

ОСОБЕННОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АППАРАТА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ КАРДИОМИОПАТИЯХ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Фёдорова Е.В., Новаковская С.А.

*ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»,
г. Минск, Беларусь*

Проведен ультраструктурный, морфометрический и гистохимический анализ состояния митохондрий кардиомиоцитов при кардиомиопатиях различного генеза: экспериментальной доxorубициновой кардиомиопатии, дилатационной, гипертрофической кардиомиопатиях. Полученные данные свидетельствуют о том, что при кардиомиопатиях различного генеза выявляются признаки митохондриальной недостаточности, которые морфологически характеризуются реорганизацией митохондриального аппарата, уменьшением числа межмитохондриальных контактов и дезорганизацией митохондриального ретикула.

Ключевые слова: митохондрии, ультраструктура, доxorубицин-индуцированная кардиомиопатия, идиопатические кардиомиопатии.

FEATURES OF THE MITOCHONDRIAL APPARATUS OF CARDIOMYOCYTES IN CARDIOMYOPATHIES OF VARIOUS GENESIS

Fiodorova E.V., Novakovskaya S.A.

*Institute of Physiology of National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Belarus*

Ultrastructural, morphometric and histochemical analysis of the state of mitochondria of cardiomyocytes in cardiomyopathies of various origins was carried out: experimental doxorubicin cardiomyopathy, dilated, hypertrophic cardiomyopathies. The data obtained indicate that in cardiomyopathies of various origins, signs of mitochondrial insufficiency are revealed, which are morphologically characterized by reorganization of the mitochondrial apparatus, a decrease in the number of intermitochondrial contacts and disorganization of the mitochondrial reticulum.

Keywords: mitochondria, ultrastructure, doxorubicin-induced cardiomyopathy, idiopathic cardiomyopathies.

Введение. В настоящее время дискутируется вопрос о патогенетической роли нарушений клеточной биоэнергетики в развитии заболеваний миокарда. Ключевым звеном метаболизма в клетке являются митохондрии, играющие основную роль в обеспечении организма энергией, в регенерации супероксид радикала, реализации механизмов программированной клеточной гибели и в депонировании внутриклеточных ионов Ca^{2+} [1]. Кардиомиопатии (КМП) – гетерогенная группа заболеваний, характеризующаяся выраженной

структурной перестройкой миокарда, неуклонно прогрессирующим течением, развитием сердечной недостаточности, резистентностью к терапии, высокой смертностью вследствие жизнеугрожающих аритмий [2]. КМП могут наблюдаться на фоне следующих митохондриальных синдромов: синдроме MELAS, синдроме MERRF, синдроме Кернса-Сейра, синдроме дефицита НАДН-коэнзим Q-редуктазы. Вместе с тем известно, что митохондриальная дисфункция может быть причиной развития не только полиорганной патологии, но и проявляться преимущественным поражением миокарда. Описаны случаи гипертрофической КМП (ГКМП) при дефиците цитохром-С-оксидазы, дефиците карнитина, снижении активности комплексов цепи дыхательных ферментов митохондрий, низкой активности пальмитоил-коэнзим-А-дегидрогеназы. При дилатационных КМП (ДКМП) дефекты транспорта карнитина/нарушения оксидации жирных кислот встречаются в 40% случаев. Нарушение митохондриальной биоэнергетики и функции описаны и при токсических КМП [3]. Тем не менее механизмы, лежащие в основе возникновения митохондриальной дисфункции при КМП, сложны и требуют дальнейшего углубленного изучения. Определение характера и степени митохондриальных нарушений становится актуальной диагностической проблемой, а также имеет особое значение для разработки эффективных методов терапевтической коррекции пациентов с КМП [1–3].

