

УДК 611.12:611.018:611.013:576.311.348.3

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЯКІСНИХ ЗМІН У УЛЬТРАСТРУКТУРІ ШЛУНОЧКОВОГО МІОКАРДА ЕМБРІОНІВ ЩУРІВ У НОРМІ І ПІСЛЯ ДІЇ ЕТАНОЛУ ПРОТЯГОМ 1-Ї – 28-Ї ДОБИ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗУ

Марченко Д.Г., Філімонова Л.А.

Дніпропетровська медична академія МОЗ України

У статті були порівняні якісні зміни у ультраструктурі шлуночкового міокарду ембріонів щурів контрольної групи (норма) та експериментальної (вплив етанолу) на різних етапах постнатального онтогенезу у нормі та після дії етанолу. Для даного дослідження використовувалися методи електронної мікроскопії, за допомогою яких були отримані електронні мікрофотографії. Аналіз отриманих даних, показав значні розбіжності у ультраструктурі скоротливого апарату кардіоміоцитів, протягом ранніх етапів постнатального розвитку щурів. Встановлено, що алкогольна інтоксикація включає порушення саркомерів з подальшою їх фрагментацією, дезорієнтацією актинових та міозинових ниток. Ступінь порушення ультраструктури кардіоміоцитів експериментальної групи залежив від строку постнатального розвитку.

Ключові слова: етанол, міокард, міофібрили, саркомер, скоротливий апарат.

Постановка проблеми. Інтерес науковців до проблеми пошкоджуючої дії етанолу на серце, обумовлений високою питомою вагою серцево-судинних патологій, викликаних впливом алкоголю. За допомогою експериментальної моделі та електронно-мікроскопічних досліджень можливо проаналізувати зміни, які відбуваються у ультраструктурі кардіоміоцитів на різних етапах постнатального онтогенезу. Тому, у теперішній час, значно посилюється значення електронно-мікроскопічних досліджень у діагностиці патологій серцево-судинної системи.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. За даними багатьох досліджень було встановлено, що хронічна алкогольна інтоксикація викликає зміни у міокарді на всіх рівнях його структурної організації [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12]. Перш за все, за даними R. L. Fogle, тератогенні зміни, які викликані дією етанолу, впливали на розвиток кардіоміоцитів у процесі ембріогенезу, що сприяло недорозвинутій морфології або функції серцевих клітин. J. R. L. Fogle у своїх дослідженнях показав, що у першу чергу етанол впливав на загальний вигляд серцевих м'язових клітин. Так у його статтях зазначено, що контури серцевих скоротливих кардіоміоцитів були нечіткі, їх ядра змінювали форму і ставали більш прямокутними. За його даними ядра кардіоміоцитів значно зменшувалися у розмірах та збільшувалася їх щільність. У своїх роботах автор згадував, що поблизу ядерної мембрани зустрічалася велика кількість вакуолей і мітохондрій. Іноді спостерігався фагоцитоз ядерної мембрани. Однак в основному ядерна оболонка була неушкодженою [8].

Порушення ультраструктури органел, за даними автора, була характерна майже для всіх клітин міокарда. Кількість органел зменшувалася, відбувалося їх набухання, дезорганізація їхньої внутрішньої структури та частковий лізис [10, 12]. За даними багатьох авторів міофібрили являють собою високоорганізовану структуру, котра складається з саркомерів [13, 14, 15, 16]. Дія етанолу перш за все впливає на будову цих саркомерів. Найбільші дистрофічні зміни, що спостерігалися у паренхімі міокарда щурів проявлялися у мозаїчній структурі міофібрил. У зонах «згущення» міофіламентів були слабо виражені або зникали

Z-диски. Міофібрили, як і всі органели кардіоміоцитів також мали «аномальну» будову. Залучення окремих міофібрил у патологічний процес відбувалося асинхронно. На більш пізніх етапах розвитку спостерігалось наростання деструктивних змін [4, 5, 6, 7]. У саркоплазмі кардіоміоцитів відбувалися наступні зміни: з'являлася зернистість, спостерігалась слабо виражена поперечна – посмугованість, некроз клітин. У саркомері спостерігалися наступні зміни: руйнування актинових і міозинових протофібрил, розчинення саркомерів, лізис актинових комплексів, знаходження саркомера у релаксуючому стані. Нерідко виявлявся розпад міофібрил внаслідок вогнищевого мозаїчного лізису. У локусах розрідження міофібрил виявлялися тісні міжмітохондріальні контакти округлих мітохондрій [4, 5, 9].

