

С.А. Новаковская

ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АППАРАТА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

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

Установлены ультраструктурные особенности митохондриальной дисфункции при дилатационной кардиомиопатии. Прогрессирование заболевания сопровождается накоплением в миокарде поврежденных митохондрий, активацией процессов аутофагии, митоптоза.

Ключевые слова: *миокард, кардиомиоцит, митохондрии, аутофагия, апоптоз*

S.A. Novakovskaya

FEATURES OF THE ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF THE MITOCHONDRIAL APPARATUS OF CARDIOMYOCYTES IN DILATED CARDIOMYOPATHY

Ultrastructural features of mitochondrial dysfunction in dilated cardiomyopathy have been established. The progression of the disease is accompanied by the accumulation of damaged mitochondria in the myocardium, activation of the processes of autophagy and mitoptosis.

Keywords: *myocardium, cardiomyocyte, mitochondria, autophagy, apoptosis*

Актуальность. Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) является наиболее распространенной формой кардиомиопатий, характеризуется необструктивным расширением левого желудочка сердца, снижением сократительной способности миокарда при отсутствии гемодинамической перегрузки сердца, непрерывным прогрессирующим течением. ДКМП является причиной формирования хронической сердечной недостаточности, морфологической основой которой является генетически предрасположенная перестройка сердца на клеточном уровне, сопровождаемая гипертрофией его полостей, недостаточной васкуляризацией, фиброзом, уменьшением количества функциональных кардиомиоцитов (КМЦ) [1]. Экспериментальными исследованиями установлено, что важную роль в патогенезе ДКМП играет нарушение окислительного фосфорилирования, связанного со снижением активности митохондриальной электронно-транспортной системы вследствие мутации митохондриальной ДНК [2]. Выделена группа митохондриальных кардиомиопатий, которые следует рассматривать как заболевания миокарда, ассоциированные со структурными и функциональными нарушениями митохондрий, которые чаще являются составной частью полиорганных заболеваний. Это генетически обусловленные заболевания, возникающие вследствие мутаций митохондриальной и ядерной ДНК.

Дефекты митохондриальной ДНК представлены крупными делециями и точковыми мутациями, а дефекты ядерной ДНК, затрагивающие около 30 генов, приводят к ее множественным делециям и резкому снижению ее содержания (синдром истощения).

Структурные изменения митохондрий в виде фрагментации, дезорганизации митохондриальных крист с потерей митохондриальных гранул приводят к уменьшению количества функционирующих органелл, к нарушению энергетического обмена, проявлением которого является нарушение синтеза АТФ. Максимальное снижение внутриклеточного содержания АТФ приводит к генерации митохондриями супероксидных радикалов, которые активизируют процессы перекисного окисления липидов, окислительных повреждений белков и нуклеиновых кислот. Продукция избыточного количества активных форм кислорода оказывает повреждающее действие на КМЦ. Митохондрии являются основным звеном, воспринимающие сигналы, которые активизируют процессы аутофагии, некроза, апоптоза. Их повреждение приводит к инициации механизмов программированной клеточной гибели вследствие открытия митохондриальных пор и выхода из митохондрий в КМЦ цитохрома С, ингибиторов антиапоптотических белков, предшественников каспаз.

В целях изучения механизмов патогенеза прогрессирования сердечной недостаточности (СН) при ДКМП была поставлена задача – на ультраструктурном уровне изучить характер и последовательность развития митохондриальной дисфункции у пациентов с ДКМП на разных клинических стадиях заболевания.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлся миокард правого и левого желудочка сердца пациентов, которым диагноз ДКМП был поставлен на основании клинико-инструментальных исследований во время прохождения обследования и лечения в РНПЦ «Кардиология». Работа выполнена на биоптатах миокарда, полученных путем трансфеморального доступа с использованием направляющего катетера из зоны выходного тракта правого желудочка, а также на биопсийном интраоперационном материале левого желудочка эксплантированного сердца пациентов при ортотопической трансплантации сердца донора. По стадиям развития заболевания пациенты были разделены на 2 группы: 1 группу составляли пациенты с развернутыми клиническими проявлениями ДКМП и относительно сохраненной сократительной способностью миокарда на фоне поддерживающей терапии (II-III ФК СН); 2 группу составляли пациенты с терминальной стадией ДКМП и декомпенсированной сократительной способностью миокарда (III-IV ФК СН).

