

УДК: 616.127–018.1:577.121.7:[577.122.8+577.125.8

В.И. Благодаров, М.В. Данилишина, Н.И. Лагода, О.Г. Рудницкая, М.Д. Иванова
Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца, г. Киев

ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА МИОКАРДА В УСЛОВИЯХ АТЕРОГЕННОЙ ДИСЛИПОПРОТЕИДЕМИИ

Изменения миокарда в условиях атерогенной дислиппротеидемии, воспроизводимой в эксперименте, проявляются морфологической гетерогенностью кардиомиоцитов, обусловленной параллельным протеканием адаптационных и альтеративных процессов в клетках. Эти процессы протекают на фоне постепенно нарастающего энергетического дефицита, о котором свидетельствуют изменения активности окислительно-восстановительных ферментов. Морфологически данные изменения проявляются перестройкой и повреждением гликокаликса и рецепторного аппарата кардиомиоцитов; модификацией цитомембран с изменением активности ассоциированных с ними энзимов и состояния ионных каналов, обусловленной энергетическим дефицитом, дислиппротеидемией и оксидантным стрессом; нарушением электролитного гомеостаза, дисфункцией и дискоординацией внутриклеточных депо Ca^{2+} ; адаптационной гипертрофией, обусловленной компенсаторной гиперфункцией; образованием массивных компактных митохондриальных конгломератов, атрофией и мелкоочаговой альтерацией некоторой части клеток. Все это способствует развитию миокардиальной недостаточности и может сопровождаться проявлениями электрической нестабильности миокарда.

Ключевые слова: атерогенная дислиппротеидемия, энергетический дефицит миокарда, гиперхолестеринемия.

Работа является фрагментом НИР кафедры патоморфологии НМУ имени А. А. Богомольца "Особливості морфологічних проявів загальнопатологічних процесів в сучасній спеціальній патоморфології" № гос.реєстрації 0010 У 002336.

По современным представлениям важнейшим фактором ишемического повреждения клеток миокарда является нарушение энергетического обеспечения их жизнедеятельности. Большое количество научных исследований, воспроизводивших коронарную недостаточность в эксперименте, подтвердили этот факт [1, 8, 9]. Вместе с тем, существуют данные, свидетельствующие о том, что в условиях хронической гиперхолестеринемии, еще до развития атеросклероза и, соответственно, морфологически значимой ишемии миокарда, выявляются существенные изменения, в основе патогенеза которых лежит ограничение энергетического обеспечения кардиомиоцитов [2, 5, 7].

В связи с этим, одна из задач наших исследований по изучению морфогенеза повреждений миокарда в данных условиях, состояла в изучении особенностей энергетического метаболизма и пластического обеспечения функции миокарда. Вопросом, нуждавшимся в уточнении, стали изменения цитохимических реакций, обеспечивающих воспроизводство и транспорт энергии в кардиомиоцитах.

Материал и методы исследования. Исследования выполнены на 38 кроликах весом 2,5 – 3,5 кг, из которых 8 составили контрольную группу, а 30 в течение 2, 8 и 16 недель содержались на атерогенной диете, получая ежедневно 0,3 г/кг холестерина. Гистотопограммы ткани миокарда, заключенной в парафин, окрашивали гематоксилином и эозином, по методикам Ли, Рего и Ван Гизон, исследовали в поляризованном свете на микроскопе МРІ-5. На срезах из свежзамороженной ткани определяли активность лактат-, малат-, сукцинат-, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназ (ЛДГ, МДГ, СДГ, Г-6-ФДГ) и цитохромоксидазы (ЦХО), а также гликоген по Mc Manus [4]. Для электронной микроскопии образцы ткани из различных отделов сердечной мышцы фиксировали и дофиксировали в изотонических забуферных растворах 4% параформа и 1% O_3O_4 , обезвоживали и заключали в эпоксидные смолы по стандартной прописи [3]. Ультратонкие срезы получали на приборе LKB-8800, контрастировали солями тяжелых металлов и исследовали в микроскопе ПЭМ-125. Электронноцитохимически выявляли локализацию и активность ЛДГ, МДГ, СДГ и цитохром-С-редуктазы, а также гликогеновый резерв КМЦ [9].

