

Структурно-метаболические факторы неадекватности пластического обеспечения функции миокарда при хронической сердечной недостаточности некоронарного генеза

А.С. Гавриш, В.Г. Хаджинский, О.Л. Киндзерская, С.И. Дорофеева

Национальный научный центр «Институт кардиологии им. акад. Н.Д. Стражеско» АМН Украины, г. Киев

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сердечная недостаточность, пластическое обеспечение функции, вентрикулярные кардиомиоциты

Долговременное функционирование любой биологической системы предполагает сбалансированность перманентно текущих в ней дезинтегративных и восстановительных процессов [7]. Режим компенсаторной гиперфункции вентрикулярных кардиомиоцитов (КМЦ) при становлении и развитии хронической сердечной недостаточности различного генеза резко повышает требования к механизмам внутриклеточной регенерации, определяющим эффективность адаптации миокарда к работе в новых условиях [6]. Ситуацию усугубляют альтеративные изменения, которые перманентно возникают в рабочих клетках миокарда, обуславливая перераспределение функциональной нагрузки между клеточными и субклеточными структурами, в той или иной степени сохранившими способность обеспечивать сократимость КМЦ и миокарда в целом [2].

Этиологические факторы неизбежно сообщают определенную специфику процессу формирования стереотипных изменений, приводящих к сердечной недостаточности, пато- и морфогенез которой нуждается в дальнейшем изучении, в том числе и при ее развитии вне непосредственной связи с ограничениями коронарной гемоперфузии, что и определило цель данного исследования.

Материал и методы

Сердечную недостаточность моделировали путем производившихся на протяжении 2 мес повторных внутривенных инъекций субтоксических доз адреналина и кофеина [2]. Материал для исследований получали через 1 мес после

последней инъекции, то есть после ликвидации острых адреналовых повреждений миокарда, фиксировали в 10-процентном растворе нейтрального формалина и заключали в парафиновые блоки. Гистотопограммы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизон и железным гематоксилином по Рего. ДНК выявляли с помощью галлоцианина, РНК – пиронином по Браше с соответствующим ферментным контролем, SH-группы – ферриферрицианидным методом [5], ядрышковые организаторы – с использованием AgNO_3 [4]. Для электронной микроскопии образцы ткани префиксировали в забуференном изотоническом 4-процентном растворе параформа, дофиксировали 1-процентным раствором OsO_4 , обезвоживали и заключали в эпоксидные смолы по стандартной прописи [3]. Ультратонкие срезы получали на приборе LKB-8800, контрастировали солями тяжелых металлов и исследовали в электронном микроскопе «ПЭМ-125К». Морфометрический анализ выполняли по электронограммам с увеличением 8000 [1, 6] с использованием статистической программы Microsoft Excel XP.

Результаты и их обсуждение

В перестройке миокарда экспериментальных животных неразрывно объединены полиморфные деструктивные и репаративные процессы, обусловленные ускоренным износом всех структурно-функциональных компонентов вентрикулярных КМЦ, перманентно работающих в режиме компенсаторной гиперфункции. Эти изменения происходят на фоне диффузного и мелкоочагового кардиосклероза (рис. 1), не

всегда адекватного энергетического обеспечения функции миокарда и контроля за электролитным гомеостазом его рабочих клеток, явлений оксидантного стресса, дискоординации сигнал-трансдукторных систем КМЦ, индуцируемой экзо- и эндогенными факторами при нарушении функции их защитных механизмов, в частности конститутивных NO-синтаз, и активации процессов внутриклеточного катаболизма и лизосомного аппарата в том числе (А.С. Гавриш, 2007).

Рассогласование дезинтегративных и восстановительных процессов влечет более или менее глубокие изменения цитоархитектоники и альтеративные явления в рабочих клетках миокарда, которые в критических случаях приобретают необратимый характер. Отклонения от нормы во внутренней структуре вентрикулярных КМЦ определяются как нарушениями пространственного распределения органелл, так и модификацией их качественных характеристик. На клеточном уровне это приводит к гипертрофии или атрофии клеток, что, однако, мало влияет на усредненные объемные соотношения их сократительных элементов и митохондрия (рис. 2).

Вне прямой зависимости от объема КМЦ миофибриллы существенно отличаются по толщине, их гипертрофия часто сопровождается незавершающимся продольным расщеплением на фрагменты произвольных размеров со встраиванием различных органелл в узкие вновь образованные межмиофибриллярные щели. Адаптивные изменения не ограничиваются локальными явлениями гипертрофии и гиперплазии контрактильных элементов. Во многих КМЦ дискоординация регенераторных процессов приводит к избыточному накоплению гипертрофического материала, обуславливающего утолщение и размытость Z-линий, откладывающегося под сарколеммой, образующего мостики между телофрагмами смежных саркомеров (рис. 3а). Нередко выявляют клетки с функционально нецелесообразным размещением контрактильных структур в различных, иногда взаимоперпендикулярных плоскостях (рис. 3б).

