Я.І. Юрик
О.Є. Кузів
І.І. Юрик

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
Тернопіль, Україна

Надійшла: 11.09.2023
Прийнята: 05.10.2023

DOI: https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.3.140-146

УДК 611.127-018.6-02:616/748.5-007.271:543.645.6]-092.9

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ СЕКРЕТОРНИХ КАРДІОМІОЦИТІВ В РАННЬОМУ ПОСТКОМПРЕСІЙНОМУ ПЕРІОДІ СИНДРОМУ ТРИВАЛОГО СТИСНЕННЯ

Yuryk Ya.I. ✉, Kuziv O.E., Yuryk I.I. Submicroscopic changes of secretory cardiomyocytes in the early postcompression period of crush syndrome.
I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Crush syndrome is manifested by the activation of the pituitary-hypothalamic-adrenal system, what is confirmed by a significant increase in the blood levels of catecholamines, cortisol and corticosterone. Its antagonist is the atrial natriuretic peptide, which is synthesized by the myoendocrine cells of the heart, but the question of its participation in the implementation of the adaptation syndrome under the conditions of the postcompression period of crush syndrome remains unresolved. **Objective:** to establish submicroscopic changes atrial myoendocrynocytes in the early postcompression period of crush syndrome. **Methods.** The study was conducted on 24 white male laboratory rats weighing 240–270 grams. The experimental group consisted of 16 animals, divided into 2 to 8 animals each, which were removed from the experiment after 1 and 3 days. The control group included 8 intact male rats. Crush syndrome was simulated by compression the soft tissues of the thigh of the right pelvic extremity. Analgesia was performed by intraperitoneal injection of ketamine hydrochloride (100 mg/kg of body weight), the compression force was 7 kg/cm^2, the area of the compressive surface – 5 cm^2 for 6 hours. The withdrawal of experimental animals from the experiment was performed by bloodletting after intraperitoneal injection of sodium thiopental. Ultrathin tissue sections of the right and left auricles of the heart were studied using a PEM – 125 K electron microscope. **Results.** 1 day after decompression a submicroscopic examination of the auricles of the heart revealed a significant increase the number of secretory granules, among which mature and diffusing types predominated, which were localized in large groups in the paranuclear zone, as well as between mitochondria, myofibrils and near the endotheliocytes of hemocapilaries. After 3 days of the study destructive changes in the nuclei, energy, contractile and secretory apparatuses of myoendocrinocytes, young and diffusing secretory granules were rarely found**. Conclusion.** In the early postcompression period of crush syndrome 1 day after decompression hyperplasia of mature and diffusing secretory granules occurs in the myoendocrinocytes of the auricles of experimental rats, which is a morphological manifestation of the accumulation and secretion of atrial natriuretic peptide and significant decrease the number of secretory granules, alterative changes in the myoendocrinocytes of the heart after 3 days of the study, which indicates suppression endocrine function of the heart.
Key words: heart, myocardium, myoendocrinocytes of the auricles of the heart.

Citation:
Yuryk YaI, Kuziv OE, Yuryk II. [Submicroscopic changes of secretory cardiomyocytes in the early postcompression period of crush syndrome]. Morphologia. 2023;17(3):140-6. Ukrainian.
DOI: https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.3.140-146

Yuryk Ya.I. 0000-0001-5097-6667
Kuziv O.E. 0000-0001-6185-928X
Yuryk I.I. 0000-0002-0008-6276
✉ yuryk@tdmu.edu.ua
© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Синдром тривалого стиснення (СТС) викликає активацію гіпофізарно-гіпоталамо-наднирникової системи, що проявляється значним зростанням в крові рівнів катехоламінів, кортизолу та кортикостерону. Її антагоністом є передсердний натрійуретичний пептид (ПНУП), який синтезується міоендокриноцитами передсердь серця. ПНУП приймає участь в регуляції багатьох фізіологічних і патофізіологічних процесів. Так, його рівень змінюється при серцевій недостатності, гіпертензії, дефіцит ПНУП сприяє де-

цидуалізації ендометрія та ремоделюванню спіральних артерій, що є причиною розвитку прееклампсії [1, 2. 3].

