

# ВПЛИВ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЗАСОБІВ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ МІОКАРДА ЩУРІВ ЗІ СПОНТАННОЮ АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Пузиренко А.М.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

**Ключові слова:** артеріальна гіпертензія, амлодипін, ультраструктура кардіоміоцита

Тісний анатомо-функціональний зв'язок систем організму і складні механізми регуляції зумовлюють розвиток співдружних метаболічних, функціональних та структурних порушень в органах при артеріальній гіпертензії. Це обумовлює необхідність комплексного підходу до підбору для антигіпертензивної терапії ефективних серцево-судинних засобів, які будуть не тільки в достатній мірі знижувати підвищений артеріальний тиск, а й проявляти цитопротекторні властивості. В зв'язку з вище зазначеним, важливим завданням є пошук антигіпертензивних препаратів з цитопротекторними властивостями [4].

В останні роки за частотою призначень при лікуванні артеріальної гіпертензії блокатор кальцієвих каналів III покоління амлодипін посідає одне з провідних місць, що обумовлено його ефективною терапевтичною дією як антигіпертензивного засобу [2,3,5,9]. Проте, не проводилось детальних досліджень його впливу на ультраструктуру серця з морфометричним аналізом отриманих результатів.

**Мета дослідження:** вивчення дії амлодипіну на ультраструктуру міокарда у щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією та проведення морфометричного аналізу мітохондрій кардіоміоцитів.

## Матеріали та методи дослідження

Досліді по визначенню впливу амлодипіну на ультраструктуру та морфометричні показники мітохондрій кардіоміоцитів проводили на щурах зі спонтанною артеріальною гіпертензією (САГ) обох статей, що отримана на основі аутобредних щурів лінії WKY (normotensive Wistar-Kyoto rats) [6]. В якості нормотензивного контролю використовували щурів лінії WKY. Маса тварин складала 190-220 г. Тварин утримували на стандартному раціоні у віварії Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, мали вільний доступ до води та їжі протягом всього експерименту.

Дослідні тварини були розділені на групи: 1-а – група “інтактні тварини” (7 нормотензивних щурів лінії WKY); 2-а – контрольна група (7 щурів із САГ); 3-я – група з 7 щурів із САГ, яким вводили амлодипін в дозі 10 мг/кг. Дозу амлодипіну вибрано згідно літературних даних [7,8]. Експеримент тривав 3 місяці. Препарат вводили внутрішньо-ошлунково 1 раз на добу.

Для електронномікроскопічних досліджень матеріалом слугував міокард лівого шлуночка серця. Фрагменти міокарда фіксували 1% розчином чотириокису осмію на ве-

ронал-ацетатному буфері за Колфільдом. Зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації (від 70 до 100%) та ацетоном. Заливали сумішами епону та аралдиту, згідно із загальноприйнятій методиці [1]. Напівтонкі та ультратонкі зрізи з блоків отримували на ультратомах LKB (Швеція) та Reichert (Австрія). Ультратонкі зрізи контрастували 2% розчином уранілацетату та цитратом свинцю. Препарати міокарда досліджували за допомогою електронного мікроскопу ПЕМ-125К.

Морфометричні дослідження проведені за допомогою програми “Органела” на напівавтоматичному пристрої обробки графічних зображень. В кожній дослідній групі обробці піддавали 30 зон міокарда при збільшенні в 20-27 тисяч раз. Визначалися об'ємна та кількісна щільність мітохондрій в цитоплазмі кардіоміоцитів, площа зрізу та фактор форми цих органел.

Статистичну обробку даних виконано на персональному комп'ютері з використанням пакета статистичних програм Microsoft Excel 97. Вірогідність результатів оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Різниця вважалася вірогідною при рівні ймовірності  $p \leq 0,05$ .

