

УДК 615.214.22+615.22]: 615.015.4

Э.В. Карнаух

Харьковский национальный медицинский университет

ПИРАЦЕТАМ: МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АНТИСТРЕССОВАЯ КАРДИОПРОТЕКЦИЯ ПО ДАННЫМ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Изучены патоморфологические проявления повреждающего действия эмоционального стресса на субклеточные структуры кардиомиоцитов по данным электронной микроскопии. Проанализирована морфофункциональная взаимосвязь этих структурных нарушений с гистохимическими эквивалентами, характеризующими стрессогенную миокардиодистрофию. Проиллюстрированы морфофункциональные проявления антистрессового кардиопротекторного действия пирацетама.

Ключевые слова: эмоциональный стресс, сердце, пирацетам, электронная микроскопия.

Патоморфологическое исследование по данным трансмиссионной электронной микроскопии наглядно иллюстрирует повреждающее действие стрессорных факторов на структуры кардиомиоцитов и проявления антистрессового кардиопротекторного действия пирацетама, что подтверждает причинно-следственную взаимосвязь структуры и функции на субклеточном уровне [1–3].

Цель исследования — изучение патоморфологических проявлений в субклеточных структурах кардиомиоцитов в результате стрессового воздействия и проявлений антистрессового кардиопротекторного действия пирацетама.

Материал и методы. Опыты проведены на половозрелых крысах линии Вистар обоего пола. Содержание и использование в экспериментах животных соответствовало требованиям «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» (Strasbourg, 18.03.86) [4, 5]. Согласно условиям опытов экспериментальные животные были разделены на 3 группы по 6 особей в каждой: интактные крысы (служили контролем), животные, подвергавшиеся воздействию острого эмоционального стресса (ЭС), и животные, у которых моделирование ЭС проходило на фоне предварительного введения (за 1–1,5 часа до окончания стрессирования) стресс-протек-

тора из группы ноотропов — пирацетама (200 мг/кг подкожно) [6]. Для моделирования острого ЭС была использована предложенная Ф.П. Ведяевым реалистическая модель нейрогенного стресса «конфликт афферентных раздражений» [7]. Состояние ультраструктурных образований кардиомиоцитов изучали методом трансмиссионной электронной микроскопии на базе лаборатории электронной микроскопии Института медицинской радиологии г. Харькова [1–3]. Для исследования брали ткань миокарда левого желудочка сразу после забоя животных, фиксировали в охлажденном 2,5 % растворе глутаральдегида на фосфатном буфере с дофиксацией в 1 % растворе окиси осмия OsO₄ на веронал-ацетатном буфере по Паладе. После дегидратации в растворах этанола возрастающей концентрации и абсолютном ацетоне материал заливали в смесь эпоксидных смол (эпон-аралдит) по Уикли. С полученных блоков готовили ультратонкие срезы (70 нм) на ультрамикротоме УМТП-4 (Сумское ПО «Электрон»), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу и изучали под электронным микроскопом ЭМ-125 (Сумское ПО «Электрон»). Результаты исследования представлены в виде электронных микрофотографий (× 8000, × 10 000, × 16 000, × 20 000, × 30 000).

Результаты. Миокард интактных крыс, составивших контрольную группу, содер-

© Э.В. Карнаух, 2011

жит субклеточные органеллы в состоянии обычной физиологической активности, что определяет соответствующий уровень их функционирования для обеспечения процессов жизнедеятельности клеток сердца в обычных условиях существования организма животных. Как видно на рис. 1, кардиомиоцит содержит миофибриллы с правильной ориентацией волокон без признаков перерастяжения и разволокнения. Митохондрии округлой формы, плотно упакованы кристами, имеют высокую электронную плотность (выглядят темными), располагаются компактно. Полости саркоплазматического ретикулума не расширены. Характерным является наличие объемных, свободно проходимых для эритроцитов капилляров с тонкой эндотелиальной выстилкой. Цитоплазма эндотелиоцитов содержит достаточное количество пиноцитозных везикул и гранул гликогена, причем у контрольных крыс гликоген располагается повсеместно: между миофибриллами, вокруг митохондрий, в эндотелии капилляров, в межклеточном пространстве (рис. 1). Соединения липидной природы также являются нормальным компонентом кардиомиоцитов. Все клетки имеют ядра правильной формы и структуры.