Останнім часом увага вчених звернена до вивчення ролі ПНУП за гострої ниркової недостатності, легеневого серця, цукрового діабету, опікової травми, але невирішеним залишається його роль у розвитку адаптаційного синдрому у посткомпресійному періоді СТС [4. 5].

Мета дослідження – встановити субмікроскопічні зміни міоендокриноцитів передсердь у ранньому посткомпресійному періоді синдрому тривалого стиснення.

Матеріали і методи

Дослідження проведено на 24 білих лабораторних щурах-самцях масою 240–270 грам. Експериментальну групу склали 16 тварин, розподілених на 2 по 8 тварин у кожній, яких виводили з експерименту через 1 та 3 доби. В контрольну групу входило 8 інтактних щурів-самців.

СТС моделювали шляхом стискання м'яких тканин стегна правої тазової кінцівки. Знеболення проводили шляхом внутрішньо-очеревинного введення кетаміну гідрохлориду (100 мг/кг маси тіла), сила компресії становила 7 кг/см^2 на 5 см^2 протягом 6 годин. Виведення піддослідних тварин з експерименту здійснювали шляхом кровопускання після внутрішньо-очеревинного введення тіопенталу натрію у дозі 50 мг/кг. Для електронно-мікроскопічного дослідження забирали шматочки передсердь та вушок серця. Для фіксації використовували забуферний 2,5 % розчин глютаральдегіду, а після фіксації піддослідний матеріал гострим лезом ділили на частинки розмірами до 1 мм^{3}та промивали у трьох порціях 0,1 молярного фосфатного буфера. Повторно проводили фіксацію у 2 % розчині чотириокису осмію протягом 2 годин. Після цього тканини серця повторно промивали в трьох порціях 0,1 молярного фосфатного буфера по 10 хвилин і зневоднювали в серії спиртів та абсолютному ацетоні. Підготовлені тканини заливали в суміш епону 812 і аралдиту. Виготовляли ультратонкі зрізи на мікротомі та забарвлювали їх 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю згідно методу Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К [6].

Утримання щурів і експеримент виконані відповідно до вимог "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986), правил поводження з експериментальними тваринами згідно з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [7].

Результати та їх обговорення

Субмікроскопічне дослідження міокарда вушка серця інтактних щурів засвідчило, що міоендокриноцити містять у цитоплазмі осміофільні, різні за величиною та будовою секреторні гранули, які переважно локалізуються біля одного із полюсів ядра та контактують із цистернами пластинчастого комплексу Гольджі (рис. 1).