В работе использован электронно-микроскопический метод исследования. Кусочки ткани миокарда из верхушки и зоны выходного тракта правого желудочка, а также левого желудочка сердца фиксировали в растворе, состоящем из 3% глутарового альдегида и 1% параформы, после чего материал измельчали и обрабатывали 2% раствором четырехокси

осмия. После промывания 0,1 М фосфатным буфером материал обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и заключали в аралдит по общепринятой методике [3]. Срезы готовили на ультратоме марки RTPC PowerTome (RMC Bockeler, США), контрастировали цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-100B (Jeol, Япония).

Результаты и их обсуждение. Электронно-микроскопическое исследование миокарда пациентов с ДКМП показало, что прогрессирование заболевания сопровождается развитием митохондриальной дисфункции. У пациентов 1 группы с развернутыми клиническими проявлениями ДКМП и относительно сохраненной сократительной способностью миокарда в околоядерном пространстве КМЦ отмечают объемные скопления измененных митохондрий, которые концентрируются в толще разволокненных миофибриллярных пучков и в подсарколеммальной области, формируя выпячивания саркоплазмы. Часть митохондрий имеет просветленный отечный матрикс с дезорганизованными укороченными кристами, многие из которых подвергаются деструкции. В матриксе, в центре и на периферии митохондрий, определяются электронно-прозрачные вакуоли, появление которых способствует резкому набуханию органелл и разрушению их мембран. Выявляются отечные митохондрии с полностью лизированными кристами, которые принимают вид вакуолей, заполненных бесструктурной субстанцией, набухшие митохондрии, содержащие в матриксе миелоноподобные тельца, и гигантские митохондрии с лизированным матриксом и хлопьевидными включениями разрушенных внутренних мембран. Характерно выявление электронно-плотных митохондрий, имеющих небольшие размеры и темный сжатый матрикс с нечеткой дифференцировкой крист. Подобная ультраструктура органелл соответствует их дезэнергизированному состоянию, что приводит к снижению уровня митохондриального дыхания, нарушению метаболических процессов в КМЦ.

Накопление большого количества поврежденных митохондрий в КМЦ способствует выработке активных форм кислорода и развитию окислительного стресса, снижению синтеза АТФ и активности АТФ-зависимых ферментов. В КМЦ среди электронно-плотных митохондрий определяются мелкие органеллы, имеющие форму бусинок, в которые трансформируются поврежденные митохондрии. Данный процесс характеризуется как митоптоз и предшествует апоптозу. Популяции мелких митохондрий перемещаются в зону ядра, причем часть органелл концентрируется вдоль ядерной оболочки и тесно с ней контактирует, другие органеллы сквозь поры ядерной оболочки проникают внутрь кариоплазмы, перенося апоптотические белки в генетический аппарат ядра. Проникновение трансформированных митохондрий в кариоплазму запускает митохондриальный путь программированной клеточной гибели, причиной индукции которого является повышение концентрации свободного кальция в саркоплазматическом ретикулуме поврежденных КМЦ и окислительный стресс [4]. Повышение уровня кальция внутри

митохондрий способствуют появлению на их внутренней мембране транзиторных пор, открытие которых способствует проникновению митохондриальных проапоптотических факторов в саркоплазму КМЦ. В миокарде активируются процессы аутофагии. В КМЦ, в области концентрации поврежденных митохондрий, выявляются многочисленные электронно-плотные скопления фагосом и фаголизосом, содержащие фрагменты разрушенных митохондрий и миофибрилл. На некоторых участках саркоплазмы отмечается слияние фаголизосом и формирование объемных многокамерных электронно-плотных структур, в толще которых определяется множество мелких деструктивно измененных митохондрий, вакуолей и хлопьевидных включений.

У пациентов 2 группы с терминальной стадией ДКМП и декомпенсированной сократительной способностью миокарда в КМЦ выявляются гигантские скопления деструктивно измененных митохондрий, оттесняющие миофибриллы на периферию клетки. Среди них определяются митохондрии с частично или полностью разрушенными кристами, отежные органеллы с полностью лизированным матриксом. Объемные скопления деструктивно измененных митохондрий с фрагментированными и лизированными кристами отмечаются вокруг ядер КМЦ, которые вплотную прилежат к кариолемме и образуют с ней контакты. Выявляются электронно-плотные митохондрии с темным матриксом и неопределяемыми кристами, а также митохондрии, заполненные скоплениями ламеллярных структур. На некоторых участках саркоплазмы наблюдаются группы митохондрий с поврежденными наружными и внутренними мембранами, распадающимся матриксом. Разрушенные фрагменты крист, представленные в виде мелких ламеллярных структур, образуют множественные скопления, концентрирующиеся в толще гипертрофированных цистерн саркоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи КМЦ. Значительное количество полиморфных митохондрий сердечных миоцитов с частично или полностью поврежденным матриксом располагается подсарколеммально. В местах своей локализации органеллы формируют пальцеобразные выступы клеточной оболочки.

