

М.В. Данилишина

Морфологические аспекты энергетического дефицита миокарда при хронической гиперхолестеринемии

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев

Ключевые слова: хроническая гиперхолестеринемия, энергетический дефицит миокарда, изменения кардиомиоцитов, окислительно-восстановительные ферменты.

Хроническая гиперхолестеринемия, которую воспроизводили в эксперименте, проявляется морфологической гетерогенностью кардиомиоцитов, обусловленной параллельным протеканием адаптационных и альтеративных процессов в клетках. Эти процессы возникают на фоне постепенно нарастающего энергетического дефицита, о котором свидетельствуют изменения активности окислительно-восстановительных ферментов. Морфологически данные изменения проявляются перестройкой и повреждением гликокаликса и рецепторного аппарата кардиомиоцитов; модификацией цитомембран с изменением активности ассоциированных с ними энзимов, дислиппротеидемией и оксидантным стрессом; нарушением электролитного гомеостаза, дисфункцией и дискоординацией внутриклеточных депо Ca^{2+} ; адаптационной гипертрофией, атрофией и мелкоочаговой альтерацией некоторой части клеток. Все это способствует развитию миокардиальной недостаточности и может сопровождаться проявлениями электрической нестабильности миокарда.

Морфологічні аспекти енергетичного дефіциту міокарда при хронічній гіперхолестеринемії

М.В. Данилишина

Хронічна гіперхолестеринемія, яку відтворювали в експерименті, проявляється морфологічною гетерогенністю кардіоміоцитів, зумовлену паралельним перебігом адаптаційних і альтеративних процесів у клітинах. Ці процеси виникають на фоні поступово зростаючого енергетичного дефіциту, про який свідчать зміни активності окисно-відновних ферментів. Морфологічно ці зміни проявляються перебудовою і пошкодженням глікокаліксу та рецепторного апарату кардіоміоцитів, модифікацією цитомембран зі зміною активності асоційованих з ними ензимів, дисліпопротеїдемією й оксидантним стресом; порушенням електролітного гомеостазу; дисфункцією і дискоординацією внутрішньоклітинних депо Ca^{2+} ; адаптаційною гіпертрофією, атрофією і дрібновогнищезвою альтерацією деяких клітин. Все це сприяє розвитку міокардіальної недостатності та може супроводжуватись проявами електричної нестабільності міокарда.

Ключевые слова: хронічна гіперхолестеринемія, енергетичний дефіцит міокарда, зміни кардіоміоцитів, окисно-відновні ферменти.

Патологія. – 2012. – №2 (25). – С. 21–24

Morphological aspects of myocardium energy deficiency at the chronic hypercholesterolemia

M.V. Danylishyna

Experimental chronic hypercholesterolemia manifests itself by morphological heterogeneity of cardiomyocytes which is caused by parallel proceeding of alteration and adaptation processes in cells. These processes arise against the background of gradually increasing energy deficiency that is testified by changes of activity of oxidation-reduction enzymes. Morphologically these changes show rearrangement and disorder of glycocalix and receptor apparatus of cardiomyocytes, modification of cytomembranes with the change of activity of associated enzymes, dislipoproteinemia and oxidative stress; electrolyte homeostasis disturbance; dysfunction and discoordination of intracellular depot Ca^{2+} ; adaptive hypertrophy, atrophy and small-focal alteration of some cells. These morphological changes lead to myocardial deficiency and can be accompanied by manifestation of the electric instability of myocardium.

Key words: chronic hypercholesterolemia, energy deficiency of myocardium, changes of cardiomyocytes, oxidation-reduction enzymes.

Pathologia. 2012; №2 (25): 21–24

Известно, что важнейшим фактором ишемического повреждения клеток миокарда является нарушение энергетического обеспечения их жизнедеятельности. Это было подтверждено большим количеством научных исследований, воспроизводивших коронарную недостаточность в эксперименте [1,8,9]. Однако существуют данные, свидетельствующие, что в условиях хронической гиперхолестеринемии, еще до развития атеросклероза и, соответственно, морфологически значимой ишемии миокарда, выявляются существенные изменения, в основе патогенеза которых лежит значительное ухудшение энергетического обеспечения кардиомиоцитов [2,5,7].

Цель работы

Изучение особенностей энергетического метаболизма и пластического обеспечения функции миокарда, изменений цитохимических реакций, обеспечивающих воспроизводство и транспорт энергии в кардиомиоцитах.