Сучасні дані значно полегшили розуміння механізму впливу етанолу на скоротливий апарат серця, однак, деякі моменти описані не дуже чітко і потребують більш глибоких досліджень.

Метою дослідження було порівняти зміни у ультраструктурі скоротливого апарату кардіоміоцитів щурів протягом 1-ї-14-ї доби постнатального розвитку у нормі та після впливу етанолу.

Виклад основного матеріалу дослідження. Матеріали та методи. Дослідження проведені на 33 білих щурах-самках вагою 250-300 г, що утримувались на стандартному раціоні віварію ДЗ «ДМА МОЗ України». Моделювання алкогольної інтоксикації здійснювали впродовж шести тижнів шляхом повної заміни питної води на розчин етанолу. Концентрація етанолу змінювалась кожні два тижні – 5%, 10%, 15%, 20% розчин [11]. 20% розчин надавався щурам не 2 тижня, а 4 тижня. У ході експерименту тварини були розділені на дві групи: I група – тварини, які утримувались у нормальних умовах і не отримували етанол (контроль); II група – щури, які отримували етанол у різній концентрації (експеримент). Наприкінці дослідження тварин умертвляли шляхом декапітації під тіопентал-натрієвим наркозом. Для електронно-мікроскопічних досліджень серця фіксували у 2,5-3% розчині глутаральдегіду та за стандартною схемою заливали сумішшю епоксидних смол. Проведення експерименту здійснювалось із дотриманням принципів біоетики, що викладені у Хель-

синській декларації Всесвітньої медичної асоціації про гуманне ставлення до тварин, а також згідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 15.12 2009 р. № 1759-VI та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001). Хронічну алкогольну інтоксикацію моделювали на самках щурів від 1 годин до 14-ї доби постнатального розвитку.

Ультраструктурний аналіз скоротливих кардіоміоцитів шлуночків показав, що протягом постнатального онтогенезу серця структура окремих міофібрил та елементів Т-системи в цілому значно змінювалась, як у нормі, так і після дії етанолу.

Ультраструктура міокарда новонароджених щурів була порушена при значній дії алкоголю на серцеві м'язові клітини. Міокард був розділений, як і в попередню добу, на 2 шари: компактний, який був більш виражений у цей період розвитку і представлений клітинами полігональної форми з 2-3 ядерцями; губчастий, що являв собою систему трабекул. Ці два шари були представлені невеликою кількістю клітин, іноді зі слабо вираженою посмугованістю.

Протягом 1-7 днів постнатального розвитку поряд з нормальними міофібрилами траплялася значна кількість міофібрил, які мали патологічні зміни у своїй структурі. Відбувалося порушення товщини таких «патологічних» міофібрил. У саркоплазмі кардіоміоцитів було декілька типів міофібрил, кожен з яких мав різну товщину (рис. 1).

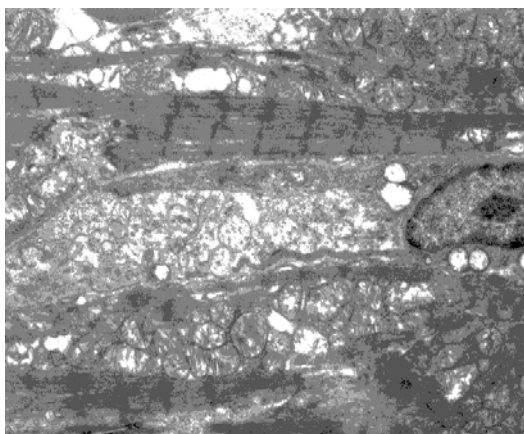


Рис. 1. Міокард щура експериментальної групи новонароджених щурів. Міофібрили з різною товщиною. Електроннограма. $\times 5000$

Міофібрили були розташовані хаотично по всій довжині кардіоміоцитів. Відбувався частковий лізис актинових та міозинових філаментів, а також саркомерів (рис. 3). При цьому відбувалася деформація Z-лінії, А- та І-дисків. Ці структури не мали чіткої форми і були слабо виражені на електроннограмі. Такі процеси не були характерні для цієї доби нормального розвитку шлуночкового міокарда (рис. 2). На відміну від норми, міофібрили експериментальних тварин поряд зі структурами, які знаходилися у нормальному скоротливому або релаксованому стані, були й ті, які перебували у надскороченому стані.

