

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОВРЕЖДЕНИЯ МИОКАРДА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА И ВВЕДЕНИЯ ВИТАМИНА А

Шурыгин С.А., Ямщиков Н.В., Балашов В.П., Абрамов В.Н., Шурыгина О.В., Ямщикова Е.Н.

ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России», Самара, Россия (443001, г. Самара, ул. Чапаевская, 89), ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, e-mail: sa-shur@yandex.ru

Одним из ведущих направлений современной гистологии является изучение реактивности тканей и органов. Исследование морфологических изменений миокарда в условиях стресса и при действии различных фармакологических препаратов является актуальной проблемой и практической медицины. Особенно интересно изучение сочетанного воздействия факторов. Проведено гистологическое исследование ультраструктуры миокарда млекопитающих в экспериментальных условиях. Установлено, что хронический стресс вызывает комплекс реактивно-дистрофических изменений в миокарде. Мы наблюдали повреждение ультраструктуры миофибрилярного аппарата, митохондрий. Применение витамина А на фоне хронического стресса не вызывает усиления дистрофических процессов. Витамин А обладает цитопротекторным свойством и вызывает уменьшение нарушений ультраструктуры кардиомиоцитов. Можно предположить, что под действием стресса в миокарде произошло, с одной стороны, снижение концентрации витамина А, а с другой, уменьшение чувствительности клеток к нему, что и привело к проявлению его антистрессорных свойств.

Ключевые слова: витамин А, стресс, миокард, крыса.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC OF MYOCARD DAMAGE IN THE CONDITIONS OF THE CHRONIC STRESS AND THE VITAMIN A ACTION

Shurygin S.A., Yamschikov N.V., Balashov V.P., Abramov V.N., Shurygina O.V., Yamschikova E. N.

Samara State Medical University, Ogarev Mordovia State University

The study of reactivity of tissues and organs is the actual part of modern histology. The studying of myocardium morphological transformations in the conditions of the chronic stress and the pharmacologic drugs is an actual problem of practical medicine. Now the studying affect of pharmacologic drug and combined affect of factors is very actual. Histology research of myocardium ultrastructure was carry out. The chronic stress induce the complex of responsive-dystrophic transformations of myocardium. The apparatus of muscular fibrils and mitochondrions are disorder. Vitamin A don't induce of increase dystrophic process. Vitamin A has the cytoprotective activity. It is decreases of the intracellular processes emerge in the cardiomyocytes in the experimental conditions.

Keywords: vitamin A, stress, myocardium, rat.

Введение

Исследование морфологических изменений миокарда животных при различных видах стресса является важным направлением современной гистологии и практической медицины. Исследование ультраструктуры миокарда при сочетании хронической иммобилизации и применения витамина А весьма актуально, поскольку позволит доказать или опровергнуть влияние ретиноидов на миокард в патологических условиях.

Цель настоящей работы – анализ ультраструктурной организации сердечной мышечной ткани в условиях хронического стресса и введения витамина А.

Материалы и методы. В работе исследован материал от белых беспородных крыс в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Животные были разделены на несколько групп: 1 – интактные крысы (контроль); 2 – животные, подвергнутые хронической иммобилизации; 3 – животные, подвергнутые хронической иммобилизации и получавшие витамин А в дозе 10 000 МЕ ежедневно в течение 30 дней. Иммобилизационный стресс воспроизводили ежедневным помещением животных в тесные пеналы, ограничивающие подвижность животных. Длительность иммобилизации составляла 6 часов (25%) в течение 30 дней. Введение витамина А осуществлялось в дозе 10 000МЕ per os.

Для проведения светового исследования использовали фиксацию материала в 10%-ном нейтральном формалине на фосфатном буфере (рН-7,4), заливку в парафин.

Для электронной микроскопии использовали префиксацию в 2,5%-ном глутаральдегиде на 0,2 М какодилатном буфере (рН 7,4), фиксацию в 1%-ном OsO₄ и заливали в аралдит. Для обеспечения прицельного электронно-микроскопического анализа получали серийные полутонкие срезы толщиной 1-2 мкм, которые окрашивали 1%-ным раствором метиленового синего. Прицельные ультратонкие срезы толщиной 200-500 нм просматривали в электронном микроскопе Hitachi-HU-12. (Авторы приносят благодарность члену-корреспонденту РАМН, профессору Банину В.В. за помощь в проведении электронно-микроскопического исследования.)

