

О.В.Дунаєв

Луганський державний медичний університет

Ключові слова: щури, міокард, опіатна інтоксикація, передсердя, кардіоміоцити, мітохондрії.

Надійшла: 02.09.2007

Прийнята: 10.12.2007

УДК 616.12:611.013.395

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МІТОХОНДРІЙ ПЕРЕДСЕРДНИХ КАРДІОМІОЦИТІВ ЩУРІВ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО ОТРУЄННЯ ОПІАТАМИ

Резюме. Метою дослідження є морфологічний аналіз стану мітохондріального апарата передсердних скоротливих кардіоміоцитів щурів в умовах хронічної опіатної інтоксикації. Моделювання хронічного наркотичного отруєння у щурів проводили протягом 30 діб. Морфологічне дослідження включало світломікроскопічне й ультраструктурне вивчення міокарда правого і лівого передсердь, правого і лівого вусок серця, а також міжпередсердної перегородки. Була проведена стереологічна оцінка таких показників: щільність упакування мітохондрій, чисельна щільність мітохондрій, площа поверхні зовнішньої мітохондріальної мембрани, щільність мітохондріальних крист, кількість крист мітохондрії, площа поверхні внутрішньої мітохондріальної мембрани, ступінь орієнтації крист, коефіцієнт сферичності мітохондрій, об'єм мітохондрії, кількісне співвідношення типів мітохондрій. Показано, що реакція різних типів мітохондрій на формування хронічної опіатної інтоксикації залежить від структурно-метаболічного профілю мітохондрій у складі скоротливих кардіоміоцитів передсердь. В умовах моделювання наркотичного отруєння у щурів розвивається помірне дифузне ушкодження мітохондріального апарату у всіх ділянках передсердь за рахунок редукції мітохондрій 2 типу і пригнічення функціональної активності високоенергетичних органел.

Морфологія.- 2008.- Т.ІІ, №1.- С.57-61

© О.В.Дунаєв, 2008

Dunaev A.V. The structurally functional characteristic of mitochondria in rat atrial cardiomyocytes under the chronic opioid intoxication.

Summary. The purpose of the study is the morphological analysis of a condition of mitochondrial apparatus of atrial contractive cardiomyocytes in rats on the chronic opioid poisoning. Modeling of the chronic opioid poisoning in rats was realized during 30 days. Morphological research comprised both light and electronic microscopy of myocardium of right and left atria, right and left auricles, and also interatrial septum. Stereological estimation of several indexes was carried out: the compactness of mitochondria, numeral compactness of mitochondria, surface area of external mitochondrial membrane, compactness of mitochondrial cristae, number of mitochondrial cristae, surface area of internal mitochondrial membrane, degree of cristae orientation, coefficient of mitochondrial sphericity, volume of mitochondrion, quantitative correlation of types of mitochondria. It was shown that the reaction of different types of mitochondria on development of chronic opioid intoxication depends on the structural-metabolic type of mitochondria in atrial contractive cardiomyocytes. Under the narcotic poisoning the moderate diffuse damage of mitochondrial apparatus of contractive cardiomyocytes in all atrial sites takes place that is accompanied by the reduction of 2th type mitochondria and oppressions of functional activity of high-energy mitochondria.

Key words: rats, myocardium, opioid intoxication, atria, cardiomyocytes, mitochondria.