## Результати експериментальних досліджень та їх обговорення

Електронно-мікроскопічний аналіз отриманих результатів показав, що ультраструктурна організація міокарда лівого шлуночка щурів лінії WKY не має ознак порушень. Кардіоміоцити містять міофібрили, організовані у типові саркомери, де розрізняються А та І диски, які в сусідніх міофібрилах розташовуються приблизно на одному рівні. Мітохондрії овальної або витягнутої форми, з чітко структурованою зовнішньою мембраною, матриксом помірної електронної щільності та кристами, розташованими переважно паралельно.

Морфометричний аналіз показав, що мітохондрії займають  $30,3 \pm 2,9\%$  об'єму кардіоміоцитів (табл. 1, мал. 1). Їх кількісна щільність складає  $(51,1 \pm 5,20) \times 10^{-2} / \text{мкм}^3$  при середній площі зрізу  $(41,3 \pm 2,04) \times 10^{-2} \text{ мкм}^2$  та фактора форми  $0,81 \pm 0,02$ .

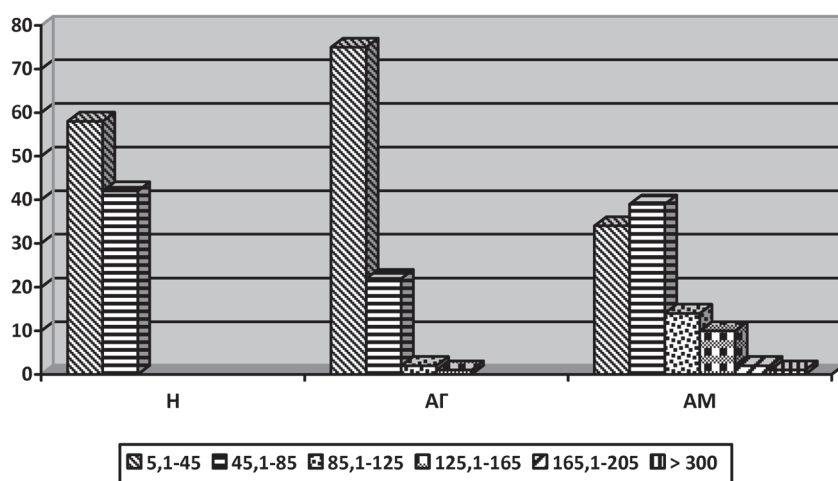
Кровоносні мікросудини здебільшого мають розкритий просвіт, куди виступає ядровмісна зона ендотеліоцитів, периферичні ділянки цих клітин помірної товщини містять переважно мікропіноцитозні пухирці.

Основною відмінністю міокарда лівого шлуночка серця щурів із САГ, від контрольних тварин на електронно-

**Морфометричні показники, що характеризують зміни мітохондрій в кардіоміоцитах гіпертензивних щурів та під впливом амлодипіну (M±m)**

Показники Групи тварин	Об'ємна щільність мітохондрій (%)	Кількісна щільність мітохондрій (10 <sup>-2</sup> /мкм <sup>3</sup> )	Площа зрізу мітохондрій (10 <sup>-2</sup> мкм <sup>2</sup> )	Фактор форми
Нормотензивні щури	30,3±2,9	51,1±5,2	41,3±2,04	0,81±0,02
Щури із САГ	21,16±2,47*	59,21±10,63	31,96±1,53*	0,78±0,006*
Амлодипін	27,46±1,76**	21,38±4,36***	81,16±7,69***	0,77±0,01***

Примітка: \* Вірогідність відносно групи "інтактні щури",  
\*\* Вірогідність відносно групи щурів із САГ



Малюнок 1. Розподіл мітохондрій за площею у щурів із САГ та під впливом амлодипіну. По осі абсцис – площа зрізу мітохондрій (10<sup>-2</sup> мкм<sup>2</sup>); по осі ординат – кількість мітохондрій (%)

мікроскопічному рівні є мозаїчність ультраструктури кардіоміоцитів, що обумовлено різним ступенем та поширеністю пошкоджень, які стосуються в першу чергу скоротливого та енергетичного апаратів цих клітин.

