной мембраной. В препаратах встречались митохондрии с электронно-прозрачным матриксом и лизированными кристами. Наружные мембраны в некоторых митохондриях имели мелкие очаги разрыхления и лизиса (рис. 4).

Значительному просветлению подвергалась и саркоплазма кардиомиоцитов, которая выглядела зачастую электронно-прозрачной. В ней иногда имели место включения липидов и липофусцина. В кардиомиоцитах наблюдалось локальное истончение пучков миофибрилл.

Ядра эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда 18-месячных крыс имели неправильную форму и глубокие инвагинации ядерной мембраны. Хроматин ядра концентрировался преимущественно вдоль ядерной оболочки. В центральной области ядерного матрикса образовывалась электронно-прозрачная область, заполненная небольшим количеством рибосом и гранулами деконденсированного хроматина. Ядерная мембрана имела обширные очаги разрыхления, однако очаги её разрушения выявлялись крайне редко.

В цитоплазме отростков эндотелиоцитов существенно снижалось количество микропиноцитозных пузырьков. Митохондрии эндотелиоцитов кровеносных капилляров были сильно набухшими с просветлённым матриксом и единичными кристами (рис. 5).

У 24-месячных крыс ядра кардиомиоцитов имели округлую, слегка вытянутую форму. Ядерный хроматин находился большей частью в конденсированном состоянии, его глыбки более или менее равномерно распределялись по площади среза ядра. Ядерная



**Рис. 6.** Ультраструктура кардиомиоцитов миокарда 24-месячных крыс. Локальное просветление матрикса и лизис наружных мембран митохондрий x 52 000. Контрастировано цитратом свинца.



**Рис. 7.** Ультраструктура эндотелиальных клеток кровеносных капилляров миокарда 24-месячных крыс. Вторичные лизосомы в цитоплазме x 37 000. Контрастировано цитратом свинца.

мембрана гладкая, без деформаций, однако с мелкими очагами деструкции и разрыхления.

В саркоплазме значительного количества кардиомиоцитов обнаруживались скопления митохондрий, обладающих осмиофильной наружной мембраной без очагов лизиса и более плотным матриксом. Часть из них содержала кристы обычного строения, другая имела лизированные кристы. В матриксе отдельных митохондрий содержались миелоноподобные структуры. Наружная мембрана была разрыхлённой, с очагами разрушения.

Встречались митохондрий подверженные локальным процессам дегенерации. В их матриксе образовывались электронно-прозрачные полости, окруженные элементарной мембраной (рис. 6).

В саркоплазме кардиомиоцитов довольно часто обнаруживались липидные включения, вторичные лизосомы и включения липофусцина.

Ультраструктура эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда 24 месячных крыс приобретала черты выраженных дистрофических и деструктивных изменений. Отмечалось значительное уменьшение количества микропиноцитозных пузырьков в цитоплазме отростков эндотелиоцитов.

Ядра эндотелиальных клеток содержали преимущественно конденсированный хроматин, имели гладкую, разрыхленную ядерную мембрану с очагами лизиса. Небольшое количество набухших митохондрий с единичными кристами и электронно-прозрачным матриксом располагалось в перинуклеарной области цитоплазмы.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи подвергался редукции. Его везикулярная часть представлена единичными крупными электронно-прозрачными вакуолями. В цитоплазме всех эндотелиоцитов располагались вторичные лизосомы (рис. 7) и мелкие включения липидов.

Цитоплазматическая мембрана, обращенная в просвет капилляра, была осмиофильна, утолщена и очагово разрушена.

Проведенные электронно-микроскопические исследования динамики субмикроскопических перестроек органелл кардиомиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда крыс в динамике их старения, показали, что характерной особенностью ультраструктурной организации кардиомиоцитов 6 месячных крыс является наличие большого количества мелких митохондрий и крист в них, а также присутствие делящихся форм. В этой группе животных в саркоплазме кардиомиоцитов отсутствовали вторичные лизосомы и включения липидов. В них присутствовали большое количество рибосом, полисом и гранул гликогена.

Высокий уровень метаболической, репаративной и синтетической активности сохранялся и в клетках и сосудах миокарда 12 месячных крыс.

К 18 месяцам начинали появляться признаки развития дистрофических процессов на субклеточном уровне в виде набухания митохондрий, очагового просветления их матрикса и деструкции отдельных крист. Данные изменения характерны для развития митохондриальной дисфункции.

У 24 месячных крыс митохондрии кардиомиоцитов имели различную ультраструктуру. Часть из них была сильно набухшей с просветленным матриксом и расширенными межкристными пространствами, другая находилась на различных стадиях дегенерации, сопровождающейся лизисом крист и наружных мембран. Встречались также тотально разрушенные митохондрии. Дегенеративно-деструктивные изменения митохондрий свидетельствуют о существенном нарушении внутриклеточной биоэнергетики.