Вступ

В експериментах, проведених на щурах після впливу токсичних доз адреналіну, виявлено три типи мітохондрій, що різко розрізняються за щільністю мітохондріальних крист (Митин К.С., Клейменова Н.Н., 1975). Автори вважають, що зазначені особливості ультраструктури органел відбивають їхній функціональний стан в умовах токсичних впливів. При ультраструктурному дослідженні міокарда перфузованого серця кролика при гіпоксії були описані 3 групи мітохондрій, що чітко розрізняються за площею і кількіс-

тю крист (Хлопонин П.А., 1976). Подібні ультраструктурні і функціональні характеристики дозволили виділити мітохондрії "м'язового" і "загального" типу в міокарді собак (Коптева Л.А. и соавт., 1972), органели "низькоенергетичного" і "високоенергетичного" типів у печінці щурів (Митин К.С., Бекетова Т.П., 1972). У міокарді зародків щурів були описані ортодоксальна і конденсована конфігурації мітохондрій (Сосунов А.А. и соавт., 1987), що відбивають існування двох варіантів функціонування мітохондріального апарата. Пізніше фетальна і зріла форми міто-

хондрій були проаналізовані у дослідженні N. Mekhail з співавторами (1996).

У даний час в науковій літературі склалася думка, що зазначені типи мітохондрій є двома (або трьома) фазами їхнього функціонування. Поряд з цим існує припущення, відповідно до якого, функціональні розходження мітохондрій обумовлені не тільки циклічними змінами, але і їх локалізацією в скорочувальному кардіоміоциті (Coleman B. et al., 1988). У дослідженнях M.A. Matlib з співавторами (1981) виявлені функціональні ознаки, що істотно розрізняють субсарколемальну, міжміофібрилярну і парануклеарну субпопуляції мітохондрій.

Той відомий факт, що опіоїди зменшують ступінь ушкодження міокарда після розвитку гострої ішемії (Liu H. et al., 2001), привертає увагу багатьох дослідників до визначення механізмів дії опіоїдних агентів. Зокрема визначилось, що збудження опіоїдних рецепторів активізує АТФ-залежні калієві канали у складі мітохондральних мембран (Chang W.L. et al., 2005). На думку авторів, це являє собою центральний шлях блокування трансдукції сигналу для розвитку апоптозу і сприяє збереженню серцевої функції. Подібні дані щодо протективної дії опіоїдів були отримані в дослідженнях на курках (Huh J. et al., 2001) і в експериментах на щурах (Fryer R.M. et al., 2002), причому взаємодія між опіоїдними рецепторами і мітохондральними каналами калію пов'язується з участю білка кінази С (Patel H.H. et al., 2005). Важливу роль у забезпеченні кардіопротективного ефекту відіграє також механізм трансактивації рецепторів ростових факторів через посередництво металопротеїназ (Krieg T. et al., 2004). Залежність кардіопротективних ефектів опіатів від стану мітохондральних каналів, термолабільних білків та вмісту кальцію докладно простежили J.Liu з співавторами (2005).

У науковій літературі існує обмежена кількість відомостей про вплив опіатної інтоксикації організму на стан кардіоміоцитів передсердь. Зокрема, групою авторів (Emdin M. et al., 2005) досліджено характер змін секреторних кардіоміоцитів при хронічній опіатній інтоксикації. Незначні зміни спостерігалися лише у кардіоміоцитах у стінці правого передсердя, на відміну від інтактних, розташованих у вушках передсердь, в атріовентрикулярному вузлі та пучку Гіса. При гострій опіатній інтоксикації спостерігався дещо інший характер ультраструктурних змін передсердних кардіоміоцитів. Проте, як і при хронічній опіатній інтоксикації, при гострому патологічному процесі зміни спостерігалися лише у кардіоміоцитах стінки правого передсердя.

Слід зазначити, що нормалізація синтетичних процесів передсердних кардіоміоцитів після припинення хронічної та гострої опіатної інтоксикації відбувається у досить короткий проміжок часу. Вже через 2-3 місяці при ультраструктурному дослідженні передсердних кардіоміоцитів