Лише поодинокі кардіоміоцити містять міофібрили без деструктивних ознак. Розповсюджені міофібрили з розходженням як окремих міофіламентів, так і їх груп. Спостерігається також лізис міофіламентів, який іноді поширюється на весь саркомер (фото 1А). Іншою особливістю змін міофібрил при артеріальній гіпертензії є варіації розмірів саркомерів. Навіть у межах одного кардіоміоцита відмічається чергування зменшених та збільшених у розмірах саркомерів або нерівномірне розміщення Z-ліній в сусідніх міофібрилах (фото 1А), що свідчить про роз'єднаність процесів скорочення та розслаблення. В окремих випадках скорочення міофібрил набуває значної міри, внаслідок чого в саркомерах не розрізняються А та І диски, а Z-лінії різко зближені (фото 1Б).

Порушення скоротливих структур міокарда корелюють із змінами вставних дисків, до яких вони кріпляться. В одних кардіоміоцитах має місце розширення щілини, внаслідок розходження плазматичних мембран сусідніх кардіоміоцитів (фото 1Б), в інших – ділянки плазмалем закручуються, в них змінюється порядок розташування десмосомальних та щілинних з'єднань, утворюються скуп-

чення десмосом. Причиною втрати типової топографії десмосомальних ділянок, де кріпляться міофібрили, певно є розладнаність скоротливості м'язових волокон. Загалом, десмосоми ущільнюються, їх протяжність збільшується за рахунок зменшення довжини щілинних контактів, які містять іонні канали і здійснюють передачу імпульсів між кардіоміоцитами. Це також погіршує скоротливість кардіоміоцитів.

З порушеннями скоротливості кардіоміоцитів можуть бути також пов'язані зміни, що відбуваються з системою Т-трубочок та саркоплазматичною сіткою, взаємодія яких викликає вивільнення та акумуляцію кальцію в кардіоміоцитах і чергування скорочення та розслаблення міофіламентів. У щурів із САГ каналця цієї системи повсюдно розширені, Т-трубочки глибоко проникають в кардіоміоцит (фото 1А), що і викликає, очевидно, підвищене вивільнення кальцію і, відповідно, посилене скорочення міофібрил.

При артеріальній гіпертензії мітохондрії в кардіоміоцитах лівого шлуночку часто набувають хвилястого вигляду через інвагінації зовнішньої мембрани. Подекуди спостерігається локальний лізис зовнішніх мембран, який іноді поширюється на всю мітохондрію, так що в цитоплазмі залишаються одні внутрішні мембрани – кристи. Матрикс мітохондрій в основному підвищеної електронної щільності, хоча відмічаються і електронно прозорі органели (фото 1А,Б). Останні, як правило, мають великі розміри та залишки крист (фото 1В). Загалом, кількість крист в мітохондріях зменшена, ці ультраструктури часто фрагментовані, локально розширені (фото 1А).

Морфометричний аналіз в свою чергу показав, що кількість мітохондрій в 1 мкм<sup>3</sup> дорівнює (59,21±10,63)х10<sup>-2</sup>, що не відрізняється від контролю (р>0,05) (табл. 1). При цьому їх об'ємна щільність вірогідно менша, ніж у контролі, що відбувається внаслідок зниження середньої площі їх зрізу. В той же час, аналіз розподілу мітохондрій за площею показав, що в кардіоміоцитах щурів з артеріальною гіпертензією на фоні збільшення числа дрібних мітохондрій з'являються крупні органели, які не були притаманні кон-

трольним тваринам (мал. 1). Той факт, що найбільш крупні мітохондрії набрякли, дає підставу розглядати таке збільшення розміру цих органел не як компенсаторну гіпертрофію, а як прояв дистрофічних процесів. Зниження показника фактора форми у порівнянні з контролем обумовлено наявністю мітохондрій неправильної форми.