Результаты исследования и их обсуждение. Уже после 2 недель экспериментальной гиперхолестеринемии в миокарде появлялись признаки дистрофических изменений, однако мышечные волокна оставались в стабильном соотношении между собой и интерстицием. В кардиомиоцитах определялась умеренно выраженная зернистость саркоплазмы и стертость поперечно-полосатой исчерченности части волокон. При окраске по методике Ли или железным гематоксилином выявлялись единичные альтеративные изменения. При определении активности окислительно-восстановительных ферментов в некоторых клетках наблюдался неравномерный характер отложений формазана, что сопровождалось резким уменьшением количества продукта гистохимической реакции.

Активность Г-6-ФДГ и ЛДГ неравномерно повышалась, что свидетельствовало о компенсаторном усилении пластических процессов и гликолиза; активность же дегидрогеназ цикла Кребса и ЦХО – понижалась, однако отклонения по сравнению с нормой как для первой, так и для второй групп ферментов были

умеренными. Понижение активности оксидоредуктаз в митохондриях нарушало утилизацию гликогена и это проявлялось появляющейся и нарастающей жировой дистрофией кардиомиоцитов.

Это сочеталось с активным воспроизводством митохондрий, что постепенно приводило к увеличению их объемной плотности, главным образом, за счет структурно неполноценных элементов, ограничение функциональных потенций которых соответствовало снижению уровня восстановления креатинфосфата на 13% по сравнению с контролем. Каталитическая способность окислительно-восстановительных ферментов в разных кардиомиоцитах, субрегионах одной и той же клетки, а нередко в соседних органеллах заметно различалась, что, например, подтверждалось при использовании электронно-гистохимических тестов на активность СДГ. В результате, на фоне структурной монотонности органелл они существенно отличались по количеству и распределению специфического осадка.

Можно сделать вывод, что уже *двухнедельная гиперхолестеринемия* характеризуется заметными морфологическими изменениями миокарда. В первую очередь это обусловлено дислипидопротеидемической модификацией цитомембран, которая способствует повышению активности катаболических процессов в миокарде, что приводит к дистрофическим изменениям кардиомиоцитов. Вместе с тем, необратимым изменениям подвергаются отдельные клетки и эта ситуация свидетельствует об относительно адекватном уровне процессов адаптации в миокарде.

Результаты *8-недельной гиперхолестеринемии* свидетельствуют о нарастании проявлений гетерогенности кардиомиоцитов и признаков гипертрофии некоторых. На гистотопограммах, окрашенных гематоксилином и эозином, пикрофуксином отмечалась неравномерно выраженная зернистость саркоплазмы, стертость поперечно-полосатой исчерченности, начальные признаки диффузного мелкоочагового кардиосклероза. Активность окислительно-восстановительных ферментов изменялась неодинаково: активность Г-6-ФДГ и ЛДГ незначительно повышалась, дегидрогеназ цикла Кребса и ЦХО – умеренно снижалась. Более всего угнеталась каталитическая способность МДГ и ЦХО. Эти изменения сочетались со снижением активности КФК на 21%, определяя существенное ухудшение энергетического обеспечения функции кардиомиоцитов. Выпадение осадка диформаза в целом мало отличалось от описанного в предыдущей серии наблюдений. Таким образом, основная направленность перестройки энергетического метаболизма определяется умеренной активацией гликолиза и, в то же время, некоторым угнетением тканевого дыхания, последствием чего является более низкий уровень активности креатинфосфокиназы. Следует заметить, что наблюдаемое активирование гликолиза не обеспечивает необходимое воспроизводство энергии и это подтверждает выявление при электронномикроскопическом исследовании клеток с признаками гипертрофии и атрофии, хотя основная масса кардиомиоцитов сохраняет обычные размеры.

Изменения митохондрий обусловлены процессами как адаптации, так и их преждевременного изнашивания и даже деструкции. Активная пролиферация этих органелл сопровождалась их нарастающим полиморфизмом. В то же время часть внутриклеточного пространства, отводящегося контракильному аппарату, заметно уменьшалась, а снижение содержания креатинфосфата свидетельствует о дальнейшем ухудшении энергетического обеспечения его функции.