виявляються добре розвинені гранулярна ендоплазматична сітка та комплекс Гольджі (Wasywic S.A. et al., 2005). Встановлено, що морфій блокує транспорт аденінових нуклеотидів через мітохондріальну мембрану, порушує, діяльність АТФази, але синтез АТФ у мітохондріях залишається незмінним (Гегенава Г.П. и соавт., 1975). Хронічна дія опіатів у щурів обумовлювала розвиток міоцитоліза і хвильової деформації серцевих м'язових волокон, порушення мікроциркуляції у вигляді застою, периваскулярного й інтерстиційного набряку, діapedезних крововиливів, різкого збільшення ендотеліальних клітин. Ультраструктурно спостерігалися субсарколемальний набряк, руйнування мітохондрій і утворення їх гігантських форм, редукція мікропіноцитозних везикул (Лунькова Л.К. и соавт., 2004), хоча більш ранні морфологічні дослідження мітохондріальних мембран не виявили їх фрагментації (Hertsens R. et al., 1984).

Виходячи з цих даних, постає актуальність дослідження реакцій мітохондріального апарата передсердних кардіоміоцитів в умовах хронічного наркотичного отруєння.

Метою даного дослідження є морфологічний аналіз стану мітохондріального апарата передсердних скоротливих кардіоміоцитів щурів в умовах хронічної опіатної інтоксикації.

Матеріали та методи дослідження

Морфологічне дослідження мітохондріального апарата серця після евтаназії тварин в умовах моделювання 30-добової хронічної опіатної інтоксикації з використанням морфіну (Лунькова Л.К. и соавт., 2004) включало світломікроскопічне й ультраструктурне вивчення міокарда правого і лівого передсердь, правого і лівого вусок серця, а також міжпередсердної перегородки. Виготовлення ультратонких зрізів проводили на ультрамікротомі УМТП-5 з блоків, залитих в епон-аралдіт. Ультраструктурне дослідження проводили за схемою, запропонованою В.Я. Карупу (1984).

Була проведена кількісна оцінка таких ультраструктурних показників: щільність упакування мітохондрій, чисельна щільність мітохондрій, площа поверхні зовнішньої мітохондріальної мембрани, щільність мітохондріальних крист, кількість крист мітохондрії, площа поверхні внутрішньої мітохондріальної мембрани, ступінь орієнтації крист, коефіцієнт сферичності мітохондрій, об'єм мітохондрії, кількісне співвідношення типів мітохондрій. Визначення параметрів ґрунтували на принципах стереологічного аналізу (Авандилов Г.Г., 1990).

Морфометричні дані зазначали статистичної обробки (Лакин Г.Ф., 1990), що включала визначення достовірності відмінностей між контрольною і експериментальною групами з урахуванням критерію t Ст'юдента або за допомогою непараметричних критеріїв: Х-критерію Ван-дер-Вардена і U-критерію Уїлкоксона (И.В.Твердохлеб с соавт., 1996).

Результати та їх обговорення

Вивчення стану мітохондріального апарату передсердь при моделюванні хронічного наркотичного отруєння опіатами виявило численні патологічні зміни, які мали дифузний характер, але їх виразність була неоднаковою у вивчених ділянках передсердного міокарда. На фоні збереженої тканинної структури міокарда спостерігалися поодинокі розташовані апоптотичні тіลця; найбільша їх кількість зустрічалася у складі вільної стінки обох передсердь, а також у міжпередсердній перегородці. Явищ фіброзу і ознак порушень мікроциркуляторного русла не спостерігалося.

При ультраструктурному дослідженні виявлялися значні зміни мітохондріального апарату. Зокрема, деякі мітохондрії, незалежно від типової приналежності, мали ознаки помірної вакуолізації матрикса, але фрагментації мітохондріальних мембран і кристоліза не спостерігалося (рис. 1, 2). Гігантські спустошені мітохондрії зустрічалися у парануклеарному просторі і, значно рідше, під сарколемою або між міофібрилами (рис. 3, 4). Враховуючи, що в зазначених внутрішньоклітинних локалізаціях переважають мітохондрії 2 типу, можна стверджувати, що саме вони ушкоджуються в найбільшому ступені при моделюванні хронічного отруєння опіатами.