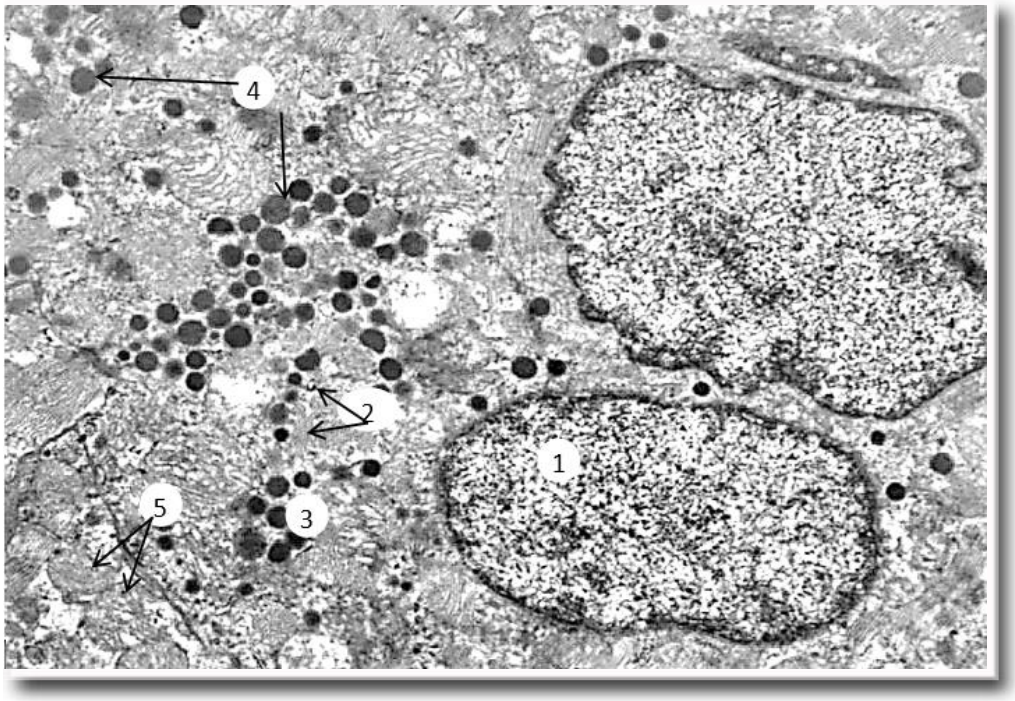

Рис. 1. Фрагмент міоцита правого вушка серця інтактного щура. Електронна мікрофотографія. ×13000. 1 – ядро, 2 – секреторні гранули 1 типу, 3 – секреторні гранули 2 типу, 4 – секреторні гранули 3 типу, 5 – мітохондрії.

Відповідно до стадій секреторного процесу розрізняли три типи гранул: перший – молоді, другий – зрілі та гранули третього типу – дифундуючі. Дрібні гранули з тонкозернистим щільним матриксом і світлою облямівкою під мембраною ідентифікуються як молоді, крупні гранули з електроннощільним гомогенним матриксом без облямівки – як зрілі, а дифундуючі гранули відрізнялися розмитими контурами без цілісної мембрани та матриксом меншої щільності [4, 5].

У ранньому посткомпресійному періоді СТС через 1 добу виявляли гетерогенні зміни органел ендокринних кардіоміоцитів (рис. 2).

Так, привертало увагу різке збільшення чисельності секреторних гранул, серед яких переважали зрілі та дифундуючі, які великими групами локалізувалися в парануклеарній зоні (рис. 2), а також між мітохондріями, міофібрилами та біля ендотеліоцитів гемокапілярів.

Ядра міоендокриноцитів зберігали округлу форму, каріолема яких утворювала чисельні інвагінації різної глибини. В каріоплазмі переважав еухроматин, гетерохроматин дрібними грудками лягав вздовж внутрішнього листка каріолеми, ядерце невелике щільної будови знаходилось в центрі каріоплазми. Чітко контурувались ядерні пори.