Неотъемлемым компонентом морфофункциональных изменений контрактильного аппарата КМЦ является качественная модификация структур, непосредственно осуществляющих специализированную механическую функцию рабочих клеток миокарда, о чем свидетельствуют угнетение активности миозиновой АТФазы почти на 17 % и достоверное снижение в них

концентрации SH-групп, сочетающееся с подчеркнуто неравномерным распределением маркирующего их продукта при соответствующем гистохимическом тесте.

В распределении, ультраструктуре и метаболической активности митохондрий также присутствуют изменения, указывающие на неадекватность регенераторных механизмов КМЦ напряженному функционированию в условиях

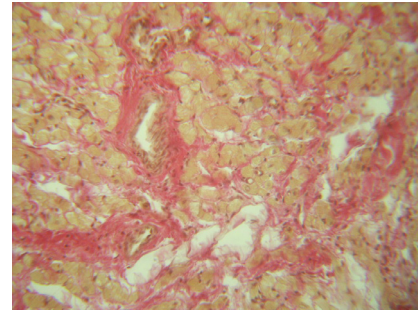


Рис. 1. Диффузный и мелкоочаговый кардиосклероз, неравномерная гипертрофия и атрофия КМЦ. Пикрофуксин по Ван Гизон. Ув. 240.

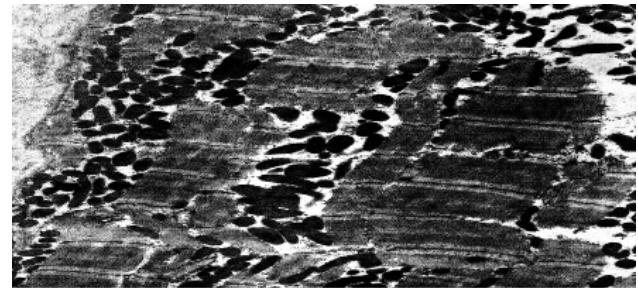


Рис. 2. Перестройка ультраструктуры вентрикулярного КМЦ с явлениями гипертрофии, гиперплазии и нарушением обычного взаиморасположения митохондрий и миофибрилл. Ув. 3500.

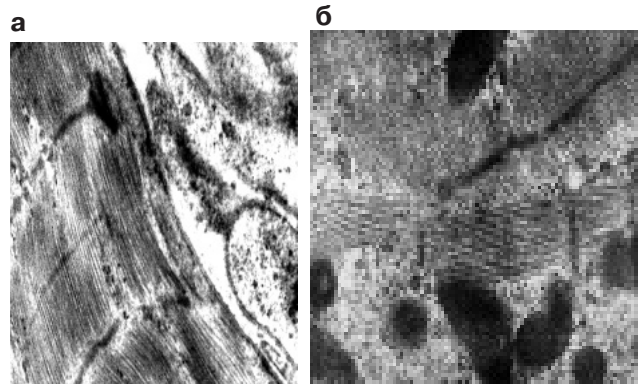


Рис. 3. Патологическая перестройка контрактильного аппарата КМЦ: а – деформация саркомеров и избыточное накопление Z-материала; б – альтерация и дезориентация миофибрилл. Ув. 10 000.

смоделированной хронической миокардиальной недостаточности. Обычное для венстрикулярных КМЦ межмиофибрилярное линейно-цепьевидное распределение органелл часто нарушается вследствие их избыточной пролиферативной активности, обуславливающей формирование глобулярных или лентовидных скоплений митохондрий в перинуклеарной зоне, под сарколеммой либо между раздвигаемыми ими миофибриллами (см. рис. 2).

Наряду с малоизмененными митохондриями, повсеместно встречаются органеллы усложненной, неправильной формы, удлинённые на два-три саркомера, глобулярные, значительно увеличенные в объеме, с многочисленными компактно упакованными кристами либо, напротив, мелкие, «гипоплазированные», с несколькими короткими складками своей внутренней мембраны, доминирование которых наиболее характерно для клеток, расположенных вблизи очагов кардиосклероза (рис. 4).