Результаты исследования и их обсуждение. Повреждение миокарда стрессированных животных на ультраструктурном уровне проявляется повреждением митохондриального аппарата, мембранных структур и миофибрилл. Кроме того, изменения касаются также ядерного аппарата кардиомиоцитов: конденсация хроматина, инвагинации и складки ядерной оболочки. Имеются участки ее разволокнения и разрушения. Что может быть проявлением увеличения синтетической активности кардиомиоцитов. Нарушения организации миофибрилярного аппарата в основном имеют контрактильный характер, а также встречаются участки разволокнения и лизиса (рис. 1). Подобные изменения описывают в своих работах и др. исследователи (Непомнящих Л.М., 1991; Кругляков П.П., 2004) [1; 4].



Рис. 1. Ультраструктура кардиомиоцитов желудочков беспородных белых крыс на фоне хронического стресса. Участки нарушения организации миофибриллярного аппарата. Ув. 10 000.

Повреждение митохондриального аппарата заключается в основном в конденсации матрикса, гомогенизацией крист некоторых органелл, деструкцией их наружных мембран. Такие изменения можно считать необратимыми. Возможно, в результате разрушения внутренней мембраны митохондрий в саркоплазме кардиомиоцитов появляются вакуоли (рис. 2).



Рис. 2. Ультраструктура кардиомиоцитов предсердия беспородных белых крыс на фоне хронического стресса. Отек саркоплазмы, нарушение ультраструктуры митохондрий. Ув. 10 000.

Также показано расширение цистерн аппарата Гольджи и элементов саркоплазматического ретикулума. Это может быть свидетельством токсического воздействия или перегрузки мембранных органелл ионами Ca , внутриклеточная концентрация которого увеличивается при стрессорном воздействии [2; 3; 6]. Сарколемма и базальная мембрана кардиомиоцитов имеют форму аркад, что объясняется разными авторами как результат повышенной функциональной активности клетки или острой гипоксией [6]. Также подобные проявления могут быть результатом сокращения миофибрилл в кардиомиоцитах [4; 5].

Клеточные мембраны кардиомиоцитов подвергаются разрушению, что является результатом повышения скорости перекисного окисления липидов при стрессе. Умеренный внутриклеточный отек кардиомиоцитов свидетельствует о резком повышении проницаемости наружных клеточных мембран и, возможно, об их частичном разрушении под действием свободных радикалов [2; 3]. В клеточных контактах обнаруживается уплотнение примембранных компонентов *fasciae adherents* или отек саркоплазмы в области вставочных дисков, а также их гомогенизация в области *fasciae adherents*.

Реактивные изменения также касаются и сосудистого компонента миокарда. Обращает на себя внимание истончение и уплотнение или умеренный отек эндотелия

кровеносных капилляров. При проведении электронной микроскопии обнаружены складки, выросты цитоплазмы эндотелиоцитов, выступающих в просвет сосуда.

В условиях хронического стресса происходит изменение и стромального компонента миокарда: за счет интерстициального и периваскулярного отека, незначительного увеличения содержания коллагеновых волокон и клеток соединительной ткани.

В целом при сравнении изменений ультраструктуры миокарда крыс, получавших на фоне иммобилизационного стресса витамин А, выявлено частичное уменьшение деструктивного влияния. Возможно, это связано с защитой митохондрий и антиапоптозным эффектом.

При введении витамина А на фоне иммобилизационного стресса в миокарде предсердия наблюдали поврежденные кардиомиоциты. Ядро в таких клетках зачастую имело довольно глубокие складки ядерной оболочки. В ядре иногда увеличивалось количество гетерохроматина. Пикнотических и разрушающихся ядер мы не смогли обнаружить. В цитоплазме поврежденных кардиомиоцитов имелся отек. Он был более выражен в субсарколеммальной зоне, что приводило к образованию аркообразной складчатости на поверхности клетки (рис. 3).