Материалы и методы исследования

Исследования выполнены на 38 кроликах весом 2,5–3,5 кг, из которых 8 составили контрольную группу, 30 в течение 2, 8 и 16 недель содержали на атерогенной диете, они ежедневно получали 0,3 г/кг холестерина. Гистотопограммы ткани миокарда, заключенной в парафин,

окрашивали гематоксилином и эозином, по методикам Ли, Рего и Ван Гизон, исследовали в поляризованном свете на микроскопе МРІ-5. На срезах из свежемороженой ткани определяли активность лактат-, малат-, сукцинат-, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназ (ЛДГ, МДГ, СДГ, Г-6-ФДГ) и цитохромоксидазы (ЦХО), а также гликоген по Mc Manus [4]. Для электронной микроскопии образцы ткани из различных отделов сердечной мышцы фиксировали и дофиксировали в изотонических забуференных растворах 4% параформа и 1% O_5O_4 , обезжировали и заключали в эпоксидные смолы по стандартной прописи [3]. Ультратонкие срезы получали на приборе LKB-8800, контрастировали солями тяжелых металлов и исследовали в микроскопе ПЭМ-125. Электронноцитохимически выявляли локализацию и активность ЛДГ, МДГ, СДГ и цитохром-С-редуктазы, а также гликогеновый резерв КМЦ [9].

Результаты и их обсуждение

Двухнедельная экспериментальная гиперхолестеринемия в миокарде характеризовалась появлением признаков дистрофических изменений, однако мышечные волокна оставались в стабильном соотношении между собой и интерстицием. В кардиомиоцитах определена умеренно выраженная зернистость саркоплазмы и стертость поперечно-полосатой исчерченности части волокон.

При окраске по методике Ли или железным гематоксилином выявлялись единичные альтеративные изменения. При определении активности окислительно-восстановительных ферментов в некоторых клетках наблюдали неравномерный характер отложений формазана на фоне резкого уменьшения количества продукта гистохимической реакции.

Пластические процессы и процессы гликолиза компенсаторно усиливались, что проявлялось неравномерным повышением активности Г-6-ФДГ и ЛДГ; активность дегидрогеназ цикла Кребса и ЦХО понижалась, однако отклонения по сравнению с нормой как для первой, так и для второй групп ферментов были умеренными. Понижение активности оксидоредуктаз в митохондриях нарушало утилизацию гликогена, и это проявлялось появляющейся и нарастающей жировой дистрофией кардиомиоцитов.

Отмечено активное воспроизводство митохондрий, что постепенно приводило к увеличению их объемной плотности, главным образом, за счет структурно неполноценных элементов, ограничение функциональных потенциалов которых соответствовало снижению уровня восстановления креатинфосфата на 13% по сравнению с контролем. Каталитическая способность окислительно-восстановительных ферментов в разных кардиомиоцитах, субрегионах одной и той же клетки, а нередко и в соседних органеллах заметно различалась, что подтверждалось при использовании электронногистохимических тестов на активность СДГ. В результате, на фоне структурной гомогенности органелл они существенно отличались по количеству и распределению специфического осадка.

Можно сделать вывод, что уже двухнедельная гиперхолестеринемия характеризуется заметными морфологическими изменениями миокарда. В первую очередь, это обусловлено дислипидопротеидемической модификацией цитомембран, которая способствует повышению активности катаболических процессов в миокарде, приводя к дистрофическим изменениям кардиомиоцитов. Вместе с тем, необратимым изменениям подвергаются отдельные клетки, и эта ситуация характеризуется адекватными процессами адаптации в миокарде.

8-недельная гиперхолестеринемия проявлялась нарастанием гетерогенности кардиомиоцитов и признаков гипертрофии. На гистотопограммах, окрашенных гематоксилином и эозином, пикрофуксином отмечена неравномерно выраженная зернистость саркоплазмы, стертость поперечно-полосатой исчерченности, начальные признаки диффузного мелкоочагового кардиосклероза.

Гетерогенность наблюдали и в отношении активности окислительно-восстановительных ферментов: активность Г-6-ФДГ и ЛДГ незначительно повышалась, дегидрогеназ цикла Кребса и ЦХО – умеренно снижалась. Наиболее угнеталась каталитическая способность МДГ и ЦХО. Это сочеталось со снижением активности КФК на 21%, тем самым демонстрируя существенное ухудшение энергетического обеспечения функции кардиомиоцитов. Выпадение осадка диформаза в целом мало отличалось от описанного в предыдущей серии наблюдений.