Отклонения в реализации восстановительных процессов неразрывно связаны с ограничениями эффективности этих органелл в качестве основного внутриклеточного депо Ca^{2+} и главного источника макроэргических фосфатов, о чем свидетельствует снижение коэффициента энергетической эффективности митохондрий на 40 %. Это, в свою очередь, неизбежно сопряжено с их трансформированием в активного поставщика активированных форм кислорода и других апоптогенных факторов [Л.С. Мхитарян и соавт., 2004; А.А. Мойбенко и соавт., 2008].

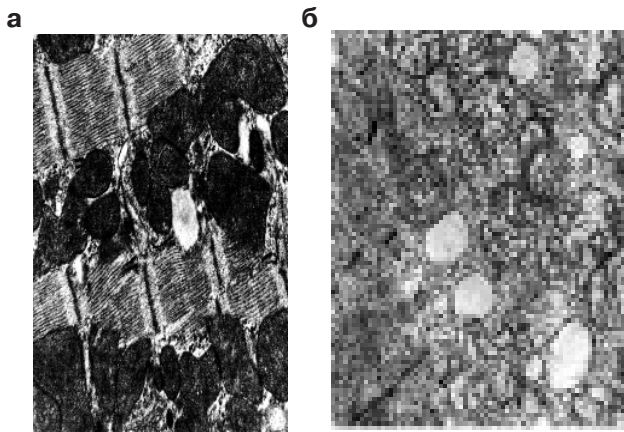


Рис. 4. Адаптационные и деструктивные изменения митохондрий КМЦ: а – выраженный полиморфизм с крупноочаговой гомогенизацией внутренней мембраны; б – уменьшение количества и дезориентация митохондриальных крист. Скопление гранул рибонуклеопротеинов между гипоплазированными органеллами. Ув. 12 000.

В зависимости от выраженности гиперпластических и атрофических изменений контрактильных структур и митохондрий в КМЦ формируются зоны объемного преобладания тех или других ультраструктурных компонентов клетки, в обоих случаях более или менее существенно нарушающее ее обычную архитектуру. Такое «разобщение» функционально тесно связанных органелл негативно влияет на сократимость КМЦ, усугубляя последствия альтернативных явлений.

В ответ на обусловленное смоделированной ситуацией усиление катаболических процессов компенсаторно активируется пластическая функция КМЦ, что находит отражение в ряде морфофункциональных сдвигов, касающихся соответствующих клеточных структур. В большинстве КМЦ функциональное напряжение нуклеарного аппарата сопровождается сглаживанием контуров нуклеолеммы, дилатацией ее пор, сужением перинуклеарной цистерны. Нередко умеренно набухшие, увеличенные в объеме ядра смещаются из аксальной в субсарколеммную зону клетки. Их умеренно просветленная нуклеоплазма заполнена относительно равномерно распределенным мелкопетлистым эухроматином при практическом отсутствии осмиофильных глыбок конденсированного гетерохроматина с суммарным ростом содержания нуклеарной ДНК почти на 21 % (рис. 5а).

Ядра обратимо поврежденных КМЦ содержат увеличенные в объеме ядрышки, в которых фибриллярная нуклеолома маскируется количественно преобладающим гранулярным компонентом (рис. 5б). Гиперплазия ядрышек отмечается так же закономерно, как и их гипертрофия, вследствие чего количество этих органелл в одном ядре может возрастать до трех-четырех и более (рис. 5в). Часто ядрышки размещаются в непосредственной близости от нуклеолеммы. Количество аргентофильных ядрышковых организаторов, активных центров репликации ДНК и синтеза рибосом возрастает на 27 %, создавая предпосылки для эффективной реализации макромолекулярного биосинтеза в саркоплазме.

Морфологические признаки функционального напряжения ядерно-ядрышкового комплекса отмечаются даже при уменьшении объема КМЦ, утрачиваются лишь при их прогрессирующих деструктивных изменениях. В таких случаях просветление нуклеоплазмы набухающего или слож-

ноконтурного ядра может быть обусловлено не только гидратацией, но и конденсацией или потерей нуклеарного вещества. При этом ядрышки утрачивают гранулярный компонент, приобретают грубопетлистый вид, а обнажающаяся гипертрофическая нуклеолонема иногда подвергается фрагментации или коллапсу.

Вместе с тем прямая зависимость между пластической активностью нуклеарных структур и состоянием саркоплазматического пула рибонуклеопротеинов (РНП), непосредственно контролирующего репаративные процессы, достаточно непостоянна, тогда как коррелятивная связь между структурной сохранностью КМЦ и уровнем РНК в их саркоплазме вполне очевидна. В саркоплазме КМЦ с обратимыми альтеративными явлениями повсеместно встречаются гранулы РНП, свободно лежащие и ассоциированные с регенерирующими протофибриллами, короткие цепочки полирибосом и фрагменты гранулярного эндоплазматического ретикулаума. Их типичная локализация, помимо перикариона, – скопления митохондрий и зоны активного наращивания массы контрактильного аппарата КМЦ (см. рис. 4б).