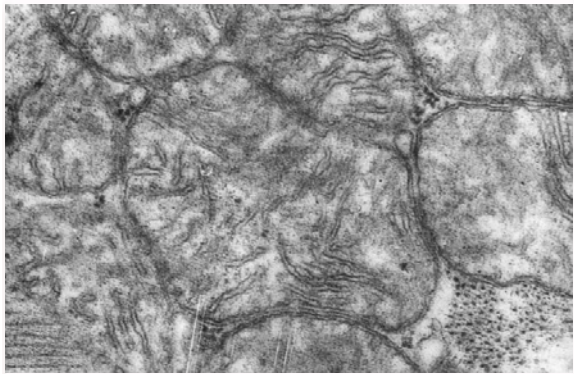


Рис. 1. Стан міжміофібрилярних мітохондрій в саркоплазмі кардіоміоцита правого передсердя щура 3 експериментальної групи. $\times 28000$.

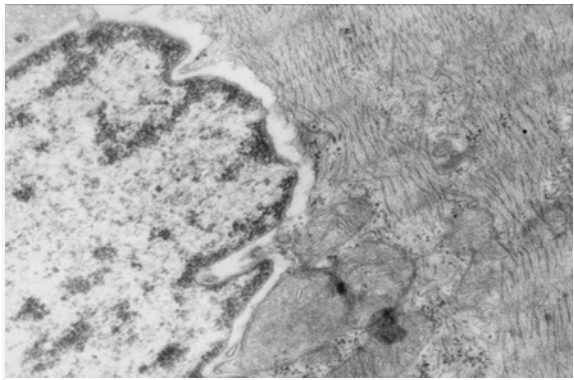


Рис. 2. Характер ушкодження мітохондріального апарату в саркоплазмі скоротливих кардіоміоцитів лівого передсердя щура 3 експериментальної групи. $\times 14000$.

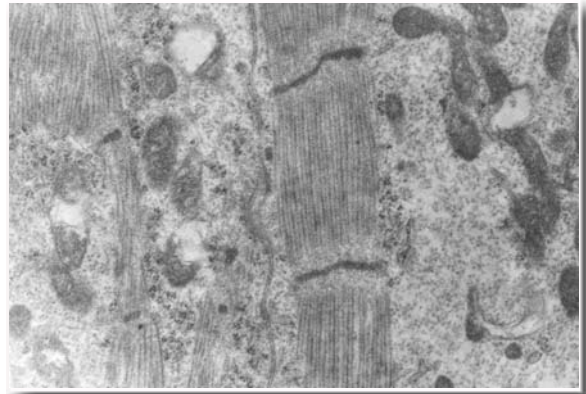


Рис. 3. Міжміофібрилярна і субсарколемальна зони саркоплазми скоротливого кардіоміоцита міжпередсердної перегородки щура 3 експериментальної групи. Збільш.: $\times 20000$.

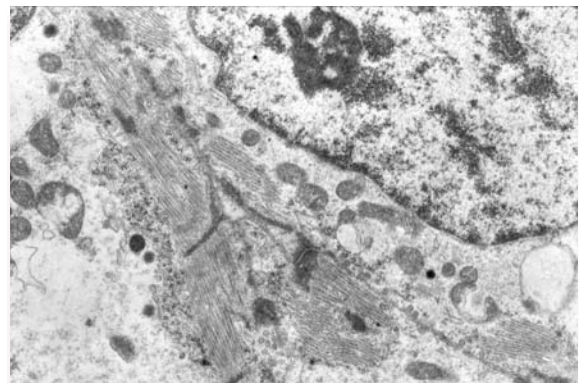


Рис. 4. Гігантські спустошені мітохондрії у парануклеарній зоні саркоплазми скоротливих кардіоміоцитів правого вухка серця щура 3 експериментальної групи. $\times 6000$.