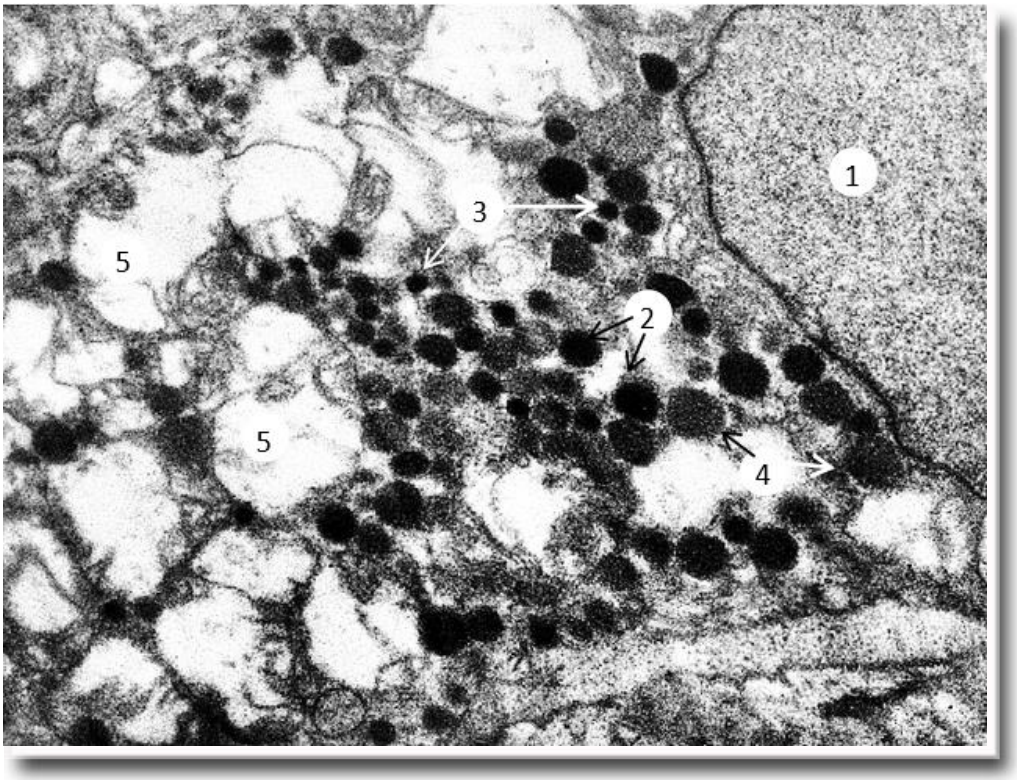

Рис. 2. Фрагмент міоцита правого вушка серця щура через 1 добу у ранньому посткомпресійному періоді СТС. Електронна мікрофотографія. ×22000. 1 – ядро, 2 – зрілі секреторні гранули, 3 – молоді секреторні гранули, 4 – дифундуючі секреторні гранули, 5 – мітохондрії.

Більшість міофібрил зберігали паралельну орієнтацію. Проте, виявляли міофібрили з нерівномірними саркомерами та порушенням їх впорядкованого розташуванням за контрактурним типом, що проявлялось зближенням анізотропних дисків і вкороченням саркомерів. Канальці ендоплазматичного ретикулуму різко розширені, вакуолізовані, в окремих ділянках фрагментовані. Структурні компоненти пластинчастого комплексу значно гіперплазовані, а його вакуолі та цистерни виявлялись не тільки біля ядра, а між міофібрилами та під сарколемою (рис. 3).

Електронномікроскопічні дослідження вушок серця експериментальних тварин через 3 доби у ранньому посткомпресійному періоді СТС показали наростання деструктивних змін в ядрах, енергетичному, скоротливому та секреторному апаратах міоендокриноцитів, обумовлених порушеннями кровоплину та гематоцелюлярного бар'єру. Так, у експериментальних щурів у вушках серця спостерігали різке зменшення усіх типів секреторних гранул проти попереднього терміну дослідження. Необхідно зазначити, що серед гранул виявляли зрілі, які локалізувались між мітохондріями та міофібрилами міоендокриноцитів, рідко зустрічались молоді та дифундуючі секреторні гранули (рис. 4). Субмікроскопічні зміни в ядрах інкреторних кардіоміоцитів характеризувались наростанням вмісту гетерохроматину, який крупними грудка-

ми лягав не тільки вздовж внутрішнього листка каріолеми, а по всій нуклеоплазмі, що створювало її плямистий рисунок і свідчило про розвиток каріопікнозу.

