

ВЗАИМОСВЯЗЬ РЕАКЦИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АППАРАТА И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКСУСОВ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ В ОТВЕТ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ВНУТРИУТРОБНОЙ ГИПОКСИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Н. С. Петрук, М. В. Иванченко, И. В. Твердохлеб

Днепропетровская медицинская академия, Украина

Цель работы заключается в определении взаимосвязи реакций митохондриального аппарата и распределения нексусов сократительных кардиомиоцитов в постнатальном онтогенезе в ответ на воздействие хронической внутриутробной гипоксии. Электронно-микроскопический анализ миокарда желудочков крысы показал, что более 40 % длины щелевых контактов находилось в локальном сопряжении с митохондриальными кластерами. Митохондрии, которые располагались под сарколеммой, образовывали тесные ассоциации со щелевыми контактами — митохондриально-нексусные комплексы. Взаимодействие щелевых контактов и митохондрий обусловлено их морфофункциональными особенностями и пространственной взаимосвязью как в зрелом миокарде, так и в развивающемся сердце.

Ключевые слова: крысы, миокард, кардиогенез, нексус, митохондрия, внутриутробная гипоксия.

RELATIONSHIP OF MITOCHONDRIA REACTIONS AND DISTRIBUTION OF GAP JUNCTIONS IN CONTRACTILE CARDIOMYOCYTES IN POSTNATAL ONTOGENESIS INDUCED BY EXPERIMENTAL CHRONIC INTRAUTERINE HYPOXIA

N. S. Petruk, M. V. Ivanchenko, I. V. Tverdokhle

The aim of this study was to determine the relationship between mitochondrial reactions and the distribution of gap junctions in contractile cardiomyocytes in postnatal ontogenesis experimentally induced by chronic intrauterine hypoxia. Electron-microscopic analysis of rats' ventricular myocardium showed that more than 40 % of the length of gap junctions conjugated with local mitochondrial clusters. Subsarcolemmal mitochondria were closely linked with gap junctions forming gap junction-mitochondria complexes. The interaction of gap junctions and mitochondria is conditioned by their morphological and functional features and their spatial relationship both in a mature myocardium and in the developing heart.

Key words: rat myocardium, cardiogenesis, gap junctions, mitochondria, intrauterine hypoxia.

Аритмия — серьезное и часто фатальное патологическое состояние. Данные морфологического исследования сердца, развивающегося в условиях хронической пренатальной гипоксии, показывают, что в миокарде определяются признаки апоптоза и дистрофии с определенной степенью взаимосвязи выраженности морфологических изменений с клинически выявленными нарушениями ритма и проводимости [4].

Многочисленные наблюдения свидетельствуют о том, что количество, размер и пространственное распределение щелевых контактов являются основой проводимости сердечной ткани. Определение роли нексусов как межклеточного пути для адекватного распространения электрического возбуждения, необходимого для синхронизации сокращений в интактном миокарде, приводит к вопросу о роли изменений в организации нексусов и экспрессии коннексинов. На данный момент установлено, что изменения щелевых контактов являются характерной чертой аритмогенных заболеваний сердца человека [12]. До сегодняшнего дня остается открытым вопрос о взаимосвязи реакций митохондрий сократительных кардиомиоцитов и механизмов, ассоциированных с нарушениями распределения нексусов, лежащих в основе сердечной патологии.

Выраженность изменений в митохондриальном аппарате, прежде всего в его АТФ-продуцирующей функции, отображается на обеспечении энергетических потребностей сердца как одного из наиболее энергозависимых органов, что приводит к необходимости исследовать внутримитохондриальные реакции в реализации патоморфологических изменений.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определение взаимосвязи реакций митохондриального аппарата и распределения нексусов сократительных кардиомиоцитов в постнатальном онтогенезе в ответ на воздействие хронической внутриутробной гипоксии.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

При проведении экспериментально-морфологического анализа в качестве объекта исследования использованы белые беспородные крысы массой (220 ± 25) г и их потомство на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сут. после рождения. Моделирование хронической пренатальной гипоксии средней степени тяжести у крыс экспериментальной группы (92 животных) проводили путем внутрибрюшинного введения 1%-го водного раствора NaNO_2 в расчете 50 мг/кг массы тела, начиная с 10-го по 21-й день бере-

менности. В качестве контроля использовались интактные крысы (84 животных). Получение датированной беременности и забор материала осуществляли согласно стандартным методикам. 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.