В кардиомиоцитах и эндотелиоцитах наблюдалась довольно высокая активность катаболических процессов, что структурно проявлялось наличием в саркоплазме включений липидов и липофусцина, снижением количества рибосом, полисом и гранул гликогена.

### Выводы.

1. Характерной особенностью ультраструктурной организации кардиомиоцитов и эндотелиоцитов кровеносных капилляров 6 месячных крыс является наличие большого количества мелких митохондрий и крист в них. Высокий уровень метаболической, репаративной и синтетической активности сохраняется и в клетках и сосудах миокарда крыс 12 месячного возраста.

2. Дистрофические процессы на субклеточном уровне начинают проявляться к 18 месяцам. Имеют место изменения характерные для развития митохондриальной дисфункции.

3. В группе 24 месячных крыс существенно увеличивался объём митохондрий. Встречались митохондрии, находящиеся на различных стадиях дегенерации, сопровождающейся лизисом крист и наружных мембран. В кардиомиоцитах и эндотелиоцитах наблюдалась довольно высокая активность катаболических процессов, что подтверждалось наличием в саркоплазме включений липидов и липофусцина.

4. Выявленные изменения субмикроскопической архитектоники свидетельствуют о снижении сократительной способности кардиомиоцитов, связанной с деструктивно-дистрофическими перестройками митохондрий.

**Перспективы дальнейших исследований.** В дальнейшем будут проведены экспериментальные исследования по изучению влияния ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C) и кордовой крови на ультраструктурную организацию кардиомиоцитов и эндотелиоцитов миокарда крыс в динамике их старения.

### Литература

1. Бабийчук Л. В. Динамика ультраструктурных перестроек кардиомиоцитов миокарда старых крыс с неврогенной артериальной гипертензией после введения криоконсервированных гемопоэтических стволовых клеток кордовой крови / Л. В. Бабийчук, В. Г. Бабийчук, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова // Харківська хірургічна школа. – 2012. – №4 (55). – С. 47-52.

2. Бабийчук Л. В. Динамика ультраструктурных перестроек органелл кардиомиоцитов миокарда молодых крыс в процессе развития и прогрессирования неврогенной артериальной гипертензии / Л. В. Бабийчук, В. П. Невзоров, О. Ф. Невзорова, В. Г. Бабийчук // Харківська хірургічна школа. – 2012. – № 5 (56). – С. 24-29.
3. Fraser G. E. Ten years of life: Is it a matter of choice? / G. E. Fraser, D. J. Shavlik // Arch. Intern. Med. – 2001. – Vol. 161 – P. 1645–1652.
4. Kendall K. L. Women and exercise in aging / K. L. Kendall, C. M. Fairman // Journal of Sport and Health Science. – 2014. – Vol. 3. – P. 170-178.
5. Primary prevention of coronary heart disease in women through diet and lifestyle / M. J. Stampfer, F. B. Hu, J. E. Manson [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2000. – Vol. 343. – P. 16-22.
6. Shiogai Y. Nonlinear dynamics of cardiovascular ageing / Y. Shiogai, A. Stefanovska, P. V. E. McClintock // Physics Reports. – 2000. – Vol. 488. – P. 51-110.
7. The heritability of human longevity: a population-based study of 2872 Danish twin pairs born 1870-1900 / A. M. Herskind, M. McGue, N. V. Holm [et al.] // Hum Genet. – 1996. – Vol. 97. – P. 319–23.

УДК 616. 2-092. 18. 085. 2:57. 017. 67:576. 311. 347

### **ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН УЛЬТРАСТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ КАРДІОМІОЦИТІВ ТА ЕНДОТЕЛІОЦИТІВ КРОВОНОСНИХ КАПІЛЯРІВ МІОКАРДА ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ СТАРІННЯ**

**Руднева Ю. В. , Невзоров В. П. , Бабійчук В. Г. , Чернявська О. А. , Кулик В. В.**

**Резюме.** Електронно-мікроскопічні дослідження кардіоміоцитів та ендотеліоцитів судин міокарду щурів у динаміці їх старіння показали, що високий рівень метаболічної, репаративної та синтетичної активності зберігається в них до 12-ти місячного віку. Дистрофічні процеси, що характеризується розвитком мітохондріальної дисфункції на субклітинному рівні, починають проявлятися до 18-ти місяців. У групі 24 місячних щурів, поряд зі збільшенням об'єму мітохондрій, з'являються мітохондрії, які знаходяться на різних стадіях дегенерації. У кардіоміоцитах та ендотеліоцитах судин міокарду активуються катаболічні процеси, що структурно підтверджується появою в саркоплазмі включень ліпідів та ліпофусцину. Дані зміни субмікроскопічної архітектоники свідчать про зниження здатності кардіоміоцитів до скорочення, що пов'язано зі структурно-дистрофічними перебудовами мітохондрій.