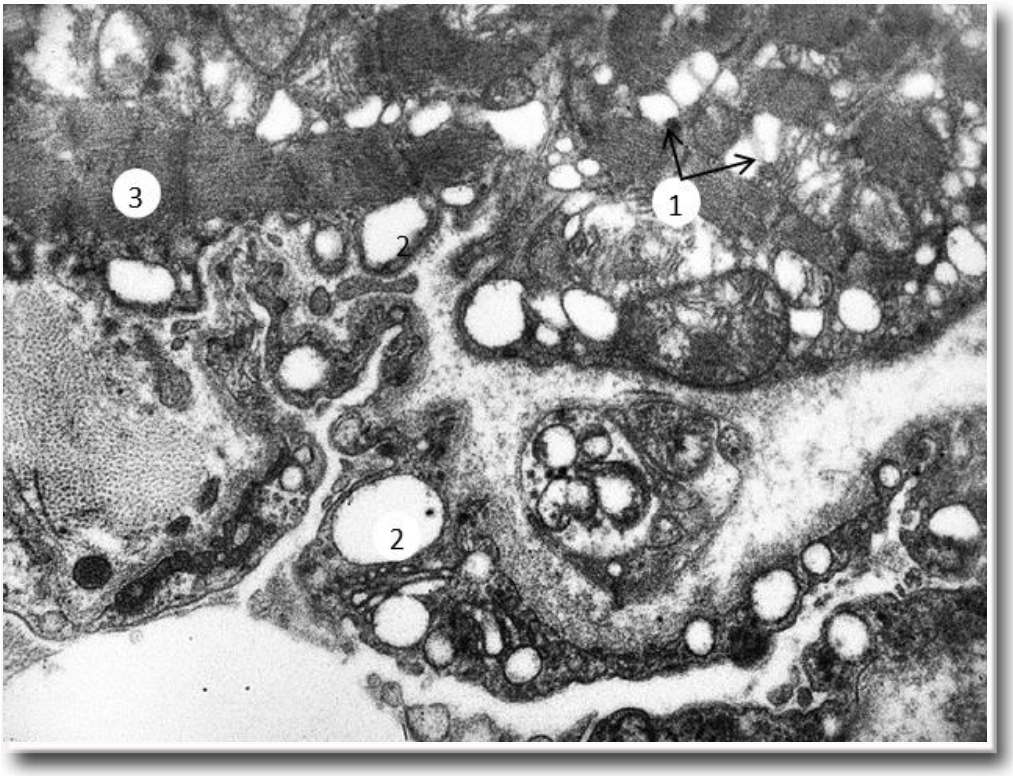

Рис. 3. Фрагмент міоцита правого вушка серця щура через 1 добу у ранньому посткомпресійному періоді СТС. Електронна мікрофотографія. ×14000. 1 – гіпертрофовані та вакуолізовані структурні компоненти комплексу Гольджі, 2 – вакуолізовані мітохондрії, 3 – міофібрили.

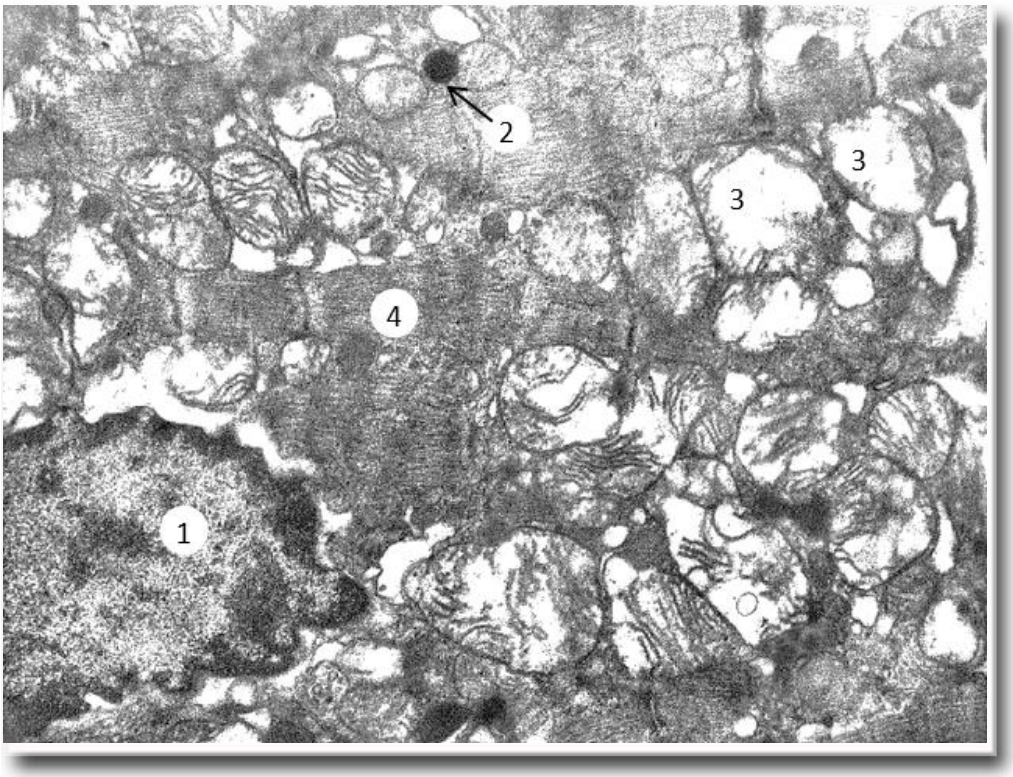

Рис. 4. Фрагмент міоцита правого вушка серця щура через 3 доби у ранньому посткомпресійному періоді СТС. Електронна мікрофотографія. ×14000. 1 – ядро з хвилястими контурами та грудками гетерохроматину в нуклеоплазмі, 2 – поодинокі секреторні гранули, 3 – вакуолізація мітохондрій, 4 – контрактури міофібрил.