Таким образом, основная тенденция перестройки энергетического метаболизма определялась умеренной активацией гликолиза и, в то же время, некоторым угнетением тканевого дыхания, следствием чего был более низкий уровень активности креатинфосфокиназы. Следует заметить, что наблюдаемое активирование гликолиза не обеспечивало необходимого воспроизводства энергии, что подтверждалось выявлением при электронномикроскопическом исследовании клеток с признаками гипертрофии и атрофии, хотя основная масса кардиомиоцитов сохраняла обычные размеры.

Изменения митохондрий обусловлены как процессами адаптации, так и ускоренного износа и даже деструкции. Активная пролиферация этих органелл сопровождалась их нарастающим полиморфизмом. В то же время, часть внутриклеточного пространства, отводящегося контракильному аппарату, заметно уменьшалась, а снижение содержания креатинфосфата свидетельствовало о дальнейшем ухудшении энергетического обеспечения его функции.

При цитохимическом определении активности окислительно-восстановительных ферментов отмечены многочисленные отклонения, что проявлялось структурными изменениями митохондрий. Повреждение мембран инактивировало ферменты, иногда сопровождалось атипичным характером распределения продуктов реакции. В отдельных случаях носителями активности становились мелкие фрагменты разрушенных митохондрий, имитируя внутриклеточную диффузию ферментов.

Инактивация оксидоредуктаз, как правило, начиналась с внутреннего отдела митохондрий. Колебания активности энзимов отмечены и в органеллах с удовлетворительным состоянием мембранного каркаса.

Наблюдаемая гиперплазия митохондрий осуществлялась без четкой зависимости от качества образующихся органелл, свидетельствуя о существенных негативных отклонениях в механизме их регенерации. Вследствие этого основную массу новообразованных митохондрий составляют формы со сниженными функциональными возможностями. Этот вывод подтверждали и результаты биохимической оценки воспроизводства креатинфосфата в кардиомиоцитах.

Таким образом, в большинстве клеток миокарда при данном термине гиперхолестеринемии компенсаторные механизмы также оказывались недостаточными для ликвидации внутриклеточных повреждений. Только в некоторых клетках они перерастали в необратимые изменения, когда повышенное напряжение процессов жизнеобеспечения, которое лежит в основе адаптации кардиомиоцитов к новым условиям функционирования, для некоторых из них оказывалось недостаточным. Поэтому одна часть клеток проявляла тенденцию к гипертрофии, объем других уменьшался, а третьи подвергались деструкции. Клетки с признаками атрофии составляли сравнительно небольшую часть, однако их появление отражало один из существенных аспектов дальнейших изменений миокарда, свидетельствуя о постепенном истощении его компенсаторно-приспособительных возможностей.

16-недельный термин исследований характеризовался значительным усугублением проявлений гетерогенности кардиомиоцитов. Соотношения между малоизмененными, увеличенными или уменьшенными в объеме клетками смещались в сторону атрофированных.

Явления зернистой дистрофии и нечеткость поперечной исчерченности в кардиомиоцитах приобретали более выраженный характер. Чаще отмечали диссеминированные микрофокусы миоцитолита, коагуляционного некроза и глыбчатого распада клеток с замещением их соединительной тканью.

Диффузный кардиосклероз приобретал большую распространенность. Наличие в миокарде одновременно дистрофических, некробиотических и некротических изменений свидетельствовало о прогрессирующем характере нарушений.

При определении активности окислительно-восстановительных ферментов изменения имели аналогичную предыдущим исследованиям направленность, хотя неупорядоченность распределения зерен диформаза усиливалась, чаще определяли очаги инактивации энзимов.

Несмотря на удовлетворительную структуру большей части крист митохондрий, продукт реакции при определении активности оксидоредуктаз (СДГ, ЛДГ, МДГ) распределялся, главным образом, неравномерно, и характерным признаком были значительные различия энзиматической активности в рядом расположенных органеллах.