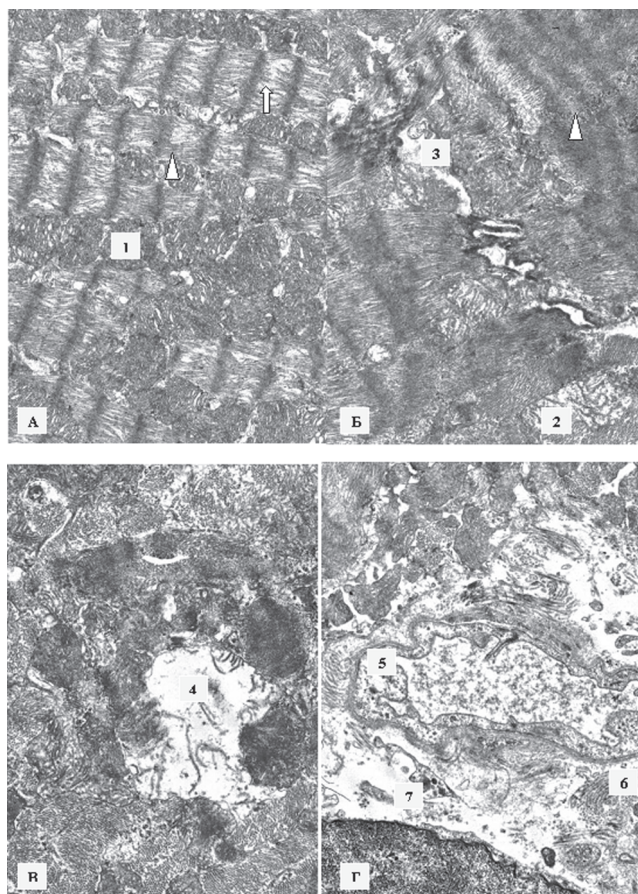
Ще однією важливою особливістю прояву артеріальної гіпертензії є набряк, який поширюється на майже усі компоненти міокарда. В кардіоміоцитах ділянки набряку спостерігаються в основному біля ядра та підсарколемально. В ендотеліоцитах кровоносних мікросудин набряк може бути локальним або поширюватися на усю клітину (фото 1Г). Але найбільш виражені процеси набряку в периваскулярному просторі, де розташовуються також дрібнодисперсний матеріал, колагенові волокна, клітинний детрит, формені елементи крові (фото 1Г). Наявність останніх є непрямим доказом порушень цілісності стінок кровоносних мікросудин, що призводить до “заболочування” інтерстиційного простору та погіршанню функціонування скоротливих клітин.

Амлодіпін в значній мірі нормалізує ультраструктуру міокарда, але повністю не відновлює його. Так, даний

антигіпертензивний препарат запобігає посиленню скоротливості міофібрил, що на ультраструктурному рівні проявляється відсутністю зменшених за розмірами сакромерів, паралельністю розташування Z та M-ліній в сусідніх сакромерах (фото 2А,Б). Загалом ділянки пошкоджених міофібрил менші, ніж у нелікованих щурів. Структури, які задіяні у кальцієвому обміні – Т-трубочки та саркоплазматична сітка без ознак пошкоджень (фото 2А).