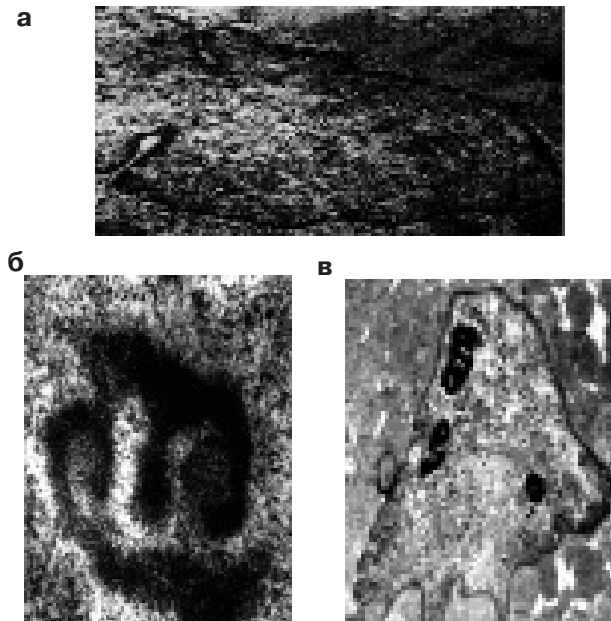


Рис. 5. Ядерно-ядрышковый аппарат вентрикулярных КМЦ при моделировавшейся патологии: а – глубокая складчатость нуклеолеммы при относительно равномерном распределении хроматина. Ув. 10 000; б – гипертрофия ядрышка с доминированием его гранулярного компонента над фибриллярным. Ув. 45 000; в – резкое усложнение рельефа нуклеолеммы, гипертрофия и гиперплазия ядрышек, перинуклеарное скопление митохондрий. Ув. 5500.

Прогрессирование деструктивных сдвигов в гиперфункционирующих КМЦ закономерно сочетается со снижением содержания РНК в их саркоплазме. Несмотря на неравномерное окрашивание различных КМЦ при реакции Браше, ее суммарный уровень в сократительном миокарде экспериментальных животных (по данным количественной оценки интенсивности резистентной к РНКазе пиринофилии) составляет менее половины контрольного показателя. В результате повышенная активность ядерно-ядрышкового комплекса КМЦ не может быть реализована вследствие элиминирования саркоплазматического пула РНП.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что, по меньшей мере, один из возможных механизмов этого феномена связан с лизосомным аппаратом КМЦ. Обязательным условием адаптации гиперфункционирующих клеток к новым условиям является их эффективное освобождение от продуктов ускоренного износа и обусловленной оксидантным стрессом либо другими катаболическими факторами дезинтеграции внутриклеточных мембранных структур и подвергающихся денатурации белковых комплексов, неизбежно возрастающих в интенсивно работающих клетках. Реализация функции лизосом как ключевого звена катаболической систе-

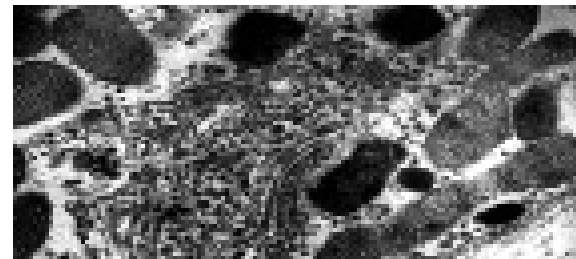


Рис. 6. Субсарколеммный фрагмент гипертрофированного пластинчатого комплекса Гольджи, окруженный полиморфными везикулами и лизосомами. Ув. 16 000.



Рис. 7. Скопление вторичных лизосом в фокусе альтерации митохондрий и контрактильных элементов КМЦ. Ув. 12 000.

мы КМЦ, обеспечивающей санацию внутриклеточной среды, морфологически подтверждается активным новообразованием запасательных гранул как в околядерной зоне, так и в периферических регионах клетки, вокруг гипертрофированных элементов пластинчатого комплекса Гольджи, обнаруживаемых по всей территории КМЦ (рис. 6). При этом объемная плотность лизосом возрастает более чем на 50 %.