Повреждения митохондрий при данном термине гиперхолестеринемии отличались наличием частых дефектов внешней мембраны, возникающих уже при сравнительно небольших изменениях объема органелл, и даже незначительное набухание сопровождалось ее фрагментацией. Эти изменения обусловлены уменьшением пластичности мембран вследствие модификации их липидного состава в условиях дислипидемии. Нередко еще удовлетворительное состояние внутренней структуры митохондрий обеспечивало длительное «нарабатывание» энергии, которая уже не могла быть передана креатину на воспроизводство креатинфосфата. Таким образом, создавались предпосылки для перегрузки органелл кальцием и активации мембранных фосфолипаз. Поврежденные органеллы приобретали неправильную форму вследствие диссоциации мембран, а не разрывов. Распространенным явлением становилось их миелоидоподобная трансформация, которая начинается с резкого повышения осмиофилии мембран. Подобные изменения отражают усиление процессов перекисного окисления липидов, поражающих цитомембраны, первой мишенью которого становятся именно митохондрии, где перманентно происходят окислительно-восстановительные процессы.

Таким образом, тенденции, которые наметились в предыдущих сериях наблюдений, по окончании 16 недель эксперимента формируют сложный комплекс изменений, нарушающих структуру и функцию миокарда. Полученные данные свидетельствуют о прогрессирующей перестройке ультраструктуры и метаболизма кардиомиоцитов в данных условиях. Адаптация миокарда к новым условиям функционирования связана с активированием пластических процессов в миокарде [6,7]. Нарастающие энергетические потребности рабочих клеток миокарда обуславливают повышенное воспроизводство структурно и метаболически неполноценных митохондрий, потенцируя тем самым исходный энергетический дефицит, связанный с мембранотропным действием гиперхолестеринемии [2,5,7].

Выводы

Морфофункциональная перестройка миокарда в условиях гиперхолестеринемии свидетельствует о накоплении изменений, которые в итоге могут провоцировать нарушения его электрофизиологических свойств. К таковым могут быть отнесены формирующаяся в данных условиях гетерогенность кардиомиоцитов, обусловленная перестройкой и повреждением гликокаликса и рецепторного аппарата, модификацией цитомембран с изменением активности ассоциированных с ними энзимов и состояния ионных каналов, нарушением электролитного гомеостаза, дисфункцией и дискоординацией внутриклеточных депо Ca^{2+} , адаптационной гипертрофией, образованием массивных компактных митохондриальных конгломератов, атрофией и мелкоочаговой альтерацией некоторой части клеток. Все это является предпосылками для развития электрической нестабильности миокарда.

Список литературы

1. Белгадзе М.А. Динамика электронно-гистохимической активности АТФ-азы как показатель гипоксии кардиомиоцитов / Белгадзе М.А. // Кутаисис самед. Ж., – 1999. – №1–2. – С. 17–19.
2. Гавриш А.С. Перестройка структуры и метаболизма миокарда при хронической гиперхолестеринемии / Гавриш А.С., Мхитарян Л.С. // Цитология. – 1991. – №5. – С. 94–95.
3. Гайер Г. Электронная гистохимия / Гайер Г. – М: Мир, 1974 – 488 с.
4. Лойда З. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы / Лойда З., Госсрау Р., Гиблер Т. – М.: Мир, 1992. – 271с.
5. Механизмы нарушения сократительной функции миокарда при хронической гиперхолестеринемии / Гавриш А.С., Мхитарян Л.С., Орлова Н.Н., Хаджинский В.Г. // Гипертоническая болезнь, атеросклероз и коронарная недостаточность. – К.: Здоров'я, 1993. – Вып. 25. – С. 110–115.
6. Непомнящих Л.М. Морфология пластической недостаточности мышечных клеток сердца / Непомнящих Л.М., Семенова Л.А. – Новосибирск: Наука, 1985. – 241 с.
7. Семенова Л.А. Морфология пластической недостаточности мышечных клеток сердца / Семенова Л.А., Непомнящих Л.М., Семенов Д.Е. – Новосибирск: Наука, 1985. – 241с.
8. Myocardial ischemia decreases oxidative phosphorylation thorough cytochrome oxidase in subsarcolimmal mitochondria / Lesnfsky Edward J., Tandler Bernard, Ve Jian, Slabe Thomas J., Turkaly Julia, Hopper Charles // Amer. J Physiol.: Heart and Circ. Physiol. – 1997. – №3. – P. 1544–1554.
9. Steinmann C.M.I. The conservation of mitochondrial function by ischemia – the ischemia paradox / Steinmann C.M.I., Storm M. // Acta physiol. scand. – 1997. – №2. – С. 171–173.

Сведения об авторе:

Данилишина М.В., к. мед. н., доцент каф. патоморфологии НМУ им. А.А. Богомольца.

Надійшла в редакцію 26.06.2012 р.