Морфометричні дані підтвердили цю обставину: у всіх вивчених ділянках передсердь відбувалася статистично достовірна редукція мітохондрій 2 типу: у правому передсерді – на 24,2%, у лівому передсерді – на 27,0%; у правому вухку – на 22,2%, у лівому вухку – на 23,2%, у міжпередсердній перегородці – на 25,1%. Навпроти, питома вага високоенергетичних мітохондрій суттєво зростала у порівнянні з контрольною групою (рис. 5).

Слід зауважити, що таке зростання відбувалося за рахунок конденсованих конфігурацій мітохондрій, які майже вдвічі перевищували контрольні значення у всіх ділянках передсердного міокарда. Внаслідок цього різко змінювалось співвідношення між конденсованою і ортодоксальною конфігураціями органел, досягаючи 1 до 2,3-3,4. Це спостереження, як і в попередній експериментальній групі, свідчить про суттєве гальмування взаємного переходу мітохондрій між ортодоксальним і конденсованим станом у циклі їх функціонування, обумовлюючи обмеження енергозабезпечення скоротливої функції передсердного міокарда.

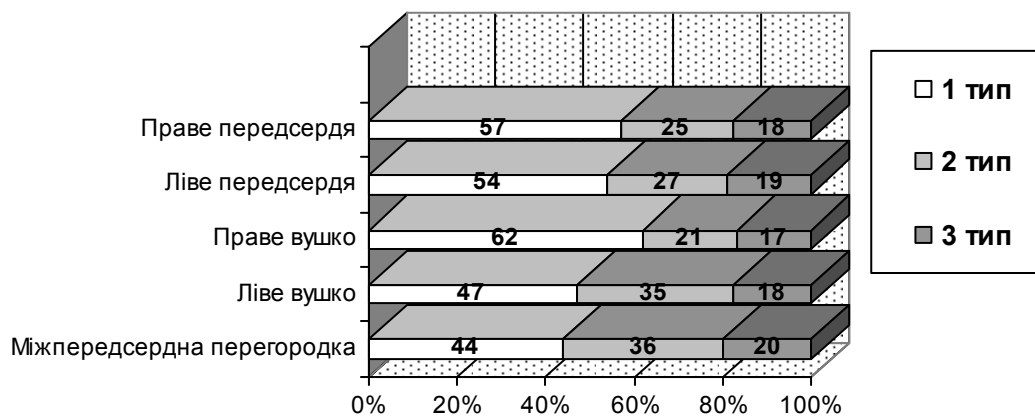


Рис. 5. Кількісне співвідношення мітохондрій 1, 2 і 3 типів (%) у саркоплазмі скоротливих кардіоміоцитів передсердного міокарда щурів 3 експериментальної групи.

У цілому, у 3 експериментальній групі досліджень щільність упакування мітохондрій у складі скоротливих міоцитів помірно знижувалась у всіх вивчених ділянках передсердного міокарда (рис. 6): у правому передсерді – на

36,4% ($p < 0,05$), у лівому передсерді – на 25,0% ($p < 0,05$); у правому вушку – на 23,1% ($p < 0,05$), у лівому вушку – на 12,5%, у міжпередсердній перегородці – на 30,0% ($p < 0,05$).

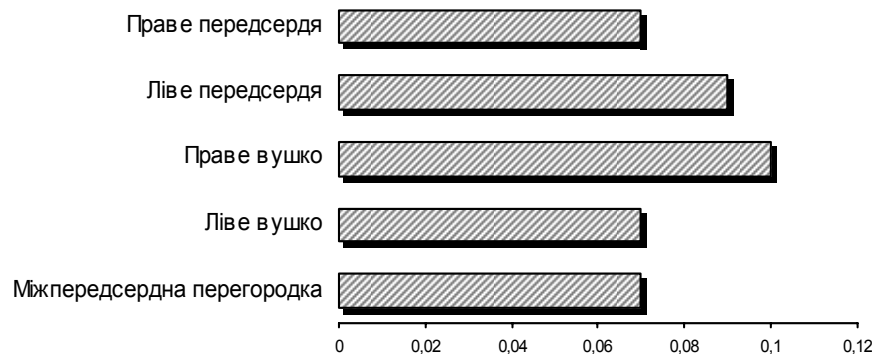


Рис. 6. Щільність упакування мітохондрій (мм³/мм³) у саркоплазмі скоротливих кардіоміоцитів передсердного міокарда щурів 3 експериментальної групи.