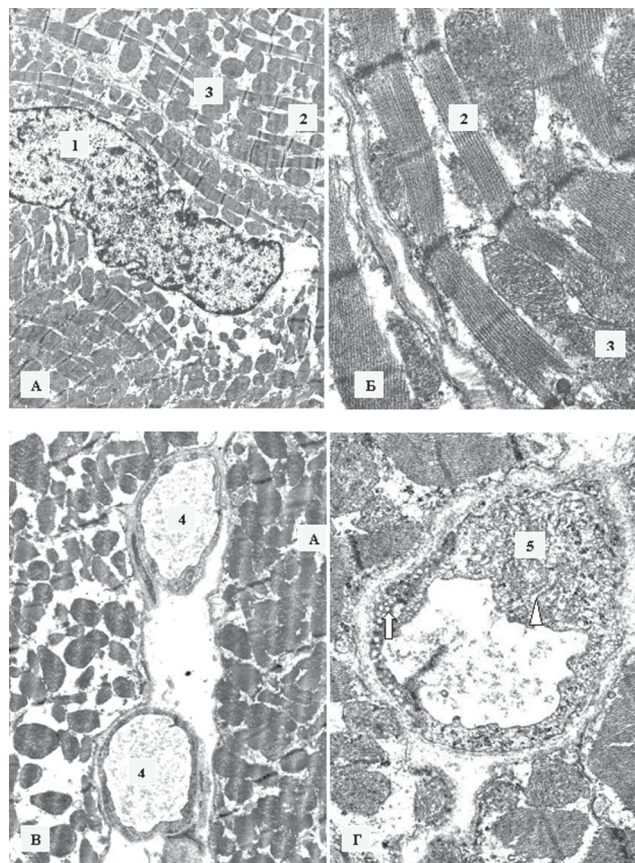
Мітохондрії переважно витягнутої форми із добре збереженою, рівною зовнішньою мембраною, а не з хвилястими контурами, як у нелікованих щурів. Мітохондрії варіюють за кількістю крист. Частина цих органел заповнена паралельно розташованими кристами, в іншій частині – більшість об’єму займає матрикс (фото 2А,Б), але в цілому збереженість зовнішніх та внутрішніх мембран мітохондрій значно краща ніж у щурів з артеріальною гіпертензією.

Морфометричний аналіз показав, що амлодіпін викликає суттєве збільшення розмірів мітохондрій. Середня площа площі зрізу дорівнює  $(81,16 \pm 7,69) \times 10^{-2} \mu\text{m}^2$ , що майже удвічі перевищує аналогічні показники у нормотензивних, і нелікованих щурів з артеріальною гіпертен-



**Фото 1.** Фрагменти міокарда лівого шлуночка серця щурів із САГ (електронномікроскопічні фото)

А, Б – перескорочені міофібрили (Δ); ділянки розходження (↑) міофібрил; електронно-уцильнені (1) та електронно-просвітлені (2) мітохондрії, вставні диски (3) у кардіоміоцитах. В – набрякла мітохондрія із залишками крист (4). Г – кровоносний капіляр вистелений ендотеліальними клітинами із набряком (5), колагенові волокна (6), клітинний детрит (7) у інтерстиційному просторі.



**Фото 2.** Міокард лівого шлуночка серця щурів із САГ після лікування амлодіпіном (електронномікроскопічні фото)

А, Б – ядро (1), міофібрили без ознак перескорочення (2), мітохондрії (3) в кардіоміоцитах. В – кровоносні капіляри з розширеними просвітами (4). Г – мітохондрії (5), каналця ендоплазматичної сітки (Δ) в ендотеліоциті помірної електронної щільності. Вакулярні структури (↑) в електронноуцильненому ендотеліоциті.

зією (табл. 1). Аналіз розподілу мітохондрій за площею показав, що збільшення їх розмірів пов'язано із зменшенням числа дрібних мітохондрій на фоні збільшення кількості середніх за розмірами органел та появою гігантських мітохондрій (мал. 1). Одночасне зменшення, більш ніж вдвічі, кількісної щільності мітохондрій призводить до того, що об'єм, який вони займають в цитоплазмі, залишається статистично незмінним у порівнянні з нормотензивними щурами. Це дає підставу вважати, що амлодіпін викликає злиття мітохондрій, яке, враховуючи добру збереженість їх ультраструктури, має компенсаторну спрямованість на фоні вазодилатації коронарних артерій та покращення перфузії міокарду. В той же час, наявність гігантських мітохондрій з ознаками набряку та лізису свідчить, що вплив цього препарату недостатній для повного відновлення енергетичної функції кардіоміоцитів.

