

С.В.Козлов¹
А.Е.Маевский²
В.Д.Мишалов³
О.Н.Сулаева⁴

¹ ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

² Винницкий национальный медицинский университет имени М.И.Пирогова

³ Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л.Шупика, Киев

⁴ Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: крысы, миокард, митохондрии, митохондриом.

Надійшла: 10.11.2014

Прийнята: 13.12.2014

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2014.4.37-42>

УДК 611.11:611.018:611.013

ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИОМА СОКРАТИТЕЛЬНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС НА ЭТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы «Структурные перестройки компонентов сердечно-сосудистой системы в условиях ее нормального и аномального гистогенеза у человека и экспериментальных животных» (номер государственной регистрации 0111U006621).

Резюме. Проведён количественный и качественный анализ формирования митохондриома сократительных кардиомиоцитов желудочкового миокарда крыс на этапах постнатального онтогенеза в норме. Показано, что с 1-го по 5-й день наблюдается достоверное увеличение удельного объёма митохондрий, которое сопровождается усложнением ультраструктурной организации оргanelл. После 20-го дня постнатального онтогенеза структура митохондриома приближается к дефинитивному состоянию и на 30-й день не отличается от зрелого миокарда.

Morphologia. – 2014. – Т. 8, № 4. – С. 37-42.

© С.В.Козлов, А.Е.Маевский, В.Д.Мишалов, О.Н.Сулаева, 2014

Kozlov S.V., Mayevsky A.E., Mishalov V.D., Sulayeva O.N. Changes of mitochondria in the contractile cardiomyocytes during postnatal rat ontogenesis.

ABSTRACT. Background. CVDs are the number 1 cause of death globally: more people die annually from CVDs than from any other cause. An estimated 17.5 million people died from CVDs in 2012, representing 31% of all global deaths. Of these deaths, an estimated 7.4 million were due to coronary heart disease and 6.7 million were due to stroke. Over three quarters of CVD deaths take place in low- and middle-income countries. **Objective.** Ultrastructural analysis of mitochondria in the rat contractile cardiomyocytes during postnatal ontogenesis. **Methods.** As the object of the study were used neonatal rat hearts, on the 5th, 10th, 15th, 30th days of life and mature animals. Hearts were investigated by the transmission electron microscopy. Volume density and numerical density of mitochondria were estimated. The Paired Student's t-test was applied. **Results.** Was conducted a comprehensive ultrastructural analysis of mitochondria contractile cardiomyocytes, which allowed us to determine changes in the qualitative and quantitative parameters of mitochondria during postnatal ontogenesis, and helps to explain the dynamics and the development of mitochondria heart muscles cells after birth. **Conclusion.** It was shown that from the 1st to the 5th day there was a significant increase in volume density of mitochondria, which was accompanied by the increasing complexity of the ultrastructural organization of organelles. Following 20th day of postnatal ontogenesis mitochondrial structure was approaching the definitive condition and on the 30th day was the same as the mature myocardium.

Key words: rat, myocardium, mitochondria, mitochondrion.

Citation:

Kozlov SV, Mayevsky AE, Mishalov VD, Sulayeva ON. [Changes of mitochondria in the contractile cardiomyocytes during postnatal rat ontogenesis]. *Morphologia*. 2014;8(4):37-42. Russian.

Введение

Сердечно сосудистые заболевания (ССЗ) занимают лидирующее место среди причин смерти в мире. По оценкам ВОЗ, в 2012 году от ССЗ умерло 17,5 миллионов человек, что составило 31% всех случаев смерти в мире. Более 75% случаев летального исхода от ССЗ наблюдается в странах с низким и средним уровнем дохода [1]. Несмотря на различия в структуре ССЗ и основных причин смерти детей и взрослых, очевидно,

что формирование взрослых типов патологии часто начинается ещё в детском возрасте. Возрастание заболеваемости и смертности вследствие сердечной патологии обуславливает актуальность изучения вопросов ранней диагностики и лечения заболеваний сердца, оценки прогноза у детей, а успех профилактических программ напрямую зависит от ранней их реализации [2].