Цель: анализ состояния митохондриального аппарата кардиомиоцитов (КМЦ) миокарда лабораторных крыс при моделировании доксорубициновой КМП и пациентов с дилатационной и гипертрофической формами КМП.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования послужили миокард левого желудочка лабораторных крыс с доксорубицин-индуцированной КМП (n=20); фрагменты миокарда желудочков сердца, полученные при трансвенозной эндомиокардиальной биопсии у 9 пациентов с клиническим диагнозом ДКМП и во время хирургической операции у 25 пациентов с клиническим диагнозом ГКМП в ГУ «Республиканский научно-практический центр «Кардиология». Моделирование экспериментальной КМП осуществлялось путем дробного внутрибрюшинного введения доксорубицина гидрохлорида (ДОКС) («Белмедпрепараты», РБ) в кумулятивной дозе 15 мг/кг, разделенной на 6 инъекций (по 2,5 мг/кг) в течение 14 дней [4]. Верификацию ДОКС-индуцированной КМП осуществляли по данным массометрического анализа, развитию признаков застойной сердечной недостаточности (гидроторакса, геморрагического асцита, застойной печени). Животным контрольной группы одновременно с подопытными животными вводился физиологический раствор в дозе, соответствующей их массе тела. Выведение животных из эксперимента осуществлялось на 30-е сутки после последнего введения препарата.

В работе использован электронно-микроскопический метод исследования [5]. Срезы готовили на ультрамикротоме LKB-8800 (Швеция) и просматривали в электронном микроскопе JEM-100 CX (Jeol, Япония). Морфометрический анализ электронограмм осуществлялся с использованием программы обработки данных «ImageJ» (1.49k, США). Оценивали количество митохондриальных профилей на срезах, среднюю площадь одной митохондрии на срезе (мкм^2), соотношение общей площади сечений митохондрий на срезе к общей площади КМЦ, которое определяет объемную долю митохондрий в объеме КМЦ (%), количество межмитохондриальных контактов (ММК) на 100 митохондрий.

Активность ферментов энергетического обмена, сукцинатдегидрогеназы (СДГ, КФ 1.3.99.1) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ 1.1.1.27), определяли по методике Ллойда по плотности конечного продукта реакции формазана. Количественную оценку активности ферментов СДГ и ЛДГ проводили с помощью программы Image J (1.49k, США) после применения функции Invert. Полученные результаты обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Достоверными считали различия между контрольной и опытной группами при значениях $p < 0,05$ (Mann–Whitney U-test). Данные представлены в виде $Me [Q1; Q3]$, где Me – медиана, $Q1$ – первый квартиль или 25-й процентиль, $Q3$ – третий квартиль или 75-й процентиль.

Результаты. Анализ миокарда крыс контрольной группы на ультраструктурном уровне показал многочисленные митохондрии овальной формы с параллельно ориентированными и плотно расположенными кристами, матрикс которых характеризовался умеренной электронной плотностью. Многие органеллы соединялись между собой посредством хорошо выраженных ММК (рис. А). При электронно-микроскопическом исследовании миокарда левого желудочка крыс на 30-е сутки после ДОКС-индуцированной КМП во всех случаях выявлены гетерогенные изменения ультраструктурной организации митохондрий: часть органелл была округлой формы с плотным темным матриксом и четкими кристами, другие имели более просветленный гомогенизированный матрикс без четких границ наружных мембран и отсутствие ММК. В отдельных КМЦ наблюдались большие скопления свободно лежащих митохондрий с деструктивными изменениями: просветленным матриксом, разрушенными и редуцированными кристами (рис. Б). Некоторые органеллы подвергались полной деструкции с образованием ламеллярных структур.

На 30-е сутки в опытной группе крыс установлено достоверное снижение объемной доли митохондрий в КМЦ миокарда на 17,8% (29,61% [25,97; 32,54]) по сравнению с контролем (36,02% [32,35; 40,12]) ($p < 0,01$). Также отмечалось

достоверное уменьшение медианы площади митохондрии на срезах на 21,7%, что составило 0,47 [0,43; 0,50] мкм² (в контрольной группе – 0,6 [0,54; 0,65] мкм²) ($p < 0,01$). Количество митохондриальных профилей на срезах составило 35 [32; 38], что было на 12,9% выше контрольных значений (31 [28; 34]) ($p < 0,05$). Нарушение целостности хондриома КМЦ в виде утрачивания ММК и обособление части органелл сопровождалось достоверным снижением количества ММК на 23,6% по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$) и составило 27,5 [25; 30], в контрольной группе – 36 [34; 41].