Суттєво зменшується після лікування амлодіпіном поширеність набряку в кардіоміоцитах, ендотеліоцитах та периваскулярному просторі.

Однією із особливостей дії амлодіпіну, яка звертає на себе увагу, є значне збільшення кількості кровоносних капілярів. Невеликі діаметри, розкриті просвіти, близьке розташування (фото 2В) свідчать про їх активне новоутворення, що відновлює зменшене при артеріальній гіпертензії число цих мікросудин. Такий ангіогенез, певно, обумовлений позитивним впливом амлодіпіну на рівень синтази оксиду азоту та нормалізацією функціонального стану ендотеліоцитів, що значно страждає на фоні підвищеного АТ. Дані новоутворені судини можуть слугувати шунтами для уражених атеросклерозом артерій та сприяти зменшенню пошкоджень тканин, що пов'язані з недостатністю кровопостачання [10].

У цитоплазмі ендотеліальних клітин, які вистеляють геміокросудини, поширені рибосоми, полісоми, каналці ендоплазматичної сітки, ядра рівномірно заповнені хроматином, що є ознакою їх біосинтетичної активності (фото 2Г, 3А). В периферичних ділянках таких ендотеліоцитів розташовуються мікропіноцитозні пухирці, які подекуди утворюють скупчення (фото 3А). Поряд з такими ендотеліоцитами спостерігаються клітини з підвищеною електронною щільністю, що містять крупні пухирці, які, очевидно, приймають участь у трансендотеліальному переносі речовин (фото 2Г, 3Б). Спостерігається також незначна кількість клітин з лізованою, набряклою цитоплазмою (фото 3Б).

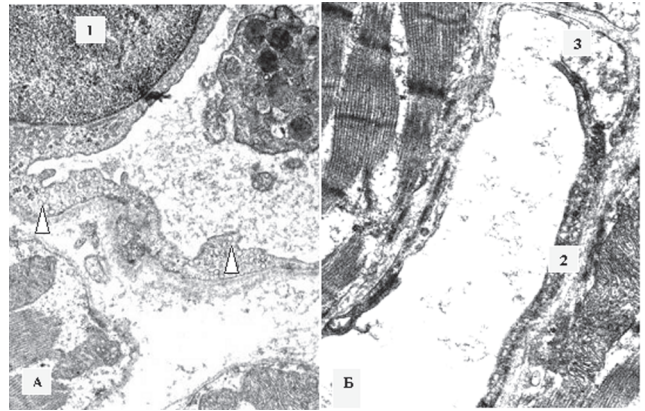
#### Висновки

1. У гіпертензивних щурів наявні значні порушення скоротливого та енергетичного апаратів кардіоміоцитів переважно деструктивного характеру.

2. Амлодіпін зменшує кількість пошкоджених міофібрил та запобігає їх посиленому скороченню. Також, лікування амлодіпіном викликає злиття мітохондрій, яке, враховуючи добру збереженість їх ультраструктури, має компенсаторну спрямованість.

3. Амлодіпін викликає значне збільшення кількості кровоносних капілярів, невеликі діаметри та розкриті просвіти яких свідчить про активне новоутворення останніх.

Рецензент: к.б.н. Куфтирева Т.П.