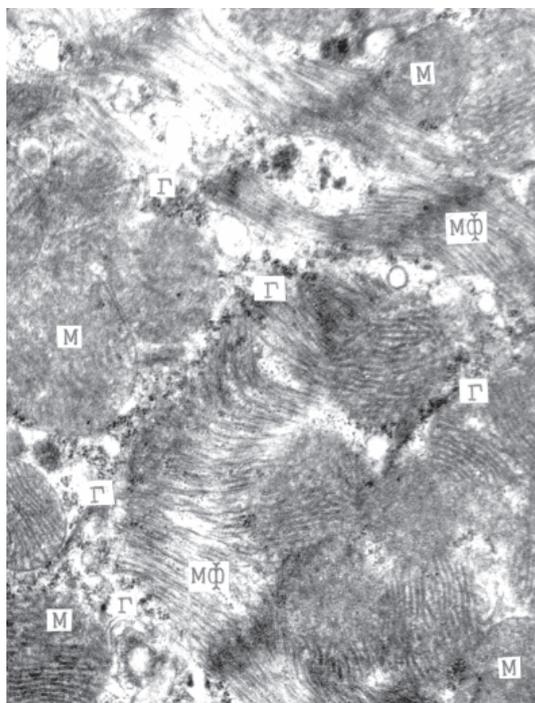


Рис. 1. Контроль. Обилие гранул гликогена (Г) между активными митохондриями (М) и волокнами миофибрилл (МФ). Единичные фаголизосомы. × 20 000

Воздействие острого ЭС сопровождается развитием ряда типичных патоморфологических изменений в ультраструктурной организации миокарда. На рис. 2 отчетливо видно, что при равной степени увеличения относительно контроля характерным образом изменяются митохондрии: они становятся набухшими, увеличиваются в размерах, имеют низкую электронную плотность

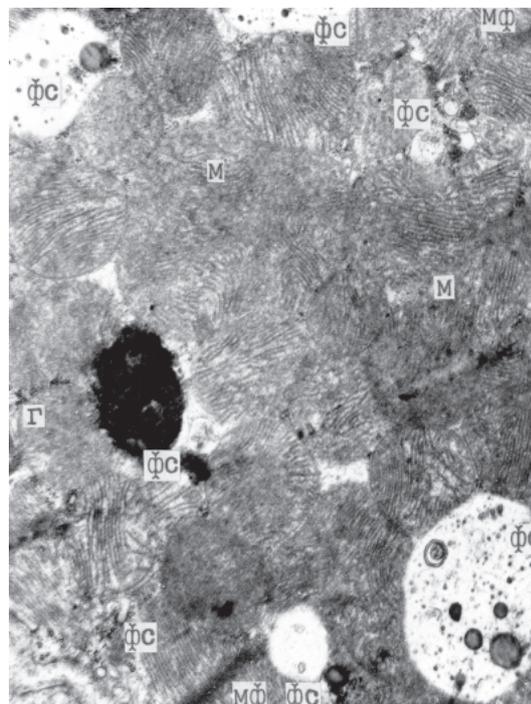


Рис. 2. ЭС. Обилие гетерогенных фаголизосом. Слоистое тельце. Единичные гранулы гликогена (Г). Набухшие митохондрии (М) с просветленным матриксом. × 16 000: МФ — миофибриллы; ФС — фагосомы

(выглядят светлее, чем в контроле), кристы располагаются рыхло. Как признак деструктивных изменений появляется большое количество лизосом и фагосом, содержащих в себе остатки мембранных структур (слоистые тельца) и мембраногенные липидные включения. В отдельных участках отмечается разволокнение миофибрилл с зонами разрежения цитоплазмы, образование свежих коллагеновых волокон в интерстиции, саркоплазматический ретикулум имеет расширенные полости шероховатой эндоплазматической сети (рис. 3). Отмечается снижение объемной и поверхностной плотностей капилляров и уменьшение их диаметра, цитоплазма эндотелиоцита отечна, содержит много пиноцитозных везикул на разных стадиях формирования (рис. 4). На некоторых срезах обнаруживаются многочис-