В центре митохондриальных скоплений выявляются электронно-прозрачные вакуоли и лизосомы, которые выделяют биологически активные вещества, расщепляющие фрагменты разрушенных митохондрий. На некоторых участках КМЦ лизосомы сливаются и формируют гигантские прозрачные вакуоли, частично заполненные фрагментами ламеллярных структур. Выявление большого количества электронно-плотных фагосом в толще скоплений деструктивно измененных митохондрий указывает на протекание процессов аутофагии. Фагосомы поглощают фрагменты распавшихся органелл и сливаясь с лизосомами, образуют гигантские электронно-плотные структуры, фаголизосомы. Накопление в КМЦ большого количества митохондрий с поврежденным матриксом, разрушение крист и наружных мембран митохондрий, трансформация

органелл в электронно-прозрачные лизосомы вследствие литического распада их матрикса, активация процессов аутофагии с появлением в саркоплазме КМЦ многочисленных фаголизосом, гигантских лизосом с фрагментами ламеллярных структур разрушенных органелл свидетельствует о прогрессировании деструктивных процессов в миокарде пациентов на терминальной стадии ДКМП.

Заключение. Прогрессирование ДКМП сопровождается развитием митохондриальной дисфункции, которая характеризуется накоплением в миокарде большого количества поврежденных митохондрий. Выявление электронно-плотных органелл, имеющих сжатый матрикс с нечеткой дифференцировкой крист указывает на деэнергезированное состояние митохондрий, что приводит к снижению уровня митохондриального дыхания, нарушению метаболических процессов в КМЦ.

Трансформация поврежденных митохондрий в мелкие электронно-плотные органеллы, имеющих форму бусинок (явление микромитохондриоза) указывает на процесс митоптоза, который предшествует апоптозу. Мелкие митохондрии перемещаются в зону ядра и через поры ядерной оболочки проникают внутрь кариоплазмы, запуская митохондриальный путь программированной клеточной гибели.

Увеличение количества отечных митохондрий с электронно-просветленным матриксом, разреженными, частично или полностью лизированными кристами свидетельствует о нарушении процессов энергообразования и потере возможности включения на клеточном уровне компенсаторно-приспособительных механизмов с целью сохранения энергообразующей поверхности крист в условиях гипоксии. Выявление набухших митохондрий с электронно-прозрачным матриксом, имеющих вид вакуолей, указывает на снижение биоэнергетических внутриклеточных процессов.

Формирование фагосом и фаголизосом, их слияние с образованием объемных электронно-плотных структур на месте поврежденных и разрушенных митохондрий свидетельствует о протекании процесса митофагии, приводящего к уменьшению образования макроэргических соединений в КМЦ, усилению окислительного стресса за счет образования активных форм кислорода.

Концентрация фаголизосом в околядерном пространстве, формирование тесных контактов между органеллами и ядерной оболочкой указывают на вовлечение в процесс аутофагии ядер КМЦ, которые, под влиянием гидролитических ферментов подвергаются расщеплению и последующему поглощению фаголизосомами. Избыточная аутофагия приводит к повреждению сердечной мышцы вследствие аутофагической гибели КМЦ.

Литература

1. Heusch, G. Coronary blood flow in heart failure: cause, consequence and bystander / Heusch, G. // Basic Research in Cardiology. – 2022. – Vol. 117:1.
2. Ramaccini, D., Montoya-Urbe V., Aan F.J. et al. Mitochondrial Function and Dysfunction in Dilated Cardiomyopathy / Ramaccini, D., Montoya-Urbe V., Aan F.J. et al. // Front Cell Dev Biol. – 2020. – Vol. 8.
3. Боголепов, Н.Н. Методы электронно-микроскопического исследования мозга / Н.Н Боголепов. – М., 1976. – 71 с.
4. Harris, D.M., Mills G.D. et. al. Alterations in early action potential repolarization causes localized failure of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release / Harris, D.M., Mills G.D. et. al. // Circ Res. – 2005. – V. 96(5). – P. 543-50.