Функционирование сердца сопровождается потреблением большого количества энергии.

Известно, что более 30% всего объема сократительного кардиомиоцита занимают митохондрии, работа которых и обеспечивает необходимый энергетический уровень для нормальной сократительной функции сердечной ткани [3]. Кроме своей фундаментальной роли в энергетическом метаболизме митохондрии участвуют в гомеостазе кальция, механизмах апоптоза и старении клетки.

Митохондриом зрелого кардиомиоцита представлен целостной взаимосвязанной системой, которая динамически реагирует на энергетические потребности клетки. Это касается не только формы митохондрий, расположения, размеров и количества, но и, особенно, внутренней ультраструктурной организации. Изменения функциональной нагрузки на митохондрии приводит к трансформациям внешней и особенно внутренней мембраны митохондрий, что отражается на интенсивности синтеза АТФ [4]. При этом функциональный и ультраструктурный профили митохондрий различных зон кардиомиоцита являются определяющими звеньями в реализации альтернативных и компенсаторно-адаптивных процессов [5].

Развитие кардиомиоцитов после рождения в норме сопровождается дальнейшими процессами глубокой реорганизации ультраструктур клетки, что включает количественные и качественные трансформации в митохондриоме. Это обуславливает необходимость принимать во внимание особенности митохондриогенеза при интерпретации данных ультраструктурных исследований сердца в разных возрастных группах.

Цель данного исследования заключается в ультраструктурном анализе митохондрий сократительных кардиомиоцитов желудочкового миокарда крыс на этапах постнатального онтогенеза.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования были использованы сердца крысят новорожденных, на 5-й, 10-й, 15-й, 30-й день жизни и зрелых животных. Исследование проведено в соответствии с законодательством Украины (Закон Украины «О защите животных от жестокого обращения» от 15.12.2009 года № 1759-VI), правил Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных исследованиях.

Ультраструктурное исследование митохондриома сократительных кардиомиоцитов желудочков крыс проводили согласно общепринятым методам электронной микроскопии [6], с помощью трансмиссионного электронного микроскопа ПЭМ 100-01 («SELMi», Украина) при ускоряющем напряжении 75-85 кВ и первичных увеличениях от 1500 до 80000.

Для количественной оценки ультраструктурных изменений определяли удельный объем и

удельное количество митохондрий в сократительных кардиомиоцитах желудочков крыс. Определение достоверности различий между выборками проводили с учетом парного t-критерия Стьюдента. При проведении статистической обработки полученных квантифицированных результатов все необходимые расчеты выполняли с помощью лицензионной программы Statistica (версия 6.1; серийный номер AGAR 909 E415822FA).

Результаты и их обсуждение

Исследование миокарда новорожденных крысят показало преобладание двухъядерных кардиомиоцитов. Значительное количество клеток содержало умеренно сформированные миофибриллы, ориентированные вдоль продольной оси клетки и локализованные в различных зонах саркоплазмы кардиомиоцита. В цитоплазме определялись многочисленные митохондрии, расположенные неравномерно (рис. 1).

Некоторые участки кардиомиоцита содержали небольшое количество митохондрий, другие – были представлены скоплениями органелл. Они образовывали группы возле ядер, между миофибрилл и в периферических зонах под сарколеммой. Удельный объем митохондрий не превышал $20,8 \pm 2,6\%$.

Органеллы характеризовались разнообразием форм, размеров и ультраструктуры крист. Встречались небольшие митохондрии сферической формы со слабо развитыми кристами и органеллы большего размера эллиптической формы с хорошо сформированными ориентированными кристами и плотным матриксом.

С 1-го по 5-й день мы наблюдали существенные изменения в ультраструктуре сократительных кардиомиоцитов, что проявлялось в дальнейшем умеренном формировании миофибрилл и значительном нарастании удельного объема митохондрий. Прирост показателя составлял 35,6%. При этом удельное количество органелл характеризовалось стабильностью значений. Такая динамика параметров отражала процессы формирования митохондриома, свидетельствующие об увеличении объема отдельных органелл на фоне стабильных темпов их деления.