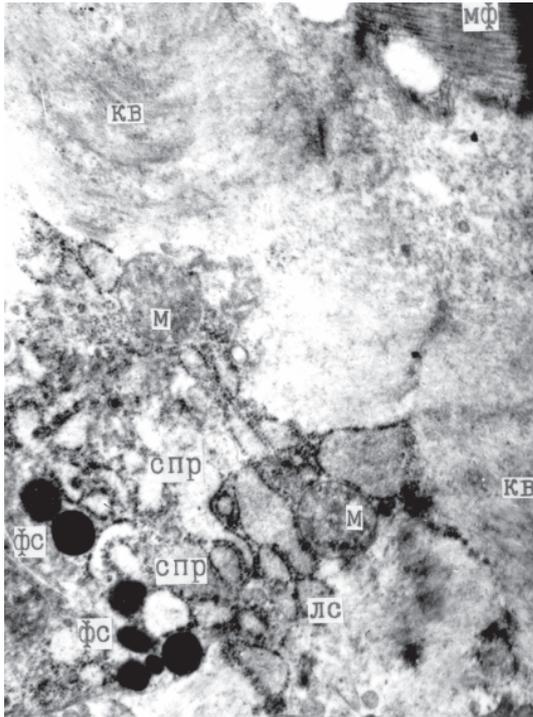


Рис. 3. ЭС. Тонкие коллагеновые волокна (КВ) в интерстиции кардиомиоцита. Расширенные полости саркоплазматического ретикулума (СПР). Обилие лизосом (ЛС) и фагосом (ФС). Разволокнение миофибрилл (МФ). $\times 20\ 000$: М — митохондрии

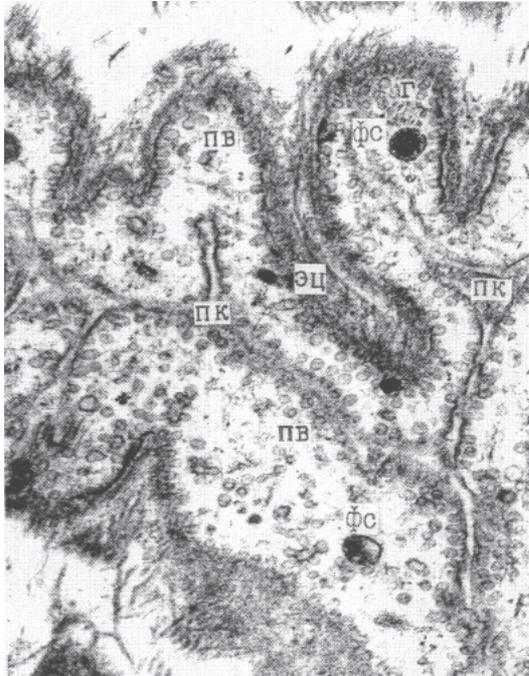


Рис. 4. ЭС. Спавшийся капилляр с сильно отеочной цитоплазмой эндотелиоцита (ЭЦ), истощенные запасы гликогена (Г), $\times 30\ 000$: ПВ — пиноцитозные везикулы; ПК — просвет капилляра; ФС — фагосомы

ленные выпячивания отеочной цитоплазмы эндотелиоцита с участками деструкции его внутренней мембраны и выхода части содержимого в просвет капилляра. Резко снижается содержание гликогена и отмечается неравномерность его распределения (рис. 2–4). Липидные включения определяются преимущественно в очагах деструкции в составе фагосом и практически отсутствуют в свободном положении (рис. 2).

Данные электронной микроскопии показывают, что при использовании пирацетама уменьшается выраженность стрессогенного повреждения ультраструктур кардиомиоцитов. Повышается содержание гликогеновых гранул, сопоставимое с контролем, при этом видны скопления гликогеновых гранул в фестончатых краях кардиомиоцитов, между пучками миофибрилл, митохондриями и в цитоплазме эндотелиоцитов (рис. 5, 6). Отмечается полиморфизм митохондрий с разной степенью активности (рис. 5), в основном без признаков функционального перенапряжения (округлые, электронно-плотные, с плотно упакованными кристами). Достаточное содержание пиноцитозных везикул на разных стадиях формирования характеризует хорошую транспортную активность эндотелиоцитов. Капилляры объемные, свободно проходимы и