Протягом 14-28 днів постнатального розвитку, як і у більш ранньому періоді, спостерігалася значна деструкція деяких кардіоміоцитів. Ядра серцевих м'язових клітин мали різну форму. Ці зміни значно відрізнялися від норми (рис. 4). Але

до найбільших змін були схильні внутрішньоклітинні органели. На електроннограмі, як і у попередню добу розвитку, спостерігалися значні зміни у міофібрилярному апараті. Дезорієнтація міофібрил супроводжувалася майже зникненням поперечної посмугованості. Кількість міофібрил, які не мали чіткої упорядкованості значно зростала. На електронній фотографії можна було побачити міофібрили, які мали нерівномірну товщину, тобто більш товсті міозинові нитки розташовувалися поруч з більш тонкими. Однак, кількість таких міофібрил не була значною. Відбувався частковий лізис міофібрил, який призводив до того, що простір, де не було міофібрил, заповнювався гранулами і численними мітохондріями. На деяких електроннограмах можна було виявити міофібрили, які розщеплені на окремі фрагменти (рис. 5). Z-лінії «дефектних» міофібрил втрачали звичайний малюнок і мали більш зигзагоподібну форму. Для цього періоду також була характерна деформація А- та І-дисків і взагалі всього саркомера. А- та І-диски, а також М- та Н-лінії на електроннограмі були видні не дуже чітко.

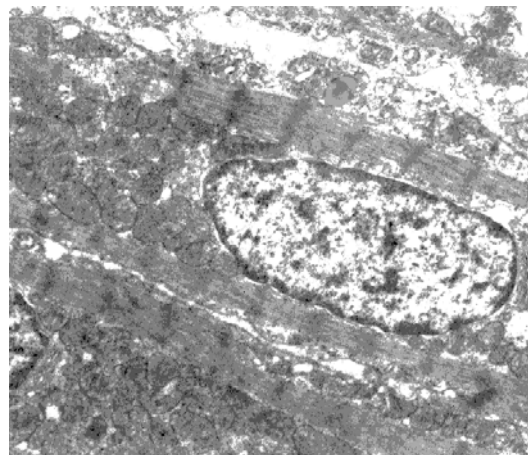


Рис. 2. Міокард щура контрольної групи на 7-у добу постнатального розвитку. Електроннограма. $\times 8000$

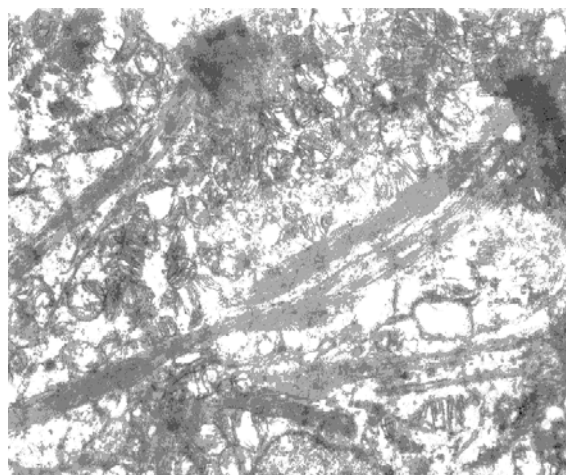


Рис. 3. Міокард щура експериментальної групи на 7-у добу постнатального розвитку. Міофібрили з частковою їх фрагментацією. Електроннограма. $\times 5000$

Протягом 14-28 днів постнатального розвитку, як і у більш ранньому періоді, спостерігалася значна деструкція деяких кардіоміоцитів. Ядра серцевих м'язових клітин мали різну форму. Ці

зміни значно відрізнялися від норми (рис. 4). Але до найбільших змін були схильні внутрішньоклітинні органели. На електронограмі, як і у попередню добу розвитку, спостерігались значні зміни у міофібрилярному апараті. Дезорієнтація міофібрил супроводжувалася майже зникненням поперечної посмугованості. Кількість міофібрил, які не мали чіткої упорядкованості значно зростала. На електронній фотографії можна було побачити міофібрили, які мали нерівномірну товщину, тобто більш товсті міозинові нитки розташовувались поруч з більш тонкими. Однак, кількість таких міофібрил не була значною. Відбувався частковий лізис міофібрил, який призводив до того, що простір, де не було міофібрил, заповнювався гранулами і численними мітохондріями. На деяких електронограмах можна було виявити міофібрили, які розщеплені на окремі фрагменти (рис. 5). Z-лінії «дефектних» міофібрил втрачали звичайний малюнок і мали більш зигзагоподібну форму. Для цього періоду також була характерна деформація А- та І-дисків і взагалі всього саркомера. А- та І-диски, а також М- та Н-лінії на електронограмі були видні не дуже чітко.