Ультраструктурный анализ электронограмм на 5-й день постнатального онтогенеза показал наличие митохондрий преимущественно представленных органеллами различного размера, с плотно упакованными ориентированными ламеллярными кристами и электронноплотным матриксом. Митохондрии располагались в различных зонах клетки, образуя значительные скопления полиморфных органелл возле ядер (рис. 2). Удельный объем митохондрий в кардиомиоцитах составлял $28,2 \pm 2,1\%$ (рис. 3).

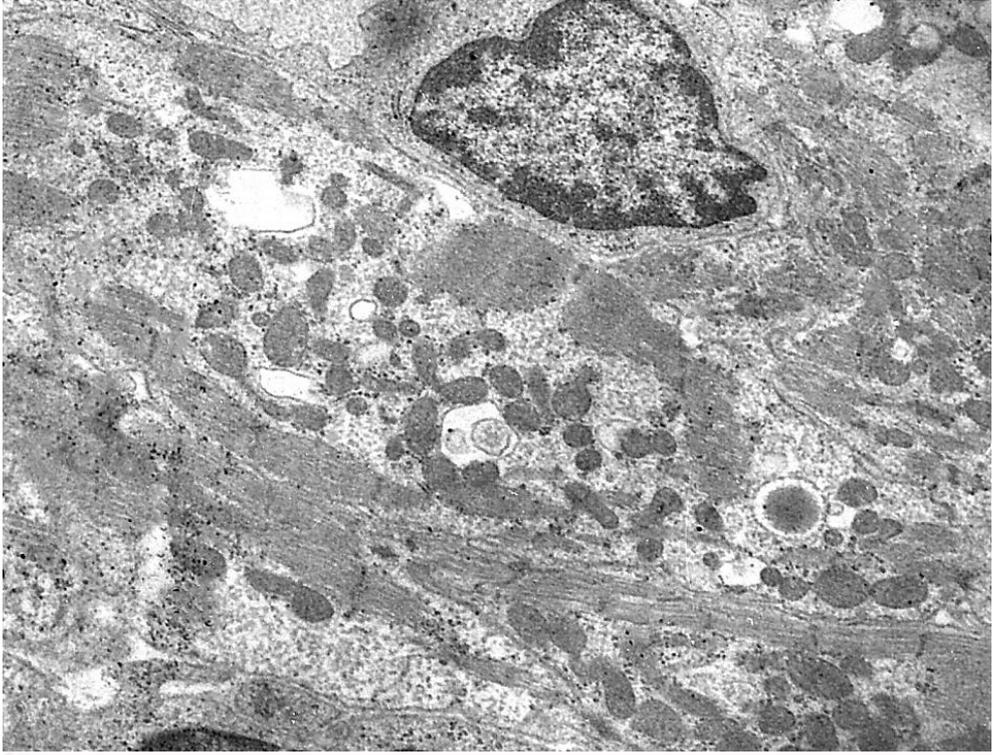


Рис. 1. Миокард левого желудочка крысы в норме на 1-й день постнатального онтогенеза. Электронограмма. ×5000.