Отражением структурных особенностей митохондрий были многочисленные отклонения при цитохимическом определении активности окислительно-восстановительных ферментов. Повреждения мембран инактивировало ферменты, иногда сопровождалось атипичным характером распределения продуктов реакции. В отдельных случаях носителями активности становились мелкие фрагменты разрушенных митохондрий, имитируя внутриклеточную диффузию ферментов. Инактивация оксидоредуктаз, как правило, начиналась с внутреннего отдела митохондрий. Колебания активности энзимов отмечались и в органеллах с удовлетворительным состоянием мембранного каркаса.

Полученные данные показывают, что гиперплазия митохондрий осуществляется без четкой зависимости от качества образующихся органелл, свидетельствуя о существенных негативных отклонениях в механизме их регенерации. Вследствие этого основную массу новообразованных митохондрий составляют формы со сниженными функциональными возможностями. Этот вывод подтверждают и результаты биохимической оценки воспроизводства креатинфосфата в кардиомиоцитах.

Таким образом, в большинстве клеток миокарда при данном термине гиперхолестеринемии компенсаторные механизмы также оказывались достаточными для ликвидации внутриклеточных повреждений. Только в некоторых клетках они перерастали в необратимые изменения, когда повышенное напряжение процессов жизнеобеспечения, которое лежит в основе адаптации кардиомиоцитов к новым условиям функционирования, для некоторых из них оказывалось недостаточным. Поэтому одна часть клеток проявляла тенденцию к гипертрофии, объем других уменьшался, а третьи разрушались в результате накопления изменений деструктивного характера. Клетки с признаками атрофии составляли сравнительно небольшую часть, однако их появление отражало один из существенных аспектов дальнейших изменений миокарда, свидетельствуя о постепенном истощении его компенсаторно-приспособительных возможностей.

16-недельный термин исследований был достаточным, чтобы все ранее морфологически определяемые аспекты перестройки кардиомиоцитов достигли определенного уровня. Гетерогенность проявлений значительно усугублялась. Соотношения между малоизмененными, увеличенными или уменьшенными в объеме клетками смещались в сторону атрофированных.

При окраске гистопограмм сердца гематоксилином и эозином, пикрофуксином явления зернистой дистрофии и нечеткость поперечной исчерченности в кардиомиоцитах приобретали более выраженный характер. Чаще встречались диссеминированные микрофокусы миоцитолита, коагуляционного некроза и глыбчатого распада клеток с замещением их соединительной тканью. Явления диффузного кардиосклероза имели большую распространенность. Наличие в миокарде одновременно дистрофических, некробиотических и некротических изменений свидетельствует о прогрессирующем характере нарушений.

При определении активности окислительно-восстановительных ферментов изменения имели аналогичную предыдущим исследованиям направленность, хотя неупорядоченность распределения зерен диформаза усиливалась, чаще встречались очаги инактивации энзимов. Несмотря на удовлетворительную структуру большей части крист митохондрий, продукт реакции при определении активности оксидоредуктаз (СДГ, ЛДГ, МДГ) распределялся, главным образом, неравномерно и характерным признаком были значительные различия энзиматической активности в рядом расположенных органеллах.

Отличительным признаком повреждения митохондрий при данном термине гиперхолестеринемии были частые дефекты внешней мембраны, которые возникали уже при сравнительно небольших изменениях объема органелл, и даже незначительное набухание сопровождалось ее фрагментацией. Иногда место разрушенного сегмента занимала ближайшая криста. Вполне вероятно, что повышенная ранимость обусловлена уменьшением пластичности мембран вследствие модификации их липидного состава в условиях дислипидемии. Нередко еще удовлетворительное состояние внутренней структуры митохондрий обеспечивало длительное "нарабатывание" энергии, которая уже не могла быть передана креатину на воспроизводство креатинфосфата. Таким образом, создавались предпосылки для перегрузки органелл кальцием и активации мембранных фосфолипаз. Поврежденные органеллы приобретали неправильную форму вследствие диссоциации мембран, а не разрывов. Неровность контуров митохондриальной оболочки указывала на ее неисчерпаемый резерв для растягивания. Распространенным явлением становилось их миелопоподобная трансформация, которая начинается с резкого повышения осмиофилии мембран. Подобные изменения отражают усиление процессов перекисного окисления липидов, поражающих цитомембраны, первой мишенью которого становятся именно митохондрии, где перманентно происходят окислительно-восстановительные процессы. Таким образом, тенденции, которые наметились в предыдущих сериях наблюдений, по окончании 16 недель эксперимента формируют сложный комплекс изменений, нарушающих структуру и функцию миокарда. Полученные данные свидетельствуют о прогрессирующей перестройке ультраструктуры и метаболизма кардиомиоцитов в данных условиях. Адаптация миокарда к новым условиям функционирования связана с активированием пластических процессов в миокарде [6, 7]. Нарастающие энергетические потребности рабочих клеток миокарда обуславливают повышенное воспроизводство структурно и метаболически неполноценных митохондрий, потенцируя тем самым исходный энергетический дефицит, связанный с мембранотропным действием гиперхолестеринемии [2, 5, 7].