Контури ядер були хвилястими внаслідок частих, але неглибоких інвагінацій, ядерця зустрічались рідко. Виявляли вузькі зони набряку навколо ядер клітин (рис. 4). Деструктивні зміни енергетичного апарату були більш глибокими проти попереднього терміну дослідження. Більшість мітохондрій великі з різко просвітленим матриксом внаслідок набряку із вкороченими, або повністю зруйнованими кристами, в окремих із них виявляли деструкцію зовнішньої мембрани (рис. 5). Значні деструктивні зміни мали місце і в скоротливому апараті інкреторних КМЦ. Для міофібрил характерним було їх перескорочення, що поєднувалось із розволокненням, гомогенізацією і частковим їх лізисом. Вставні диски в окремих ділянках були зруйновані, а в інших – дещо потовщеними з електроннощільними міжклітинними контактами (рис. 5).

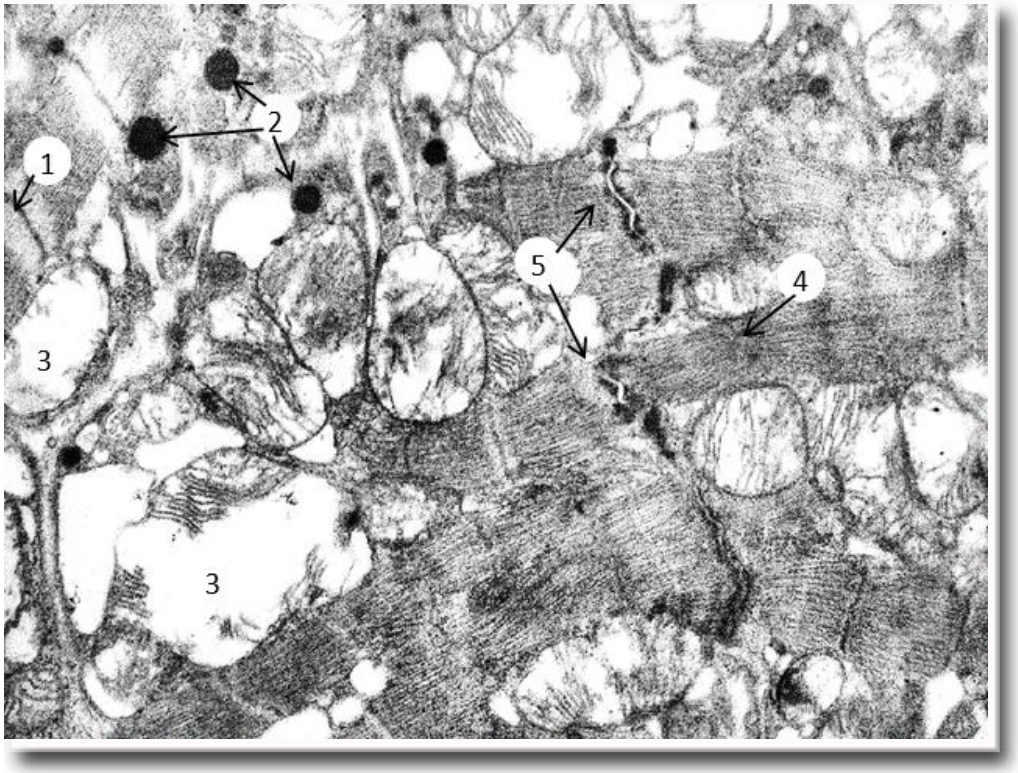

Рис. 5. Фрагмент міоцита правого вушка серця щура через 3 доби у ранньому посткомпресійному періоді СТС. Електронна мікрофотографія. ×16000. 1 – вставний диск, 2 – секреторні гранули, 3 – вакуолізовані мітохондрії, 4 – контрактури міофібрил, 5 – розширені вставні диски.