Дальнейшую обработку полученного материала проводили согласно общепринятым методам световой и электронной микроскопии. Анализ ультраструктурных изменений кардиомиоцитов на этапах постнатального онтогенеза в норме и после воздействия хронической пренатальной гипоксии осуществляли в лаборатории электронной и световой микроскопии кафедры гистологии (ГУ «ДМА МЗ Украины») с помощью трансмиссионного электронного микроскопа ПЭМ 100-01 («SELM»), Украина при ускоряющем напряжении 75—85 кВ и первичных увеличениях от 1500 до 80000. На последующих этапах анализ изображений проводили с помощью специализированного программного обеспечения ImageJ v. 1,47 [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электронно-микроскопическое исследование желудочкового миокарда крысы интактной группы показало, что в постнатальном периоде онтогенеза происходило перераспределение дисперсно расположенных по сарколемме щелевых контактов в сторону вставочного диска. При морфологическом анализе во вставочном диске сократительных кардиомиоцитов наблюдалось два вида нексусов: малые дисковидные, входящие в состав складчатого сегмента, и длинные лентовидные нексусы (≥ 3 мкм) в межкладчатом участке вставочного диска (вдоль миофибрилл). При анализе желудочкового миокарда с помощью трансмиссионного электронного микроскопа отмечалось типичное пенталамилярное строение щелевых контактов, обусловленное особенностями организации этого вида соединения (рис. 1), в котором нексусный канал состоит из пары гемиканалов (коннексонов), расположенных на соседних мембранах и сформированных из 6 коннексиновых молекул (Cx40, Cx43, Cx45) [12]. Совокупность нескольких таких межклеточных каналов образует нексусную пластинку соединения.

Более 40 % длины щелевых контактов было сопряжено с митохондриальными комплексами. Митохондрии, которые располагались под сарколеммой, образовывали тесные ассоциации со щелевыми контактами (митохондриально-нексусные комплексы), при этом расстояние между ними и прилегающим нексусом составляло 20 нм и менее (рис. 2). Ультраструктура щелевых контактов широко варьировала относительно прилегающей митохондрии или группы органелл. Местами профиль нексуса повторял контур митохондрии или образовывал пальцевидные изгибы сарколеммы, которые состояли исключительно из щелевых контактов и попе-

речно или продольно инвагинировали в соседнюю клетку, окутывая кластеры митохондрий (рис. 3). Исследование электронограмм показало, что субсарколеммальная популяция митохондрий была представлена полиморфными органеллами. Среди них были органеллы небольшого объема и с умеренной площадью поверхности внешней и внутренней митохондриальной мембран («низкоэнергетические»). Также отмечались органеллы небольших размеров, количество и соответственно плотность крист в которых значительно превышала аналогичные показатели других типов митохондрий. Определялись митохондрии большого размера вытянутой или шаровидной формы. Они, в основном, имели упорядоченную ориентацию крист и умеренно плотный матрикс. В них кристы были умеренно или слабо ориентированы. Именно эта субпопуляция «высокоэнергетических» митохондрий часто находилась в тесном сопряжении со щелевыми контактами.