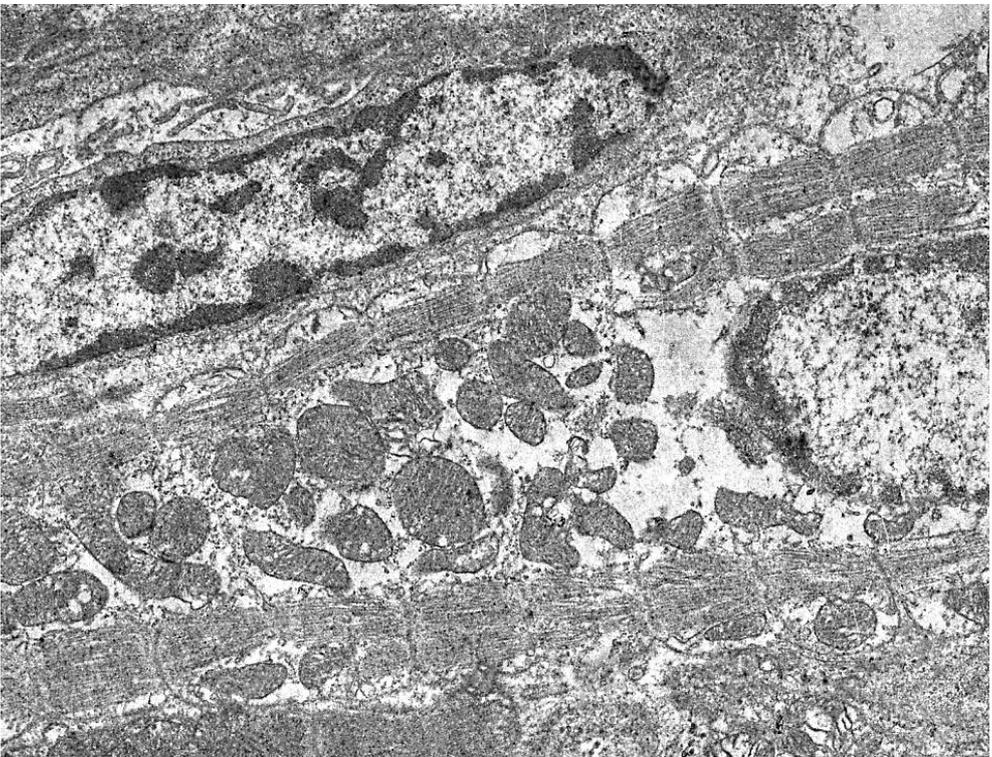


Рис. 3. Миокард левого желудочка крысы в норме на 5-й день постнатального онтогенеза. Электронограмма. ×7000.

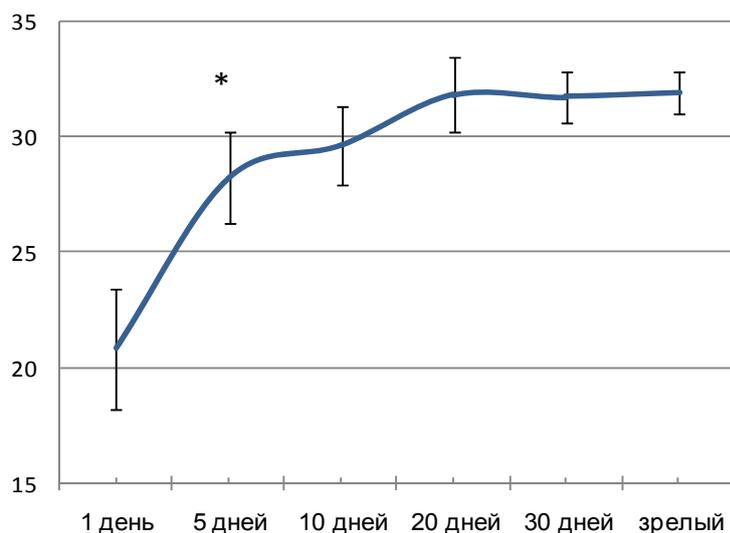


Рис. 2. Динамика изменений удельного объёма (%) митохондрий в кардиомиоцитах левого желудочка. Постнатальный онтогенез. Отметка «*» указывает на достоверное отличие по сравнению с предыдущим исследуемым сроком развития ($p < 0,05$).

При электронно-микроскопическом исследовании миокарда крыс на 10-й день жизни отмечено развитие миофибрилярного компонента. Равномерно расположенные чётко ориентированные миофибриллы заполняли значительный объём кардиомиоцита. Митохондрии правильно располагались в виде столбиков между пучками миофибрилл. Они содержали ориентированные ламеллярные кристы и плотный матрикс. В зонах вблизи ядер скапливались хаотично расположенные органеллы небольшого размера со слабо сформированными кристами и сниженной плотности матрикса.