Подібні зміни з боку міоендокриноцитів передсердь описані за імобілізаційного стресу та артеріальної гіпертензії, серцевої недостатності, за умов постреперфузійного періоду, цукрового діабету [8-12]. Виявлені зміни свідчать про пригнічення ендокринної функції серця. Отримані нами дані підтверджують і результати досліджень Жураківської О.Я., які показали зменшення кількості секреторних гранул через 3 доби після загальної глибокої гіпотермії [13].

Висновки

1. У ранньому посткомпресійному періоді СТС через 1 добу після декомпресії в міоендокриноцитах вушок серця експериментальних щурів має місце гіперплазія зрілих та дифундуючих секреторних гранул, що є морфологічним проявом накопичення та секреції ПНУП.

2. Через 3 доби після декомпресії в ранньому посткомпресійному періоді СТС субмікроскопічна організація секреторних кардіоміоцитів характеризується значним зменшенням кількості секреторних гранул, альтеративними змінами міоендокриноцитів серця, що свідчить про пригнічення ендокринної функції серця та зменшення надходження в кров ПНУП.

Перспективи подальших досліджень

Планується проведення мофометричних досліджень для вивчення кількісної характеристики секреторної функції міоендокриноцитів вушок серця за умов СТС.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов’язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми «Особливості перебудови судинних русел внутрішніх органів при моделюванні гемодинамічних розладів різного генезу та раптовому усуненні патогенетичних чинників у експерименті» (номер державної реєстрації 0121U100070).

Літературні джерела
References

1. Goetze JP, Bruneau BG, Ramos HR, Ogawa T, de Bold MK, de Bold AJ. Cardiac natriuretic peptides. Nat Rev Cardiol. 2020;17(11):698-717. DOI: 10.1038/s41569-020-0381-0.

2. Nakagawa Y, Nishikimi T, Kuwahara K. Atrial and brain natriuretic peptides: Hormones secreted from the heart. Peptides. 2019;111:18-25. DOI: 10.1016/j.peptides.2018.05.012.

3. Wu Q. Natriuretic Peptide Signaling in Uterine Biology and Preeclampsia. Int J Mol Sci. 2023;24(15):12309. DOI: 10.3390/ijms241512309.

4. Zhurakivska OYa, Mykulets TI, Dutchak UM, Klypych YaI, Miskiv VA, Hrechyn AB, Klypych OO. [Structural Changes of Endocrine System of Myocardium during the Streptozotocin Diabetes Mellitus]. World of Medicine and Biology. 2018;1:126–130. Ukrainian. DOI: 10.26.724/2079-8334-2018-1-63-126-130.

5. Tatarchuk LV, Holovatskyi AS. [Peculiarities of secretory activity myoendocrine cells of atrial in the heart with different types of the vegetative regulation at arterial hypertension in small circle of circulation of blood]. Scientific bulletin of Uzhhorod university. Series Medicine. 2017;1(55):33–36. Ukrainian.

6. Horalskyi LP, Khomych VT, Kononskyi OI, authors. Osnovy histolohichnoi tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii [Fundamentals of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathology]: textbook. 4th rev. enl. ed. Zhytomyr: Polissia; 2019. 288 p. Ukrainian.

7. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union. 2010;53(276):33-79. URL: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32010L0063

8. Volpe M, Carnovali M, Mastromarino V. The natriuretic peptides system in the pathophysiology of heart failure: from molecular basis to treatment. Clin Sci (Lond). 2016;130(2):57-77. DOI: 10.1042/CS201504693.

9. Slavikova J, Mistrova E, Klenerova V, Kruzliak P, Caprnda M, Hynie S, Sida P, Dvorakova MC. Effects of immobilizations stress with or without water immersion on the expression of atrial natriuretic peptide in the hearts of two rat strains. Am J Transl Res. 2016;8(7):3148-58. PMID: 27508036; PMCID: PMC4969452.

10. Sergeeva IA, Hooijkaas IB, Ruijter JM, van der Made I, de Groot NE, van de Werken HJ, Creemers EE, Christoffels VM. Identification of a regulatory domain controlling the Nppa-Nppb gene cluster during heart development and stress. Development. 2016;143(12):2135-46. DOI: 10.1242/dev.132019.