Заключение

Морфофункциональная перестройка миокарда в условиях гиперхолестеринемии свидетельствует о накоплении изменений, нарушающих его электрофизиологические свойства. К таковым могут быть отнесены формирующаяся в данных условиях гетерогенность кардиомиоцитов, которая характеризуется: перестройкой и повреждением гликокаликса и рецепторного аппарата кардиомиоцитов; модификацией цитомембран с изменением активности ассоциированных с ними энзимов и состояния ионных каналов, обусловленной энергетическим дефицитом, дислипидемией и оксидантным стрессом; нарушением электролитного гомеостаза, дисфункцией и дискоординацией внутриклеточных депо Ca^{2+} ; адаптационной гипертрофией, обусловленной компенсаторной гиперфункцией; образованием массивных компактных митохондриальных конгломератов, атрофией и мелкоочаговой альтерацией некоторой части клеток. Все это является предпосылками для развития электрической нестабильности миокарда.

Литература

1. Белгадзе М.А. Динамика электронно-гистохимической активности АТФ-азы как показатель гипоксии кардиомиоцитов / Белгадзе М.А. – Кутаисис самед. Ж., 1999. – №1-2. – С.17-19.
2. Гавриш А.С. Перестройка структуры и метаболизма миокарда при хронической гиперхолестеринемии / Гавриш А.С., Мхитарян Л.С. – Цитология, 1991. – №5. – С.94-95.
3. Гайер Г. Электронная гистохимия / Гайер Г. – М: Мир, 1974 – 488с.
4. Лойда З. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы / Лойда З., Госспрау Р., Гиблер Т. – М.: Мир, 1992. – 271с.
5. Механизмы нарушения сократительной функции миокарда при хронической гиперхолестеринемии / Гавриш А.С., Мхитарян Л.С., Орлова Н.Н., Хаджинский В.Г. – Гипертоническая болезнь, атеросклероз и коронарная недостаточность, вып.25. – Киев: Здоров'я, 1993. – С.110-115.
6. Непомнящих Л.М. Морфология пластической недостаточности мышечных клеток сердца / Непомнящих Л.М., Семенова Л.А. – Новосибирск.: Наука, 1985. – 241 с.
7. Семенова Л.А. Морфология пластической недостаточности мышечных клеток сердца / Семенова Л.А., Непомнящих Л.М., Семенов Д.Е. – Новосибирск: Наука, 1985. – 241с.

8. Myocardial ischemia decreases oxidative phosphorylation thorough cytochrome oxidase in subsarcolemmal mitochondria / Lesnefsky Edward J., Tandler Bernard, Ve Jian, Slabe Thomas J., Turkaly Julia, Hopper Charles – Amer.J/Physiol.: Heart and Circ. Physiol.–1997. – №3. – С.1544-1554.
9. Steinmann C.M.I. The conservation of mitochondrial function by ischemia –the ischemia paradox / Steinmann C.M.I., Storm M. – Acta physiol. scand. – 1997. – №2 – С.171-173.