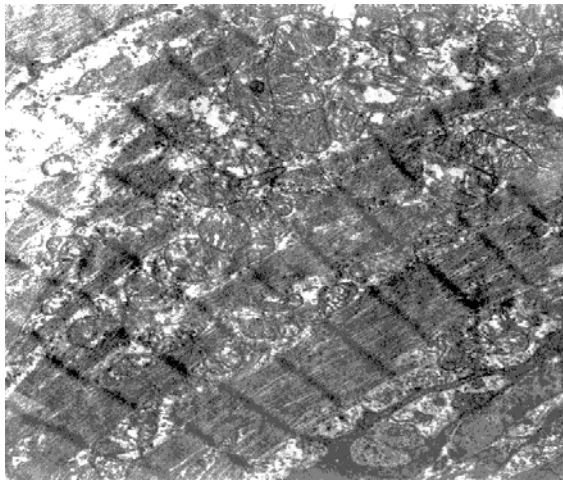


Рис. 4. Міокард щура контрольної групи на 28-у добу постнатального розвитку. Електронограма. $\times 8000$

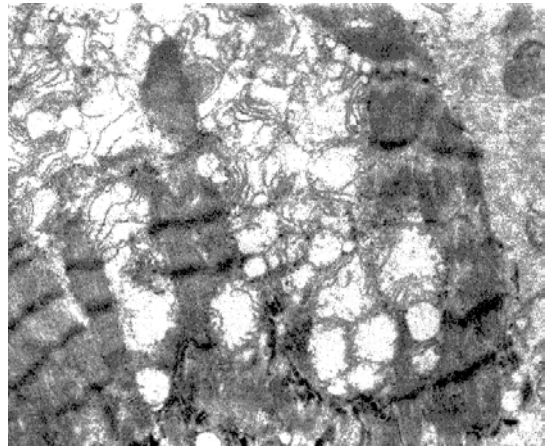


Рис. 5. Міокард щура експериментальної групи на 28-у добу постнатального розвитку. Розщеплення міофібрил на окремі фрагменти. Електронограма. $\times 5000$

Ультраструктура саркомерів після дії етанолу на міокард шлуночків щурів значно порушена у ділянках телофрагми і супроводжується значним зниженням скоротливої функції кардіоміоцитів. За нашими даними це явище можливо тому, що етанол перш за все впливає на α -актінін, що входить до складу телофрагми.

Висновки. Аналіз електронних мікрофотографій шлуночкового міокарда показав, що етанол впливає майже на всі кардіоміоцити серця, викликаючи значні деструктивні зміни. За даними наших досліджень у багатьох районах серця визначалися дефектні міофібрили, які складалися з невеликих блоків одного або двох саркомерів. Ці явища не були характерні для нормального розвитку. Тобто етанол спричинив зміни у міофібрилярному апараті кардіоміоцитів, що викликало порушення скорочення серцевої м'язової тканини.

Перспективи подальших розробок пов'язані з вивченням елементів Т- та L-системи на різних етапах онтогенезу.

Список літератури:

1. Власов А. И. Электронная микроскопия: учеб. пособие / А. И. Власов, К. А. Елсуков, И. А. Косолапов. – М.: Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2011. – 168 с.
2. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / [Б. Уикли]; под. ред. В. Ю. Полякова; пер. с англ. И. В. Викторова. – 1996. – М.: Мир, 1975. – 336 с.
3. Устройство и принцип работы просвечивающего электронного микроскопа: Электронное учебно-методическое пособие / Бобров А. И. [и др.]; под. ред. Д. А. Павлова. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2012. – 31 с.
4. Alcohol and myocarditis / A. Wilke [et al.] // Herz. – 1996. – Vol. 21, № 4. – P. 248-257.
5. Alcohol and the heart / L. D. Segel [et al.] // Med Clin North Am. – 1984. – Vol. 68, № 1. – P. 147-161.
6. Alcoholic cardiomyopathy / G. Guzzo-Merello [et al.] // World J Cardiol. – 2014. – Vol. 6, № 8. – P. 771-781.
7. Davidson D. M. Cardiovascular Effects of Alcohol // The Western Journal of Medicine. – 1989. – Vol. 151. – P. 430-439.
8. Impact of chronic alcohol ingestion on cardiac muscle protein expression / R. L. Fogle [et al.] // Alcohol Clin Exp Res. – 2010. – Vol. 34, № 7. – P. 1226-1234.
9. James T. N. Effects of ethanol and acetaldehyde on the heart / T. N. James, E. S. Bear // American heart journal. – 1967. – Vol. 74, № 2. – P. 243-255.
10. Kamran K. Ethanol vapour induced dilated cardiomyopathy in chick embryos / K. Kamran, M. Y. Khan, L. A. Minhas // J Pak Med Assoc. – 2013. – Vol. 63, № 9. – P. 1084-1088.
11. Knapp D. J. Models of chronic alcohol exposure and dependence / D. J. Knapp, G. R. Breese // Methods Mol Biol. – 2012. – Vol. 829. – P. 205-230.
12. Milhomme D. [Alcoholic cardiomyopathy. How does the heart react to alcohol abuse?] // Perspect Infirm. – 2012. – Vol. 9, № 5. – P. 30-34.

13. Molecular mechanisms of myofibril assembly in heart / D. Auerbach [et al.] // Cell Struct Funct. – 1997. – Vol. 22, № 1. – P. 139-146.
14. Morimoto S. Sarcomeric proteins and inherited cardiomyocytes / S. Morimoto // Cardiovascular Research. – 2008. – Vol. 77. – P. 659-666.
15. Myofibrillogenesis in the developing chicken heart: assembly of Z-disk, M-line and the thick filaments / E. Ehler [et al.] // J. Cell Sci. – 1991. – Vol. 112. – P. 1529-1539.
16. Myofibrillogenesis visualized in living embryonic cardiomyocytes / G. A. Dabiri [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1997. – Vol. 16. – P. 9493-9498.

Марченко Д.Г., Филимонова Л.А.

Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В УЛЬТРАСТРУКТУРЕ МИОКАРДА ЖЕЛУДОЧКОВ ЭМБРИОНОВ КРЫС В НОРМЕ И ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ЭТАНОЛА В ТЕЧЕНИЕ 1-х – 28-х СУТОК ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Аннотация

В статье были сравнены качественные изменения в ультраструктуре миокарда желудочков эмбрионов крыс контрольной группы (норма) и экспериментальной (влияние этанола) на ранних этапах постнатального онтогенеза в норме и после действия этанола. Для данного исследования использовались методы электронной микроскопии, с помощью которых были получены электронными микрофотографии. Анализ полученных данных показал значительные различия в ультраструктуре сократительного аппарата кардиомиоцитов в течение разных сроков постнатального развития крыс. Установлено, что алкогольная интоксикация включает нарушения саркомеров с последующей их фрагментацией, дезориентацией актиновых и миозиновых нитей. Степень нарушения ультраструктуры кардиомиоцитов экспериментальной группы зависит от сроков постнатального развития.

Ключевые слова: этанол, миокард, миофибриллы, саркомер, сократительный аппарат.

Marchenko D.G., Filimonova L.A.

Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF QUALITATIVE CHANGES IN ULTRASTRUCTURES OF MYOCARDIAL EMBRYOS OF RATS IN NORMAL AND AFTER THE EFFECT OF ETHANOL IN DURING 1TH – 28TH DAY OF POSTNOTAL ONTOGENESIS

Summary

Qualitative changes in the ultrastructure of the ventricular myocardium of the embryos of the control group (normal) and the experimental (effect of ethanol) on the various stages of postnatal ontogenesis in normal and after the action of ethanol were compared in the article. For this study, methods of electron microscopy were used, with the help of which electronic micrographs were obtained. The analysis of the data showed significant differences in the ultrastructure of the contractile apparatus of cardiomyocytes during the early stages of postnatal feeding of rats. It has been established that alcoholic andoxication involves the contraction of sarcomers with subsequent fragmentation, disorientation of actin and myosin threads. The degree of violation of the ultrastructure of the cardiomyocytes of the experimental group depended on the period of postnatal development.

Keywords: ethanol, myocardium, myofibrils, sarcomer, the contractile apparatus.