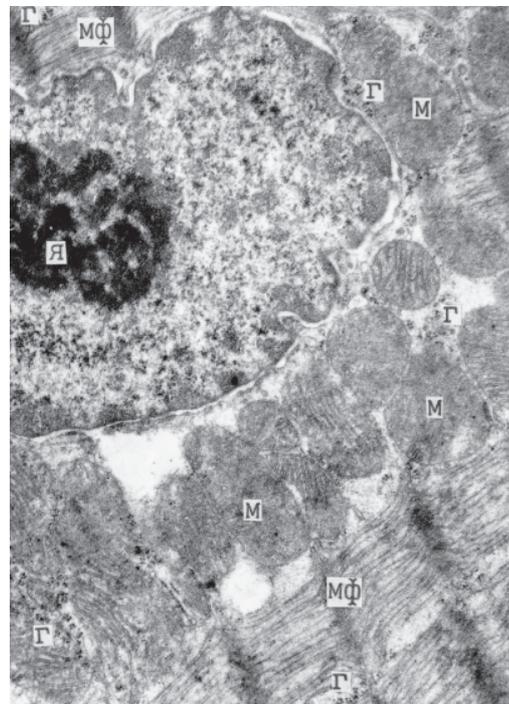


Рис. 5. Пирацетам + ЭС. Активные митохондрии (М) и гранулы гликогена (Г) вокруг ядра (Я) кардиомиоцита, $\times 20\ 000$: МФ — миофибриллы

содержат форменные элементы крови (эритроциты), при этом цитоплазма эндотелиоцита либо слегка отечна, либо нормальная (рис. 6). Появляются свободные липидные включения. Кардиомиоциты плотно упакованы пучками миофибрилл, и их ядра часто содержат по 2–3 ядрышка, встречаются единичные фагосомы. Во всех исследованных срезах не обнаруживаются обширные очаги деструкции с обилием полиморфных фагосом, нет участков с явлениями коллагенизации и интерстициального фиброза, нет спавшихся капилляров с резко отечной цитоплазмой эндотелиоцитов и участков деструкции их мембран, полости саркоплазматического ретикулума не расширены (рис. 5, 6).

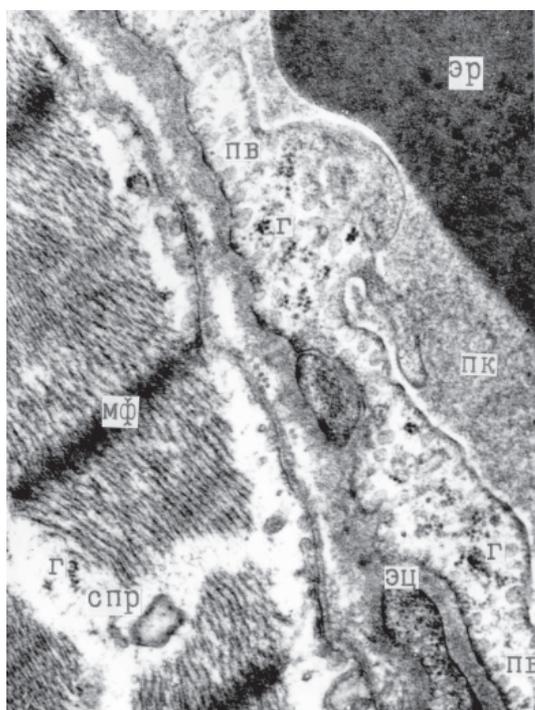


Рис. 6. Пирацетам + ЭС. Слегка отечная цитоплазма эндотелиоцита (ЭЦ) с обилием гликогена (Г), $\times 30\,000$: МФ — миофибриллы; ПВ — пиноцитозные везикулы; ПК — просвет капилляра; СПР — саркоплазматический ретикулум

Обсуждение результатов. Нарушения энергетического обмена в миокарде в условиях ЭС подтверждаются обеднением и неравномерным распределением гранул гликогена, полиморфизмом митохондрий с признаками их функционального перенапряжения и истощения: они выглядят набухшими, имеют низкую электронную плотность и рыхло расположенные кристы. Из-за возникающего в условиях ЭС дефицита энергии углеводного происхождения в миокарде интенсивно используются липидные