Реферати

**ЦИТОХІМІЧНІ АСПЕКТИ ЕНЕРГЕТИЧНОГО
ДЕФІЦИТУ МІОКАРДА В УМОВАХ
АТЕРОГЕННОЇ ДИСЛІПОПРОТЕЇДЕМІЇ**

**Благодаров В.М., Данилішина М.В., Лагода Н.М.,
Рудницька О.Г., Іванова М.Д.**

Зміни міокарда в умовах атерогенної дисліпопротеїдемії, що відтворювалась в експерименті, проявляються морфологічною гетерогенністю кардіоміоцитів, яка обумовлена паралельним протіканням адаптаційних і альтеративних процесів в клітинах. Ці процеси спостерігаються на фоні поступово зростаючого енергетичного дефіциту, про який свідчать зміни активності окисно-відновних ферментів. Морфологічно дані зміни проявляються перебудовою і пошкодженням глікокаліксу та рецепторного апарату кардіоміоцитів; модифікацією цитомембран зі зміною активності асоційованих з ними ензимів і стану іонних каналів, що обумовлена енергетичним дефіцитом, дисліпопротеїдемією і оксидантним стресом; порушенням електролітного гомеостазу, дисфункцією і дискоординацією внутрішньоклітинних депо Ca^{2+} ; адаптаційною гіпертрофією, що обумовлена компенсаторною гіперфункцією; утворенням масивних компактних мітохондріальних конгломератів, атрофією і дрібновогнищевою альтерацією деяких клітин. Все це сприяє розвитку міокардальної недостатності і може супроводжуватись проявами електричної нестабільності міокарда.

Ключевые слова: атерогенна дисліпопротеїдемія, енергетичний дефіцит міокарда, гіперхолестеринемія.

Стаття надійшла 8.11.2011 р.

**CYTOCHEMICAL ASPECTS OF ENERGETIC
DEFICIENCY OF THE MYOCARDIUM AT THE
ATHEROGENIC DISLIPOPROTEIDEMIA**

**Blagodarov V.N., Danylishyna M.V., Lagoda N.N.,
Rudnitskaya O.G., Ivanova M.D.**

Structural changes of miocardium at the atherogenic dislipoproteidemia have different morphologic features. It is caused by combination in parallel proceeding against a hypercholesterolemia of a myocardium of processes of alteration and adaptation. Morphofunctional equivalents related to metabolic activity of mitochondrial apparatus of ventricular cardiac hystiocytes in the intact and ischemic myocardium were learnt. The complex of general histological, hystochemical, electron- microscopic and cytochemical methods was applied. It was determined that activity of the oxidation-reduction ferments in the compensatory hyperfunctioning cardiac hystiocytes is caused by increase of metabolically active organelles in cells with displacement of their natural multifunctional heterogeneity to subcellular and cellular level. The rapid wear of active organelle caused essential differences of cardiac hystiocytes in the number of intermitochondrial contacts, and thus, predetermines the different level of alternative changes in the respective cells. This morphological changes lead to deficiency of cardiomyocytes and determinative of an infringement of the electric stability of the myocardium.

Key words: atherogenic dislipoproteidemia, energetic deficiency of the myocardium, hypercholesterolemia.

УДК 616.71-001[616.12-008]

**Васько Л.В., Кітченко Л.І., Гортинська О.М., Богаття І.В.,
Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми**

**УЛЬТРАСТРУКТУРА КІСТКОВИХ КЛІТИН В УМОВАХ ОПРОМІНЕННЯ ТА ВЖИВАННЯ СОЛЕЙ
ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

У роботі проведено вивчення ультраструктурних особливостей остеобластів і хондроцитів при комбінованій дії солей важких металів і низьких доз радіації. Доведений розвиток дистрофічних і деструктивних змін в клітинах. В період реадаптації не відбувається повного відновлення ультраструктури остеобластів і хондроцитів.

Ключові слова: кістка, ультраструктура, радіація, важкі метали.

Кістковий скелет є поліфункціональною системою. Крім кісткового мозку, що міститься в довгих кістках скелета, кістка є депо мінеральних речовин, зокрема, кальцію, фосфору, міді, марганцю і багатьох інших. Вивільненням чи депонуванням іонів кістка здатна впливати на гомеостаз всього організму. Особливості зміни гомеостазу скелета при дії на організм несприятливих чинників, різних метаболічних порушень вивчено