Активность СДГ – фермента, расположенного на внутренней мембране митохондрий и участвующего в цикле Кребса в аэробном окислении углеводов – на 30-е сутки наблюдения в КМЦ грызунов достоверно снизилось на 12,5%, и составило 116,8 (108,7; 123,5) у.е. ($p < 0,01$) по сравнению со значениями, полученными при изучении гистологических препаратов контрольной группы животных 133,5 (130,1; 137,1) у.е. Активность ЛДГ – фермента, участвующего в конечных этапах протекающего в анаэробных условиях гликолиза – возросла на 14,3% и составила 130,8 (127,9; 133,9) у.е. (в контрольной группе – 114,4 (110,5; 118,8) у.е.) ($p < 0,01$).

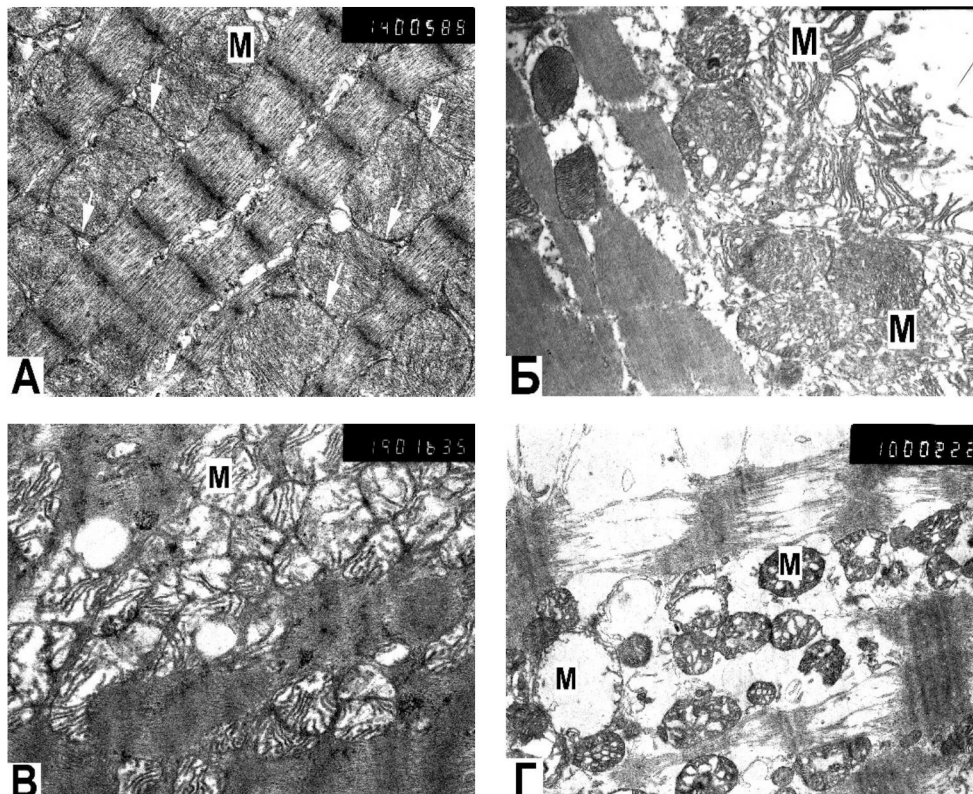


Рис.1. Ультраструктурная реорганизация митохондриального аппарата КМЦ миокарда крыс контрольной группы (А) и при КМП различного генеза (Б-Г)

М – митохондрии; межмитохондриальные контакты указаны белыми стрелками.