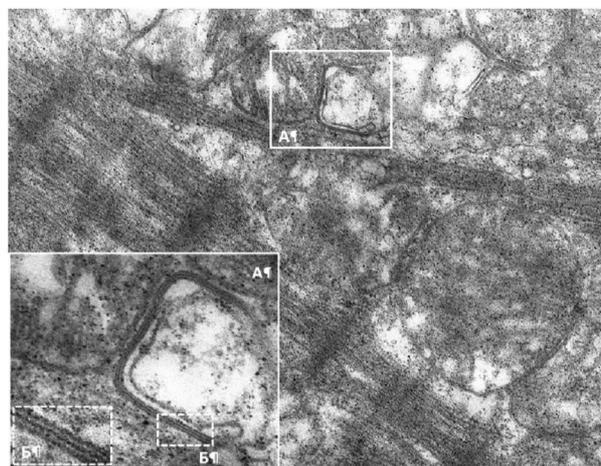


Рис. 1. Сократительный кардиомиоцит миокарда крысы левого желудочка в норме на 14-е сут. постнатального онтогенеза. $\times 45000$. А — Нексусно-митохондриальный комплекс. Б — Детали пенталамилярного строения щелевого контакта

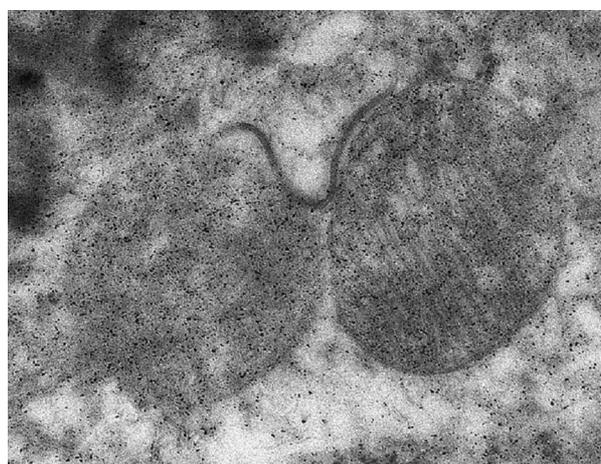


Рис. 2. Субсарколеммальная зона сократительного кардиомиоцита левого желудочка крысы в норме на 30-е сут. постнатального онтогенеза. Нексус, прилегающий к митохондриям, повторяет их контур. $\times 75000$

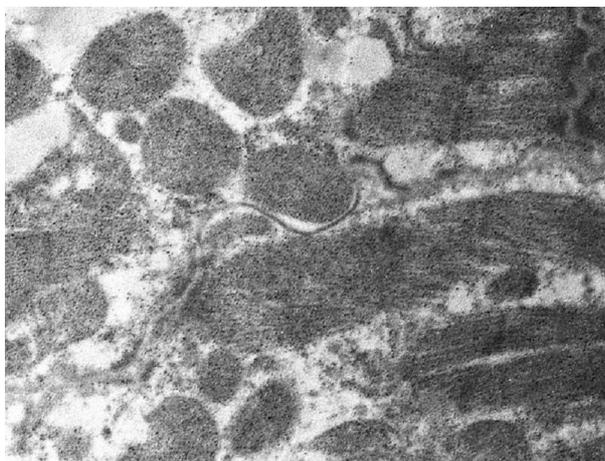


Рис. 3. Миокард левого желудочка крысы в норме на 30-е сут. постнатального онтогенеза. Митохондриально-нексусный комплекс. $\times 25000$

Указанная неоднородность в морфологии митохондрий имеет метаболическую основу, поскольку данные популяции органелл имеют различные функциональные свойства, то есть обладают разной скоростью окислительного фосфорилирования и ферментативной активностью [10]. Между митохондриями и щелевыми контактами часто отмечалось увеличение электронной плотности цитозоля, что, возможно, связано с повышенной концентрацией ионов. Поскольку митохондрии накапливают ионы Ca^{2+} , тесная связь между ними и нексусами направлена на поддержание постоянного уровня внутриклеточной концентрации Ca^{2+} вблизи щелевых контактов, регулирующего тем самым их ионную проницаемость.

Исследования последних лет показали, что желудочковые кардиомиоциты активно экспрессируют изоформы коннексина (Cx43). В свою очередь, Cx43 является не только трансмембранным белком, формирующим каналы (коннексоны) щелевых контактов. Также его свободные карбокси-терминалы находятся в ядре и могут оказывать модулирующий эффект на синтез ДНК, рост клетки и ее дифференциацию [9].