включения, поэтому их количество выражено снижается. Перегрузка кардиомиоцитов ионами Ca^{2+} морфологически характеризуется расширением полостей шероховатой эндоплазматической сети саркоплазматического ретикулума и наличием набухших деформированных митохондрий с включениями (кристаллы фосфата кальция) в матриксе. Обилие полиморфных фаголизосом с остатками клеточных элементов мембранного строения в виде так называемых слоистых телец характеризует мобилизацию лизосомальных и протеолитических ферментов при ЭС и наличие деструктивных нарушений в кардиомиоцитах [1–3]. Как видно из полученных нами электронных микрофотографий, из числа подверженных действию ЭС мембранных ультраструктур, помимо митохондрий и саркоплазматического ретикулума, характерным образом изменяются капилляры кардиомиоцитов. Вследствие стрессогенной спазма приносящих артериол отмечается запустевание капиллярного русла. При этом цитоплазма эндотелиоцитов выглядит сильно отечной, имеются участки деструкции внутренней мембраны с выходом части содержимого в просвет капилляра, а обилие пиноцитозных везикул является признаком интенсификации обмена веществ в условиях ЭС. Наряду с нарушениями капиллярного кровообращения, в альтерированном миокарде отмечаются признаки его гетерогенности — участки разволокнения миофибрилл с зонами разрежения цитоплазмы чередуются с участками образования свежих коллагеновых волокон в виде интерстициального фиброза [6]. Результаты патоморфологического исследования показывают, что пирацетам в условиях ЭС оказывает выраженное мембрано- и цитопротекторное действие в отношении субклеточных структур миокарда.

Выводы

1. Морфологическое исследование на субклеточном уровне наглядно иллюстрирует повреждающее действие стрессорных факторов прежде всего на мембранные структуры кардиомиоцитов (митохондрии, саркоплазматический ретикулум, стенки капилляров и др.), что приводит к нарушению выполняемых ими специфических функций: энергообеспечение, ионный метаболизм, синтез белка и репродукция белковых структур клетки, процессы электрогенеза, мышечного сокращения, репара-

ции, регенерации и резистентности клеток и многие другие взаимосвязанные процессы, обеспечивающие работу сердца при остром эмоциональном стрессе, так как каждое структурно-функциональное изменение имеет свой биохимический эквива-

лент и отражает определенное звено нарушения метаболизма.

2. Электронные микрофотографии наглядно иллюстрируют морфофункциональные проявления антистрессового кардиопротекторного действия пирacetama.

Список литературы

1. Гайер Г. Электронная гистохимия / Г. Гайер. — М. : Мир, 1974. — 488 с.
2. Карупу В. Я. Электронная микроскопия / В. Я. Карупу. — К. : Вища школа, 1984. — 208 с.
3. Хэм А. Гистология : в 5 т. / А. Хэм, Д. Кормак ; пер. с англ. под ред. Ю. И. Афанасьева, Ю. С. Ченцова. — М. : Мир, 1983. — 1983. — Т. 4. — 245 с.
4. Западнюк И. П. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария. — К. : Вища школа, 1983. — С. 243–297, 342–376.
5. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. — Strasbourg, 1986. — № 123. — 51 p.
6. Карнаух Е. В. Кардіопротекторні властивості препаратів, які володіють антистрессовою дією : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Е. В. Карнаух. — К., 2001. — 16 с.
7. Ведяев Ф. П. Модели и механизмы эмоциональных стрессов / Ф. П. Ведяев, Т. М. Воробьева. — К. : Здоров'я, 1983. — 134 с.

Е. В. Карнаух

ПИРАЦЕТАМ: МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА АНТИСТРЕСОВА КАРДІОПРОТЕКЦІЯ ЗА ДАНИМИ ЕЛЕКТРОННОЇ МІКРОСКОПІЇ

Вивчено патоморфологічні прояви пошкоджуючої дії емоційного стресу на субклітинні структури кардіоміоцитів за даними електронної мікроскопії. Проаналізовано морфофункціональний взаємозв'язок цих структурних порушень з гістохімічними еквівалентами, що характеризують стрессогенну міокардіодистрофію. Проілюстровано морфофункціональні прояви антистрессової кардіопротекторної дії пірацетаму.

Ключові слова: емоційний стрес, серце, пірацетам, електронна мікроскопія.

E. V. Karnaukh

PIRACETAM: MORPHOFUNCTIONAL ANTISTRESS CARDIOPROTECTION ON THE DATA OF ELECTRONIC MICROSCOPY

Pathomorphological manifestations of damaging action of the emotional stress on subcell structures of cardiomyocytes on the data of the electronic microscopy are studied. Morphofunctional intercommunication of the structural disturbances with histochemical equivalents, which characterized stressogenic myocardial dystrophy are analysed. The morphofunctional manifestations of piracetam's antistress cardioprotection are shown.

Key words: emotional stress, heart, piracetam, electronic microscopy.

Поступила 18.04.11