**Фото 3.** Міокард лівого шлуночка серця щурів із САГ після лікування амлодіпіном (електронномікроскопічні фото)  
 А – ядро (1), скупчення мікропіноцитозних везикул (Δ) в ендотеліоциті гемокапіляра  
 Б – електронно ущільнений (2) та світлий, набряклий (3) ендотеліоцит у посткапілярі.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Карупу В.Я. *Электронная микроскопия* / В.Я. Карупу. – Киев: Вища школа, 1984. – 208 с.
2. Казак Л.І. *Антагоністи кальцію у фармакоterapiї артеріальної гіпертензії* / Л.І. Казак, І.С. Чекман, Н.Д. Реплячук // *Рациональная фармакоterapia*. – 2011. – № 2(19). – С. 56-58.
3. Красницікий В.Б. *Современные антагонисты кальция: органопротективные и сердечно-сосудистые профилактические эффекты* / В.Б. Красницікий, И.В. Кузнецова, М.Г. Бубнова // *Кардиология и ангиология*. – 2011. – № 1. – С. 52-59.
4. Маколкин В. И. *Гипертоническая болезнь* / В. И. Маколкин, В. И. Подзолков. – М.: Русский врач, 2000. – 96 с.
5. Несукай Е.Г. *“Левовращающий переворот” в кардиологии?* / Е.Г. Несукай // *Артериальная гипертензия*. – 2011. – № 1(15). – С. 16-20.
6. *Патофизиологический анализ факторов риска артериальной гипертензии и атеросклероза* / А.Л. Маркель, Л.Н. Маслова, Г.Т. Шишкина [и др.]. – Новосибирск, 1992. – 72 с.
7. *Additive beneficial effects of amlodipine and atorvastatin in reversing advanced cardiac hypertrophy in elderly spontaneously hypertensive rats* / J.C. Lu, W. Cui, H.L. Zhang [et al.] // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2009. – Vol. 36. – № 11. – P. 1110 – 1119.
8. *Effects of amlodipine orotate on hypertension-related complications in spontaneously hypertensive rats* / S.M. Choi, J.E. Kim, B.O. Ahn [et al.] // *Arzneimittelforschung*. – 2006. – Vol. 56. – № 1. – P. 12 – 17.
9. *Effect of rennin-angiotensin system blockade on calcium channel blocker-associated peripheral edema* / H. Makani, S. Bangalore, J. Romero [et al.] // *The American journal of medicine*. – 2011. – Vol. 124. – P. 128-135.
10. *Нарушение функции эндотелия – препятствие для терапевтического ангиогенеза* / L. Sun, Y. Bai, G. Du // *Therapia*. – 2011. – № 7-8. – С. 68-75.

**ВЛИЯНИЕ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНЫХ СРЕДСТВ  
НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ МИОКАРДА КРЫС  
СО СПОНТАННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**

*Пузыренко А.Н.*

*Национальный медицинский университет  
имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина*

**Резюме.** Установлено, что у гипертензивных крыс выявлены значительные нарушения сократительного и энергетического аппаратов кардиомиоцитов преимущественно деструктивного характера. Амлодипин уменьшает количество поврежденных миофибрилл, препятствует их усиленному сокращению. Также, под действием амлодипина происходит слияние митохондрий, которое, учитывая хорошую сохранность их ультраструктуры, имеет компенсаторный характер. Особое внимание привлекает тот факт, что амлодипин способен вызывать увеличение количества кровеносных капилляров, небольшие диаметры и раскрытые просветы которых, свидетельствуют об активном новообразовании последних.

**Ключевые слова:** артериальная гипертензия, амлодипин, ультраструктура кардиомиоцита.

**EFFECT OF ANTIHYPERTENSIVE AGENTS  
ON THE ULTRASTRUCTURE OF THE MYOCARDIUM  
OF RATS SPONTANEOUSLY HYPERTENSION**

*Andrii M. Puzyrenko*

*National O.O. Bohomolets Medical University,  
Kyiv, Ukraine*

**Summary.** It has been found out that hypertensive rats have substantial malfunction of contractile and energy cardiomyocyte apparatuses of predominantly destructive nature. Amlodipine decreases number of injured myofibrils, prevents their amplified contraction. This preparation promotes mitochondrial fusion which, due to good integrity of organelle ultrastructure, has compensatory nature. Special attention should be given to the fact that amlodipine is able to induce significant increase in number of blood capillaries, small diameter and disclosed lumen of which is the evidence of active new growth of the latter.

**Keywords:** hypertension, amlodipine, ultrastructure of cardiomyocytes