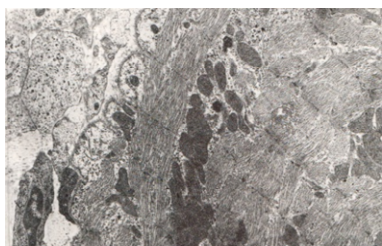


Рис. 3. Ультраструктура кардиомиоцитов желудочков беспородных белых крыс на фоне хронического стресса. Нарушение ультраструктуры базальной мембраны кардиомиоцитов. Ув. 10 000.

В глубине клетки отек развивался в меньшей степени или мог отсутствовать. В кардиомиоцитах встречалось и повреждение плазмолеммы и/или базальной мембраны. Иногда около участков повреждения сарколеммы наблюдали значительное количество эндоцитозных везикул. Нарушение структуры миофибрилл чаще всего выражалось в распаде небольшого числа миофиламентов, иногда даже частичного, например только в области телофрагмы саркомера. Основная масса митохондрий имела электронноплотный вид, из-за плотной упаковки многочисленных крист. В отдельных митохондриях разрушалась наружная мембрана и часть крист. В области некоторых вставочных дисков отмечали повреждение контактов периферической зоны.

В интерстициальном пространстве нередко наблюдали отек. Следует отметить, что мы довольно часто наблюдали капилляры, эндотелиоциты которых имели высокую

осмиофильность цитоплазмы и ядра пикнотичного вида. Иногда отмечали высокую электронную плотность цитоплазмы и у перицитов. Следует отметить и высокое содержание эндоцитозных везикул у таких клеток. Встречались и разрушающиеся сосуды с фрагментированной стенкой. Рядом с ними наблюдали фибробласты, лимфоциты и отростки соединительнотканых клеток. На некоторых участках происходило почти полное замещение клеточных компонентов интерстиция на мощные пучки волокон коллагена.

В целом при введении витамина А на фоне стресса более выражен внутриклеточный (в частности субсарколеммальный) и интерстициальный отек. В интерстиции степень повреждения капилляров несколько выше, есть разрушенные сосуды. Происходит склеротизация интерстиция.

В желудочке при введении витамина А на фоне стресса наблюдали более значительные повреждения ультраструктуры кардиомиоцитов по сравнению с предсердием. Это было справедливо в основном в отношении цитоплазматических повреждений. В то же время ядра претерпевали незначительные изменения структуры. Мы наблюдали только образование небольших инвагинаций ядерной оболочки, часто сопровождающееся некоторым увеличением количества гетерохроматина.

В клетках с признаками повреждений наблюдали участки разрушения базальной мембраны и плазмолеммы. Вероятно, поэтому очень выражен был отек под плазмолеммой. Он приводил к образованию значительных выбуханий поверхности клетки. Нередко отек сопровождался лизисом структур цитоплазмы. Зоны отека и лизиса довольно значительные по размеру отмечали и в глубине клетки. Деструкции подвергались, в первую очередь, миофибриллы. В разных клетках и/или их участках повреждения варьировали от распада нескольких миофиламентов (иногда большей части саркомера) до полной фрагментации органеллы. Митохондрии повреждались в меньшей степени. Возникновение отека чаще приводило к их сдавливанию. Митохондрии приобретали неправильную форму, иногда с глубокими инвагинациями, но при этом повреждения их структуры не происходило. Такие митохондрии выглядели очень темными, электронноплотными, с тесно прилежащими друг к другу кристами. Реже наблюдали митохондрии обычной электронной плотности с частично разрушенными кристами или содержащие вакуоли. В участках с незначительными повреждениями органелл встечались лизосомы. Они могли располагаться группами или поодиночке. Вставочные диски сохраняли типичную структуру контактов. Т-трубочки иногда были расширены в приповерхностной зоне цитоплазмы, а в глубине клетки имели обычный вид. Около Т-трубочек встречались единичные эндоцитозные везикулы.

Интерстициальный отек отсутствовал или был выражен слабо. Разрушающиеся капилляры мы не смогли обнаружить, но многие микрососуды имели электронноплотные

эндотелиоциты, содержащие «темные» ядра с высоким содержанием гетерохроматина и выраженными инвагинациями оболочки. Такие клетки содержали большое количество эндосом. Рядом с сосудами нередко располагались фибробласты, но пучки коллагеновых волокон, наблюдавшиеся в предсердии, отсутствовали (рис. 4).