После 20-го дня жизни удельный объём ми-

тохондрий достигал значений характерных для зрелого миокарда, а параметры удельного количества митохондрий значительно снижались по сравнению с данными новорождённых крысят (рис. 4). Ультраструктура митохондрий усложнялась, про что свидетельствовало усиление ориентированности и плотности митохондриальных крист. В саркоплазме кардиомиоцитов чётко определялась зональность расположения комплексов митохондрий возле ядер, между миофибрилл и под сарколеммой. Митохондрии имели вытянутую форму. Между пучками миофибрилл ориентация их длинной оси соответствовала направлению саркомеров.

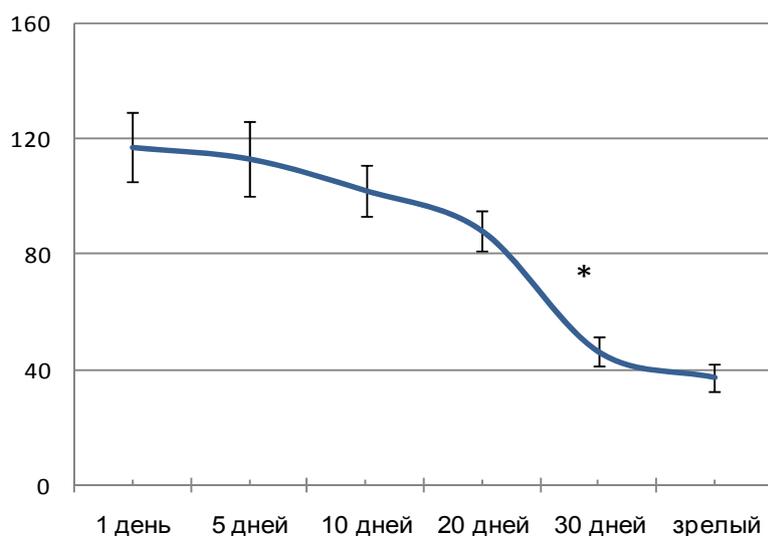


Рис. 4. Динамика изменений удельного количества митохондрий в кардиомиоцитах левого желудочка ($\times 10^{-2}$ / μm^3). Постнатальный онтогенез. Отметка «*» указывает на достоверное отличие по сравнению с предыдущим исследуемым сроком развития ($p < 0,05$).

Исследование показало, что митохондриом сократительных кардиомиоцитов, сформированный к 30-у дню жизни (рис. 5), соответствовал дефинитивному состоянию и, в целом, не отли-

чался зрелого миокарда. Удельный объем митохондрий составлял $31,7 \pm 1,1\%$, удельное количество – $46 \pm 4 \times 10^{-2} / \text{мкм}^3$.