Підсумок

Моделювання хронічного наркотичного отруєння опіатами у щурів призводить до помірного дифузного ушкодження мітохондріального апарата у всіх ділянках передсердь за рахунок редукції мітохондрій 2 типу і пригнічення функціональної активності високоенергетичних орга-

нел.

Перспективи подальших розробок пов'язані з аналізом реакцій мітохондріального апарата скоротливих кардіоміоцитів серця щурів у різних локалізаціях на розвиток гострих і хронічних патологічних станів.

Літературні джерела

Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство.- М.: Медицина, 1990.- 384 с.
 Буров Ю.В., Ведерникова Н.Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма.- М.: Медицина, 1985.- 240 с.
 Гегенава Г.П., Чистяков В.В. Влияние морфина in vitro на окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс // Бюлл. эксп. биол. мед.- 1975.- Т.80, №10.- С.77-79.
 Карупу В.Я. Электронная микроскопия.- К.: Вища школа, 1984.- 162 с.
 Коптева Л.А., Бирюзова В.И., Стойда Л.А. Функционально-морфологическое исследование

митохондрий миокарда // Бюлл. exper. биол. мед.- 1972.- №5.- С.116-118.
 Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов.- 4-е изд., перераб. и доп.- М.: Высшая школа, 1990.- 352 с.
 Митин К.С., Бекетова Т.П. О соответствии между функциональным состоянием и электронномикроскопической морфологией митохондрий // Бюлл. exper. биол. мед.- 1972.- №2.- С.117-121.
 Митин К.С., Клейменова Н.Н. Гиперпластические процессы в митохондриях мышечных клеток сердца после воздействия токсических

доз адреналина // Бюлл. exper. биол. мед.- 1975.- №7.- С.99-104.

Морфологические повреждения миокарда крыс при хронической морфиновой интоксикации / Лунькова Л.К., Макарова О.В., Кактурский Л.В. и др. // Арх. патол.- 2004.- Т.66, №5.- С.17-21.

Сосунов А.А., Белянкина Г.В., Швалев В.Н. Ультраструктура эпимиокарда и миокарда у ранних зародышей белых крыс // Арх. АГЭ.- 1987.- №12.- С.17-23.

Твердохлеб И.В., Шпонька И.С., Машталир М.А. Прикладная биометрия для морфолога.- Днепропетровск, 1996. - 226 с.

Хлопонин П.А. Светооптический и электронномикроскопический анализ дифференцировки желудочков и предсердий сердца в онтогенезе птиц // Арх. АГЭ.- 1976.- №12.- С.49-56.

Age and exercise-related changes in myocardial mitochondria in mice / Coleman B., Weiss A., Finkelbrant et al. // Acta Histochem.- 1988.- Vol.83, №1.- P.81-90.

Chang W.L., Lee S.S., Su M.J. Attenuation of post-ischemia reperfusion injury by thaliporphine and morphine in rat hearts // J. Biomed. Sci.- 2005.- Vol.12, №4.- P.611-619.

Differential activities of putative subsarcolemmal and interfibrillar mitochondria from cardiac muscle / Matlib M.A., Rebman D., Ashraf E. et al. // J. Mol. Cell. Cardiol.- 1981.- Vol.13, №2.- P.163-170.