А – ультраструктура митохондрий крысы контрольной группы; Б – реорганизация митохондрий при ДОКС-индуцированной КМП; В – реорганизация митохондрий при ДКМП; Г – реорганизация митохондрий при ГКМП.
Увеличение x14000 (А, Б), x19000 (В), x10000 (Г).

В сократительных клетках миокарда пациентов с идиопатическими КМП (ДКМП и ГКМП) выявлен значительный гетероморфизм митохондрий. Органеллы имели различные размеры: от мелких до крупных гипертрофированных форм. В сохранных КМЦ митохондрии располагались ровными рядами вдоль миофибрилл либо образовывали перинуклеарно или по периферии гроздевидные скопления. Разрозненность митохондрий и разобщенность их с миофибриллами и ядром постоянно выявлялись в мышечных клетках с деградацией клеточных структур. В гипертрофированных КМЦ с утолщенными миофибриллами органеллы были набухшие, с частично или полностью исчезнувшими кристами вплоть до образования вакуолярных полостей (рис. В). Деградирующие КМЦ, имеющие разрушенные миофибриллы, содержали как мелкие митохондрии с сжатым электронно-плотным матриксом, так и лизированные мегамитохондрии (рис. Г). Часть органелл была трансформирована в аутофагические тельца в виде миелиноподобных структур. В отдельных клетках обнаруживались септированные митохондрии и митохондрии с перетяжками.

Результаты морфометрического анализа свидетельствуют, что объемная доля митохондрий на срезах биопсийного материала пациентов с ДКМП составила 21,96% [16,80; 27,47], что достоверно больше на 4,0% объемной доли митохондрий при ГКМП (17,93% [14,16; 22,13]) ($p < 0,01$). При этом отмечено статистически значимое уменьшение медианы площади митохондрии на срезах пациентов с ДКМП (0,18 [0,14; 0,21] $\mu\text{м}^2$) на 28,0% в сравнении с группой ГКМП (0,25 [0,18; 0,31] $\mu\text{м}^2$) ($p < 0,01$).

Заключение. При моделировании ДОКС-индуцированной КМП и при идиопатических КМП (дилатационная и гипертрофическая форма) выявляются признаки митохондриальной недостаточности, которые морфологически характеризуются реорганизацией митохондриального аппарата, уменьшением числа ММК и дезорганизацией митохондриального ретикулума.

Ультраструктурная трансформация митохондриального аппарата КМЦ при ДОКС-индуцированной КМП сопровождается значимым снижением объемной доли митохондрий в КМЦ, средней площади митохондрий и уменьшением количества ММК. Изменения на ультраструктурном уровне идут параллельно с метаболической перестройкой, включающей переключение с аэробного на анаэробный способ получения энергии.

Особенностью идиопатических КМП (ДКМП и ГКМП) является различная степень вовлечения митохондрий КМЦ в патологический процесс: от минимальных до глубоких необратимых изменений. Для ДКМП в отличие от ГКМП характерно уменьшение площади митохондрии и увеличение объемной доли органелл в клетках.

Литература

1. Mitochondrial dysfunction and heart disease : critical appraisal of an overlooked association / G. Bisaccia [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 2. – P. 1-19.
2. Cardiomyopathies : an overview / T. Ciarambino [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 14. – P. 1-25.
3. Huang, Y. Mitochondrial dysfunction in cardiac diseases and therapeutic strategies / Y. Huang, B. Zhou // *Biomedicines.* – 2023. – Vol. 11, № 5. – С. 1-29.
4. Effect of fermented *Cordyceps sinensis* on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats / R. Wu [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2018. – Vol. 18, № 3. – P. 3229-3241.
5. Боголепов, Н. Н. Методы электронно-микроскопического исследования мозга / Н. Н. Боголепов. – М. : Издание Института мозга АМН СССР, 1976. – 72 с.