11. Sánchez-Aguilar M, Ibarra-Lara L, Cano-Martínez A, Soria-Castro E, Castrejón-Téllez V, Pavón N, Osorio-Yáñez C, Díaz-Díaz E, Rubio-Ruíz ME. PPAR Alpha Activation by Clofibrate Alleviates Ischemia/Reperfusion Injury in Metabolic Syndrome Rats by Decreasing Cardiac Inflammation and Remodeling and by Regulating the Atrial Natriuretic Peptide Compensatory Response. Int J Mol Sci. 2023;24(6):5321. DOI: 10.3390/ijms24065321.

12. Trach Rosolovska SV, Nebesna ZM, Bodnar YY, Kulbitska VV. [Submicroscopic changes of secretory cardiomyocytes under the experimental hyperglycemia in rats of different age group]. Bulletin of Medical and Biological Researc. 2021;4:88-94. Ukrainian. DOI: https://doi.org/10.11603/bmbr.2706-6290.2021.4.12768

13. Zhurakivska OYa. [Morphofunctional state of cardiomyocytes and myoendocrine cells of the heart at the height of the action of general deep hypothermia]. Reports of morphology. 2003;9(1):85-87. Ukrainian.

Юрик Я.І., Кузів О.Є., Юрик І.І. Субмікроскопічні зміни секреторних кардіоміоцитів в ранньому посткомпресійному періоді синдрому тривалого стиснення.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Синдром тривалого стиснення проявляється активацією гіпофізарно-гіпоталамо-наднирникової системи, що стверджується значним зростанням в крові рівнів катехоламінів, кортизолу та кортикостерону. Її антагоністом є передсердний натрійуретичний пептид, який синтезується міоендокринними клітинами серця, але невирішеним залишається питання стосовно його участі в реалізації адаптаційного синдрому за умов посткомпресійного періоду синдрому тривалого стиснення. **Мета:** встановити субмікроскопічні зміни міоендокриноцитів передсердь у ранньому посткомпресійному періоді синдрому тривалого стиснення. **Методи.** Дослідження проведено на 24 білих лабораторних щурах-самцях масою 240–270 грам. Експериментальну групу склали 16 тварин, розподілених на 2 по 8 тварин у кожній, яких виводили з експерименту через 1 та 3 доби. В контрольну групу входило 8 інтактних щурів-самців. Синдром тривалого стиснення моделювали шляхом стискання м'яких тканин стегна правої тазової кінцівки. Знеболення проводили шляхом внутрішньо-очеревинного введення кетаміну гідрохлориду (100 мг/кг маси тіла), сила компресії становила 7 кг/см^2, площа стискаючої поверхні – 5 см^2 протягом 6 годин. Виведення піддослідних тварин з експерименту здійснювали шляхом кровопускання після внутрішньо-очеревинного введення тіопенталу натрію. Ультратонкі зрізи тканини правого і лівого вушок

серця вивчали на електронному мікроскопі ПЕМ – 125 К. **Результати.** Через 1 добу після декомпресії при субмікроскопічному дослідженні вушок серця відмічено суттєве збільшення кількості секреторних гранул, серед яких переважали зрілі та дифундуючі типи, які великими групами локалізувалися в парануклеарній зоні, а також між мітохондріями, міофібрилами та біля ендотеліоцитів гемокапілярів. Через 3 доби дослідження наростали деструктивні зміни в ядрах, енергетичному, скоротливому та секреторному апаратах міоендокриноцитів, спостерігали різке зменшення усіх типів секреторних гранул. Серед гранул виявляли зрілі, які локалізувались між мітохондріями та міофібрилами міоендокриноцитів, рідко зустрічались молоді та дифундуючі секреторні гранули. **Підсумок**. В ранньому посткомпресійному періоді синдрому тривалого стиснення через 1 добу після декомпресії в міоендокриноцитах вушок серця експериментальних щурів має місце гіперплазія зрілих та дифундуючих секреторних гранул, що є морфологічним проявом накопичення та секреції передсердного натрійуретичного пептиду та значне зменшення кількості секреторних гранул, альтеративні зміни міоендокриноцитів серця через 3 доби дослідження, що свідчить про пригнічення ендокринної функції серця.

Ключові слова: серце, міокард, міоендокриноцити вушок серця, синдром тривалого стиснення.