Лизосомы, трансформирующиеся во вторичные формы с электроннооптически плотным матриксом, проявляют выраженный тропизм к зонам пролиферации гипоплазированных митохондрий и очагам лизиса контрактильных структур. Последующий катаболический эффект лизосом реализуется неоднозначно. В физиологическом варианте это происходит путем трансформирования органелл в аутофаголизосомы с полиморфным содержанием, по объемукратно превосходящие запасательные гранулы.

Другой, наносящий прямой ущерб клетке, вариант повреждающего воздействия лизосом осуществляется вне этих органелл, при их пассивном участии. При этом фосфолипидная оболочка этих органелл, оказывающаяся мишенью воздействия различных дезинтегрирующих, в том числе оксидантных факторов, утрачивает четкость своих контуров и барьерные свойства. В результате одним из важнейших компонентов агрессивного полиферментного комплекса, освобождаемого лизосомами во внутриклеточную среду, оказываются РНКазы, которые разрушают саркоплазматическое звено сложной системы пластического обеспечения функции КМЦ, причиняя клетке гораздо больший ущерб, чем прямое дезинтегрирующее воздействие лизосомальных гидролаз.

Таким образом, неадекватность пластического обеспечения рабочих клеток миокарда, являясь облигатным компонентом патогенеза сердечной недостаточности, имеющим свои морфофункциональные эквиваленты, представляет собой важный механизм альтеративных изменений вентрикулярных КМЦ, возникающих и прогрессирующих как под воздействием соответствующих этиопатогенетических факторов, так и вследствие неспособности репаративных процессов компенсировать ускоренный износ и повреждения инфраструктуры рабочих клеток миокарда в новых условиях их функционирования.

Выводы

1. Патогенез миокардиальной недостаточности (смоделированный нами вариант) представляет собой сложный многофакторный процесс, который приводит к дисбалансу деструктивных и восстановительных явлений, интенсивно происходящих в компенсаторно гиперфункционирующих вентрикулярных кардиомиоцитах. При этом один из важнейших факторов неадекватности регенераторных механизмов кардиомиоцитов определяется диссоциацией саркоплазматического компонента системы пластического обеспечения их функции, в существенной мере обусловленной чрезмерным активированием лизосомного звена катаболического аппарата клетки и нарушением его физиологических функций.

2. По своим механизмам пластическая недостаточность кардиомиоцитов может быть определена как первичная, инициально обусловленная блокированием регенераторных механизмов клетки, и вторичная, возникающая вследствие повреждения их соответствующего звена факторами, которые появляются и накапливаются в гиперфункционирующих клетках по мере развития патологического процесса. В наших наблюдениях таковым является элиминирование саркоплазматического пула РНК вследствие лабилизации лизосом, обусловленной продуктами нарушенного клеточного метаболизма.

3. Оптимизация пластического обеспечения функции сократительного миокарда может рассматриваться как перспективное направление профилактики и лечения сердечной недостаточности.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Руководство. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Гавриш О.С., Шульц Н.В., Киндзерская О.Л., Хаджинский В.Г. Духота А.В. Структурно-метаболические аспекты адаптивной и патологической перестройки миокарда при хронической сердечной недостаточности некоронарного генеза // Укр. кардіол. журн. – 2007. – № 5. – С. 95-99.
3. Карупу В.Я. Электронная микроскопия. – К.: Вища школа, 1984. – 208 с.
4. Мамаев П.М., Ковалева О.В., Аминова К.Х. и др. Оценка пластической функции кардиомиоцитов методом посеребрения ядрышек у оперированных больных ишемической болезнью сердца // Архив патологии. – 1993. – № 3. – С. 43-45.
5. Лили Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 645 с.
6. Пауков В.С., Фролов В.А. Элементы патологии сердца. – М.: Медицина, 1982. – 272 с.
7. Саркисов Д.С., Пальцын А.А., Втюрин Б.В. Электронно-микроскопическая радиоавтография клетки. – М.: Медицина, 1980. – 204 с.

Поступила 29.03.2010 г.

Structural and metabolic factors of inadequacy of plastic supply of myocardial function in chronic heart failure of non-coronary origin

A.S. Gavrysh, V.G. Hadzhynsky, O.L. Kindzerskaya, S.I. Dorofeyeva

Model of the chronic heart failure was created in rabbits 2.5–3.5 kg by repeat injections of subtoxic dosages of epinephrine and coffeine. Material of the studied performed with complex of histological and histochemical methods, electronic microscopy and morphometry was received 1 month after last injection of the cardiotropic factors. The results of the studies made possible to follow morphogenesis of the induced inadequacy of plastic supply of the ventricular cardiomyocytes and showed its important pathogenetic role in the development of chronic contractile myocardial hypofunction in the model.