Известно, что в субсарколеммальных популяциях митохондрий также присутствует Cx43 [7]. Однако митохондриальный Cx43 существует преимущественно в фосфорилированной форме [6], подтверждая то, что фосфорилирование может играть важную роль в регуляции содержания митохондриального Cx43 [11]. Cx43 расположен во внутренней мембране митохондрий и осуществляет регуляцию поступления ионов K^+ в матрикс, имеет кардиопротекторное значение при ишемическом повреждении сердца и фармакологическом прекогнициировании. Становится очевидным, что взаимодействие щелевых контактов и митохондрий обусловлено их морфофункциональными особенностями и пространственной взаимосвязью. Похожие коммуникации определялись не только в зрелом миокарде, но и в развивающемся сердце.

Ультраструктурное исследование миокарда крыс, который развивался в условиях внутриутробной гипоксии,

показало, что пренатальная хроническая гипоксия приводит к прогрессирующим изменениям митохондриально-аппарата и перераспределению нексусов на этапах постнатального кардиогенеза. В наших предыдущих работах было показано, что в группе эксперимента отмечались не только признаки задержки перераспределения нексусов в зону вставочного диска, но и образование «патологических» латеральных нексусов, которые располагались на расстоянии от вставочного диска [3]. Последние не образовывали пространственной ассоциации (колокализации) с механическими контактами и характеризовались вариабельной морфологией со сложными изгибами мембраны и часто плотно прилегали к подлежащим полиморфным митохондриям и другому клеточному материалу. Аппарат субсарколеммальных митохондрий, который был сопряжен с нексусами, также подвергся значительным изменениям. На этапах раннего постнатального кардиогенеза процессы деградации митохондрий (особенно «высокоэнергетической» субпопуляции) в этой зоне клеток были усилены и значительно преобладали над процессами репродукции. Органеллы находились в состоянии выраженного отека, в наружной мембране значительного количества митохондрий наблюдались трещины и разрывы, что приводило к утечке матрикса. Отмечались лопнувшие «пустые» и сморщенные органеллы, в матриксе которых содержались мелкодисперсные аморфные массы [2]. Полученные данные свидетельствуют о том, что митохондрии экспериментальной группы не были способны эффективно осуществлять окислительное фосфорилирование и синтез АТФ, несмотря на наличие достаточного уровня кислорода и субстратов окисления. Количество митохондриально-нексусных комплексов снижалось. Только после первой недели постнатального периода наблюдался активный пролиферативный процесс митохондрий субсарколеммальной локализации, их физиологический отек и восстановление пространственно ориентированной системы митохондриального ретикулула. Однако исследование миокарда на последующих этапах показало увеличение доли «низкоэнергетических» органелл в этой зоне клетки и как следствие неэффективная энергопродуцирующая функция митохондрий.

Данные литературы подтверждают, что острая ишемия миокарда [1], которая возникает у крыс экспериментальной группы на 3-и сут. в результате сочетания постгипоксических изменений и воздействия окислительного стресса, приводит к внутриклеточному накоплению Ca^{2+} , возникновению прогрессирующего клеточного ацидоза, увеличению продуктов метаболизма липидов и стремительному снижению АТФ, что увеличивает дефосфорилированные формы Cx43 и, как следствие, приводит к электрическому разобщению миокарда, которое является основой возникновения аритмий [5]. Также известно, что дефосфорилирование Cx43 приводит к закрытию нексусных каналов и может служить первым шагом на пути к перемещению белков щелевого соединения из зоны контакта в цитоплазму при ишемии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Субсарколеммальные митохондрии находятся в тесном сопряжении со щелевыми контактами. Особенности гетерогенности митохондрий определяют структуру и пространственность митохондриально-нексусных комплексов.

2. В условиях пренатального воздействия хронической гипоксии наряду с уменьшением размеров, числа нексусов и их латерализацией в постнатальном периоде онтогенеза происходит уменьшение количества митохондриально-нексусных комплексов, что приводит к нарушению анизотропной модели проведения импульса по миокарду и к формированию условий для проаритмогенной активности.