Рис. 4. Ультраструктура миокарда желудочков беспородных белых крыс на фоне хронического стресса и введения витамина А. Ув. 10 000.

Таким образом, в желудочке были сильнее выражены отек и лизис компонентов цитоплазмы при сохранении структуры ядра. Наиболее сильно страдали при этом миофибриллы – могла происходить их полная фрагментация. При не очень значительных повреждениях происходила их утилизация с помощью лизосом. Интерстициальный отек практически отсутствовал, не происходила и склеротизация интерстиция.

Тем не менее результаты, полученные при введении витамина А на фоне стресса, оказались несколько неожиданными. Казалось бы, следует ожидать, что наложение двух повреждающих факторов приведет к суммации их воздействия на кардиомиоциты. Однако мы наблюдали незначительное увеличение как степени повреждений, так и количества поврежденных клеток. Вероятно, это обусловлено тем, что стресс вызывает у крыс уменьшение количества витамина А в печени, почках и яичках [8]. В физиологических дозах витамин А оказывает защитное действие при стрессах, а его недостаток усиливает повреждения, вызванные окислительным стрессом, и запускает программу уничтожения клетки [7]. Таким образом, можно предположить, что под действием стресса в миокарде произошло, с одной стороны, снижение концентрации витамина А, а с другой, уменьшение чувствительности клеток к нему, что и привело к проявлению его антистрессорных свойств.

Однако цитопротекторное влияние витамина А не смогло полностью компенсировать деструктивное влияние стресса. Об этом свидетельствуют наблюдавшиеся нами клетки, в цитоплазме которых развивался отек и отмечались участки лизиса компонентов цитоплазмы. Следует отметить тот факт, что митохондрии в таких клетках не имели повреждений структуры. Это, по-видимому, также объясняется положительным влиянием витамина А. О не полном компенсировании действия стресса свидетельствуют и повреждения компонентов интерстиция, в частности капилляров, а также наблюдавшаяся нами склеротизация интерстиция в предсердиях. Еще одним аспектом протекторного

влияния витамина А, вероятно, является его антиапоптотическая активность. В нашей работе мы не наблюдали проявления апоптотической активности в сердечной мышечной ткани при введении витамина А на фоне стресса.

Таким образом, в полученных нами данных об ультраструктуре миокарда млекопитающих в условиях стресса на фоне применения витамина А мы не выявили усугубления негативных стрессопосредованных изменений морфологии сердечной мышечной ткани. По-видимому, витамин А обладает протекторным действием, чем и вызывает уменьшение нарушений ультраструктуры кардиомиоцитов.

Список литературы

1. Кругляков П.П., Балашов В.П., Шувалова Е.Н. Ультраструктура миокарда мышей в условиях хронической гиподинамии и терапии димефосфоном // Морфологические ведомости. – 2004. - № 5. - С. 60-62.
2. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. – М. : Медицина, 1984. – 272 с.
3. Меерсон Ф.З. Первичное стрессорное повреждение миокарда и аритмическая болезнь сердца // Кардиология. – 1993. - № 5. - С 58-64.
4. Непомнящих Л.М. Морфогенез важнейших общепатологических процессов в сердце. – Сибирь: Наука, 1991. – 352 с.
5. Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Семенов Д.Е. Ультраструктурные изменения митохондрий в кардиомиоцитах при регенерационно-пластической недостаточности миокарда // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2001. - Т. 131. - № 2. - С. 218-222.
6. Серов В.В., Пауков В.С. Ультраструктурная патология. – М. : Медицина, 1975. – 432 с.
7. Korichneva I., Waka J., Hammerling U. Regulation of the cardiac mitochondrial membrane potential by retinoids // Pharmacol Exp Ther. - 2003 May; 305(2):426-33. Epub 2003 Jan 24.
8. Morita A., Nakano K. Effect of chronic immobilization stress on tissue distribution of vitamin A in rats fed a diet with adequate vitamin A // J. Nutr. - 1982 Apr; 112(4):789-95.

Рецензенты:

Федорина Т.А., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой общей патологии, ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ, г.Самара.

Ардашкин А.П., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой судебной медицины ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ, г.Самара.