Fentanyl stimulates atrial natriuretic peptide secretion / Mekhail N.A., Doss D.N., Bravo E.L., Estafanous F.G. // J. Mol. Cell. Cardiol.- 1994.- Vol.26, №4.- P.425-34.

Further study on the role of HSP70 on Ca²⁺ homeostasis in rat ventricular myocytes subjected to simulated ischemia / Liu J., Kam K.W., Borchert G.H. et al. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.-

2005.- Vol.288, №3.- P.583-591.

Hertsens R., Jacob W., Van Bogaert A. Effect of hypnorm, chloralosane and pentobarbital on the ultrastructure of the inner membrane of rat heart mitochondria // Biochim. Biophys. Acta.- 1984.- Vol.769, №2.- P.411-418.

Mitochondrial ROS generation following acetylcholine-induced EGF receptor transactivation requires metalloproteinase cleavage of proHB-EGF / Krieg T., Cui L., Qin Q. et al. // J. Mol. Cell. Cardiol.- 2004.- Vol.36, №3.- P.435-443.

Protection of cardiac myocytes via delta(1)-opioid receptors, protein kinase C, and mitochondrial K(ATP) channels / Huh J., Gross G.J., Nagase H., Liang B.T. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.- 2001.- Vol.280, №1.- P.377-383.

PKC-delta inhibition does not block preconditioning-induced preservation in mitochondrial ATP synthesis and infarct size reduction in rats / Fryer R.M., Hsu A.K., Wang Y. et al. // Basic Res. Cardiol.- 2002.- Vol.97, №1.- P.47-54.

Recommendations for the clinical use of cardiac natriuretic peptides / M.Emdin, A.Clerico, F.Clemenza et al. // Ital. Heart J.- 2005.- Vol.6, №5.- P.308-325.

Role of opioid delta1 receptors, mitochondrial K(ATP) channels, and protein kinase C during cardiocyte apoptosis / Liu H., Zhang H.Y., McPherson B.C. et al. // J. Mol. Cell. Cardiol.- 2001.- Vol.33, №11.- P.2007-2014.

Sarcolemmal KATP channel triggers delayed ischemic preconditioning in rats / Patel H.H., Gross E.R., Peart J.N. et al. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.- 2005.- Vol.288, №1.- P.445-447.

Wasylich C.A., Whalley G.A., Doughty R.N. Brain natriuretic peptide in the contemporary management of congestive heart failure // Expert Rev. Cardiovasc. Ther.- 2005.- Vol.3, № 1.- P.71-84.

Дунаев А.В. Структурно-функциональная характеристика митохондрий предсердных кардиомиоцитов крыс в условиях хронического отравления опиатами.

Резюме. Целью исследования является морфологический анализ состояния митохондриального аппарата предсердных сократительных кардиомиоцитов крыс в условиях хронической опиатной интоксикации. Моделирование хронического наркотического отравления проводили на протяжении 30 суток. Морфологическое исследование включало светооптическое и ультраструктурное изучение миокарда правого и левого предсердий, правого и левого ушек сердца, а также межпредсердной перегородки. Была проведена стереологическая оценка таких показателей: плотность упаковки митохондрий, численная плотность митохондрий, площадь поверхности внешней митохондриальной мембраны, плотность митохондриальных крист, количество крист митохондрии, площадь поверхности внутренней митохондриальной мембраны, степень ориентации крист, коэффициент сферичности митохондрий, объем митохондрии, количественное соотношение типов митохондрий.

Показано, что реакция различных типов митохондрий на формирование хронической опиатной зависит от структурно-метаболического профиля митохондрий в составе сократительных кардиомиоцитов предсердий. В условиях моделирования наркотического отравления у крыс развивается умеренное диффузное повреждение митохондриального аппарата во всех участках предсердий за счет редукции митохондрий 2 типа и угнетения функциональной активности высокоэнергетических органелл.

Ключевые слова: крыса, миокард, опиатная интоксикация, предсердия, кардиомиоциты, митохондрии.