3. Снижение степени сопряжения связано на ранних этапах постнатального онтогенеза с выраженной деградацией «высокоэнергетических» органелл, на последующих этапах — с неэффективной энергопродуцирующей функцией митохондрий вследствие увеличения доли «низкоэнергетических» органелл в субсарколеммальной зоне клетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заднипряный И. В., Третьякова О. С. // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины — 2011. — Т. 1, № 1. — С. 40—45.

2. Іванченко М. В. // Світ медицини та біології. — 2014. — № 1 (43). — С. 122—126.
3. Петрук Н. С. // Світ мед. та біол. — 2014. — Т. 10, № 1 (43). — С. 146—149.
4. Шейбак Л. Н. // Медицинские новости. — 2008. — № 2. — С. 18—22.
5. Beardslee M. A., Lerner D. L., Tadros P. N., et al. // Circ. Res. — 2010. — Vol. 878. — P. 656—662.
6. Boengler K., Dodoni G., Rodriguez-Sinovas A., et al. // Cardiovasc. Res. — 2005. — Vol. 67. — P. 234—244.
7. Boengler K., Stahlhofen S., van de Sand A., et al. // Basic Res. Cardiol. — 2009. — Vol. 104, № 2. — P. 141—147.
8. Collins T. J. // BioTechniques. — 2007. — Vol. 43. — P. 25—30.
9. Jiang J. X., Gu S. // Biochim Biophys Acta. — 2005. — Vol. 1711, № 2. — P. 208—214.
10. Kuznetsov A. V., Margreiter R. // Int. J. Mol. Sci. — 2009. — Vol. 10 — P. 1911—1929.
11. Ruiz-Meana M., Rodriguez-Sinovas A., Cabestrero A. // Cardiovasc. Res. — 2008. — Vol. 77, № 2. — P. 325—333.
12. Severs N. J., Coppin S. R., Dupont E., et al. // Card. Res. — 2004. — Vol. 62, № 2. — P. 368—377.

Контактная информация

Твердохлеб Игорь Владимирович — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой гистологии, Днепропетровская медицинская академия, г. Днепропетровск, Украина, e-mail: ivt@dsma.dp.ua

УДК 61:796(470.45)

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ СПОРТСМЕНОВ И ЛИЦ, ЗАНИМАЮЩИХСЯ СПОРТОМ, В ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ: РЕЗУЛЬТАТЫ ДИНАМИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ

Е. Г. Вершинин, О. А. Гуро

Волгоградский государственный медицинский университет, кафедра медицинской реабилитации и спортивной медицины с курсом медицинской реабилитации, лечебной физкультуры, спортивной медицины, физиотерапии факультета усовершенствования врачей, Волгоградский областной клинический центр восстановительной медицины и реабилитации № 1

Представлена структура заболеваний и их сравнительная характеристика у спортсменов и лиц, занимающихся спортом в Волгоградской области за период 2010—2013 гг. Приведены структурные показатели заболеваемости и распределение заболеваний по нозологическим формам.

Ключевые слова: заболеваемость спортсменов, углубленный медицинский осмотр, Волгоградская область.

COMPARATIVE ANALYSIS OF MORBIDITY IN SPORTSMEN AND INDIVIDUALS INVOLVED IN SPORTS ACTIVITIES IN THE VOLGOGRAD REGION: DYNAMIC OBSERVATION FINDINGS

E. G. Vershinin, O. A. Guro

A comparative analysis of morbidity patterns in sportsmen and individuals involved in sports activities in the Volgograd region was carried out between 2010 and 2013. Morbidity findings and data on the distribution of different nosological forms of diseases are presented in the article.

Key words: morbidity in sportsmen, complete medical examination, Volgograd region.

О необходимости уделять большее внимание об- ющих спортсменов, учащихся детско-юношеских щества и государственных структур здоровью действу- спортивных школ отмечается в специальной литерату-