**Ключові слова:** старіння, ультраструктура кардіоміоцитів, мітохондрії, мітохондріальна дисфункція, ендотеліоцити.

УДК 616. 2-092. 18. 085. 2:57. 017. 67:576. 311. 347

### **ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КАРДИОМИОЦИТОВ И ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ КРОВЕНОСНЫХ КАПИЛЛЯРОВ МИОКАРДА КРЫС В ДИНАМИКЕ СТАРЕНИЯ**

**Руднева Ю. В. , Невзоров В. П. , Бабийчук В. Г. , Чернявская Е. А. , Кулик В. В.**

**Резюме.** Электронно-микроскопические исследования кардиомиоцитов и эндотелиоцитов сосудов миокарда крыс в динамике их старения показали, что высокий уровень метаболической, репаративной и синтетической активности сохраняется в них до 12-ти месячного возраста. Дистрофические процессы, характеризующиеся развитием митохондриальной дисфункции на субклеточном уровне, начинают появляться к 18-ти месяцам. В группе 24 месячных крыс, наряду с увеличением объема митохондрий, появляются митохондрии, находящиеся на различных стадиях дегенерации. В кардиомиоцитах и эндотелиоцитах сосудов миокарда активируются катаболические процессы, что структурно подтверждается появлением в саркоплазме включений липидов и липофусцина. Данные изменения субмикроскопической архитектоники свидетельствуют о снижении сократительной способности кардиомиоцитов, связанной с деструктивно-дистрофическими перестройками митохондрий.

**Ключевые слова:** старение, ультраструктура кардиомиоцитов, митохондрии, митохондриальная дисфункция, эндотелиоциты.

UDC 616. 2-092. 18. 085. 2:57. 017. 67:576. 311. 347

### **Features of Changes of Ultrastructure Organization of Myocardium Cardiomyocytes and Myocardium Blood Capillaries Endotheliocytes in Dynamics of Aging in Rats**

**Rudnyeva Yu. V. , Nevzorov V. P. , Babiychuk V. G. , Chernyavskaya E. A. , Kulik V. V.**

**Abstract.** Aging is the multifactorial process, influenced by genetics, lifestyle and environmental factors.

Aging is not a disease, but it is associated with a physiological decline and an increased risk of age-related diseases, including cardiovascular diseases, which continue to occupy one of the leading causes of a death among the population of planet. The functionality of the cardiovascular system is getting worse with age and half of it is getting lost at 75 years.

It is known that pathologies of the cardiovascular system are accompanied by changes in the ultrastructure of its components, but the data about such modifications at physiological, not burdened with pathology, aging at different stages are absent.

*The aim* of this work was to study the dynamics of changes in the submicroscopic organization of cardiomyocytes and endothelial cells of blood capillaries in the myocardium of rats during their aging.

*Subjects and methods.* Investigations were carried out in Albino male rats in the dynamics of their aging from 6 months age. There were studied four experimental groups of different ages: 6, 12, 18 and 24 months. All animals were kept in a vivarium on a standard diet.

Animals were taken out of the experiment by decapitation every 6 months during their aging (age 6, 12, 18 and 24 months.) and we were taking pieces of myocardium tissue for electron microscopic examination.

*Results and discussion.* Carried out electron-microscopic study of the dynamics of submicroscopic transformations organelles of the rats' cardiomyocytes and myocardium capillaries endothelial cells in the dynamics of their aging showed that the feature of the cardiomyocytes' ultrastructural organization of 6 months old rats was the presence of a lot of small mitochondria and cristae in them, as well as the presence of mitochondrial fissile forms. Secondary lysosomes and incorporating lipids were absent in the cardiomyocytes sarcoplasm in this group of animals. There was a large number of ribosomes, polysomes and glycogen granules.

The electron microscopic study of the rats' cardiomyocytes and myocardium vessels endotheliocytes in dynamics of their aging showed that a high level of metabolic, reparative and synthetic activity was kept in them up to 12 months age.

The degenerative processes, characterized by the development of mitochondrial dysfunction at the subcellular level, began to appear at 18 months. There were a swelling of mitochondria, local matrix enlightenment and some cristae destruction. The mitochondria at different degeneration stages along with an increase in volume of mitochondria appeared in the group of 24 months old rats. Catabolic processes were activated in cardiomyocytes and myocardium vessels endotheliocytes that was structurally confirmed with the appearance of inclusions of lipids and lipofuscin in sarcoplasm. These changes of the submicroscopic architecture showed the decrease in contractility of cardiomyocytes, which was associated with destructive and dystrophic restructurings of mitochondria.

**Keywords:** aging, ultrastructure of cardiomyocytes, mitochondria, mitochondrial dysfunction, endotheliocytes.

*Рецензент – проф. Юрченко Т. Н.*

*Стаття надійшла 12. 08. 2014 р.*