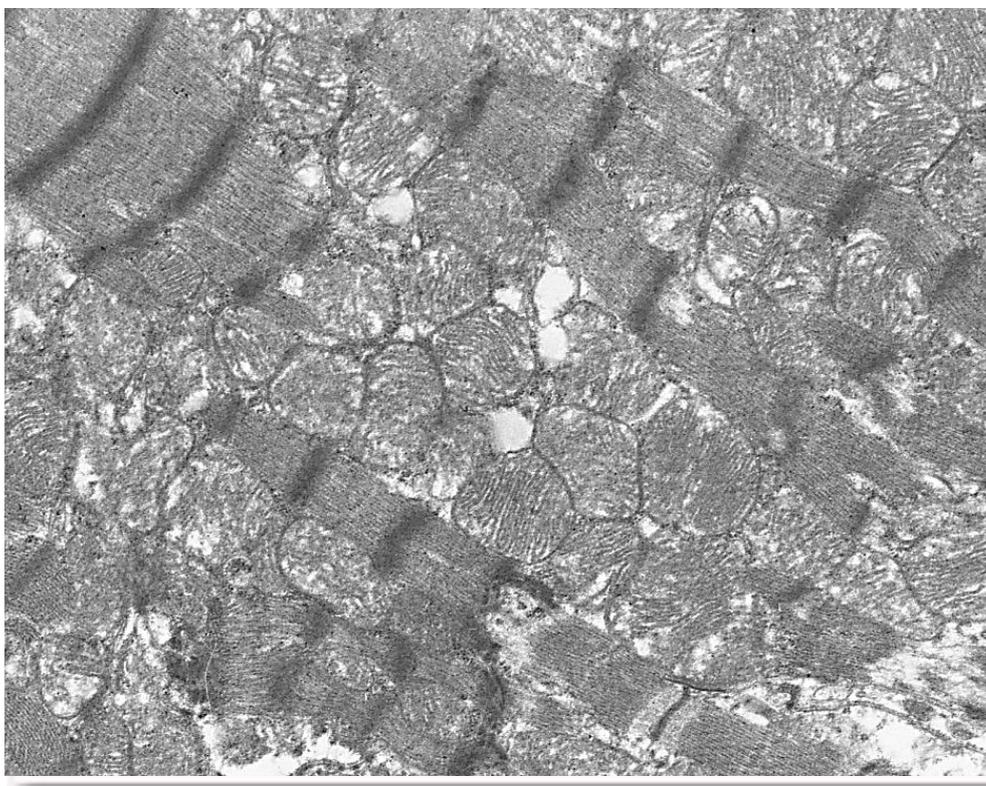


Рис. 5. Миокард левого желудочка крысы в норме на 30-й день постнатального онтогенеза. Электронограмма. $\times 10000$.

Митохондрии были овально-удлиненной формы, размеры их варьировали в зависимости от локализации в клетке. Наибольшего размера определялись митохондрии в зонах между пучками миофибрилл, наименьшего – возле ядер. Органеллы имели параллельно ориентированные ламеллярные кристы и умеренной плотности матрикс.

Заключение

Таким образом, проведение комплексного ультраструктурного анализа митохондриома со-

кратительных кардиомиоцитов позволило определить изменения качественных и количественных параметров митохондриома на этапах постнатального онтогенеза, что в целом позволяет объяснить динамику процессов митохондриогенеза у крыс после рождения.

Перспективы дальнейших разработок связаны с анализом характера формирования митохондрий сократительных кардиомиоцитов желудочкового миокарда крыс на этапах пренатального онтогенеза.

Литературные источники References

1. World Health Organisation. Cardiovascular diseases (CVDs), fact sheet № 317, updated January 2015. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/> Last accessed February 2015.
2. Allemand-Jander LD. Clinical diagnosis of metabolic and cardiovascular risks in overweight children: early development of chronic diseases in the obese child. *Int J Obes (Lond)* 2010;34(Suppl

2):S32–S36. doi: 10.1038/ijo.2010.237.

3. Porter GA Jr, Hom J, Hoffman D, Quintanilla R, de Mesy Bentley K, et al. Bioenergetics, mitochondria, and cardiac myocyte differentiation. *Prog Pediatr Cardiol*. 2011;31:75–81.

4. Doenst T, Nguyen TD, Abel DE. Cardiac metabolism in heart failure. *Circ Res*. 2013;113:709–724.

5. Kuznetsov AV, Margreiter R. Heterogeneity of mitochondria and mitochondrial function within cells as another level of mitochondrial complexity. *Int J Mol Sci.* 2009;10:1911–1929.

6. Mironov AA, Komissarchik YuYa, Mironov

VA. *Metodyi elektronnoy mikroskopii v biologii i meditsine: Metodicheskoe rukovodstvo.* [Electron microscopy methods in biology and medicine : Methodological Guide]. St. Petersburg: Science; 1994. 400 p. Russian.

Козлов С.В., Маєвський О.Є., Мішалов В.Д., Сулаєва О.М. Зміни мітохондріома скоротливих кардіоміоцитів щура на етапах постнатального онтогенезу.

Резюме. Проведено кількісний і якісний аналіз формування мітохондріома скоротливих кардіоміоцитів на етапах постнатального онтогенезу в нормі. Показано, що від 1-го до 5-го дня спостерігається достовірне збільшення питомого об'єму мітохондрій, яке супроводжується ускладненням ультраструктурної організації органел. Після 20-го дня постнатального онтогенезу структура мітохондріома наближається до дефінітивного стану і на 30-й день не відрізняється від зрілого міокарда.

Ключові слова: щури, міокард, мітохондрії, мітохондрія.