

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИЙ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ УШИБЕ СЕРДЦА РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В. П. Новоселов¹, С. В. Савченко¹, А. Н. Порвин², Д. А. Кошляк³

¹ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Новосибирск)

²ГБУЗ Новосибирской области «Новосибирское областное клиническое бюро судебно-
медицинской экспертизы» (г. Новосибирск)

³333 Окружной клинический военный госпиталь СибВО Минобороны России
(г. Новосибирск)

С целью выявления качественных и количественных изменений митохондрий кардиомиоцитов при ушибе сердца различной степени тяжести было проведено экспериментальное моделирование ушиба сердца на апробированной модели — белых крысах-самцах породы Вистар. Выполнялось трансмиссионное электронно-микроскопическое исследование кусочков желудочков сердца животных с последующей статистической обработкой полученных результатов. Выявлен ряд характерных изменений органелл кардиомиоцитов, в частности митохондрий. Эксперимент позволил выявить такие ультраструктурные особенности, преимущественно связанные с набуханием митохондрий, как истончение межмембранного пространства, разрывы крист и просветление матрикса. При этом выраженность ультраструктурных изменений митохондрий зависела от степени тяжести ушиба сердца.

Ключевые слова: судебная медицина, ушиб сердца, эксперимент, крыса, трансмиссионная электронная микроскопия, кардиомиоцит, митохондрия.

Новоселов Владимир Павлович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой судебной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: sme@sibsme.ru

Савченко Сергей Владимирович — доктор медицинских наук, профессор кафедры судебной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: sme@sibsme.ru

Порвин Александр Николаевич — врач — судебно-медицинский эксперт ГБУЗ Новосибирской области «Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы», рабочий телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: sme@sibsme.ru

Кошляк Дмитрий Алексеевич — кандидат медицинских наук, заведующий судебно-медицинской лабораторией 333 Окружного клинического военного госпиталя СибВО Минобороны России, рабочий телефон: 8 (383) 346-00-19, e-mail: sme@sibsme.ru

Введение. По данным Всемирной Организации Здравоохранения, травмы являются одной из самых частых причин смерти населения цивилизованных стран мира. Закрытая травма груди с ушибом сердца характеризуется тяжелым клиническим течением за счет раннего развития нарушений ритма и проводимости сердца с последующим развитием острой сердечной недостаточности. Несмотря на очевидную значимость проблемы, многие вопросы развивающихся при ушибе сердца морфофункциональных изменений остаются малоизученными [3]. В частности, вопрос о причинах развития острой сократительной недостаточности сердечной мышцы [4].

Обеспечение должного уровня сокращения кардиомиоцитов миокарда осуществляется с участием митохондрий, выполняющих роль энергетического аппарата. Именно митохондрии производят конвертируемую энергию, заключенную в макроэргических связях молекул АТФ [1]. Синтез молекул АТФ происходит на внутренней мембране митохондрий с участием кислорода. Особая насыщенность кардиомиоцитов митохондриями отражает высокий уровень метаболизма ткани, обладающей непрерывной активностью. Именно поэтому митохондрии являются индикаторами функционального состояния клетки [8]. Функции митохондрий не ограничиваются воспроизводством макроэргических фосфатов, но включают еще и участие в обмене ионов кальция. Поглощение ими ионизированного кальция эффективно поддерживает электролитный баланс саркоплазмы. При патологических состояниях возможно быстрое освобождение этих ионов из митохондрий с неблагоприятными последствиями для клетки [2, 4]. Основным альтеративным изменением митохондрий является их набухание, связанное с проникновением в митохондрии воды. Оно проявляется увеличением размеров органелл, просветлением митохондриального матрикса, сглаживанием, а затем фрагментацией крист. При прогрессировании изменений повреждается наружная мембрана митохондрий, и процесс становится необратимым [2].

Цель исследования: выявить качественные и количественные ультраструктурные изменения митохондрий кардиомиоцитов при ушибе сердца различной степени тяжести в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Для решения поставленных задач в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» было осуществлено экспериментальное моделирование ушиба сердца на апробированной ранее модели с использованием белых крыс-самцов породы Вистар, выращенных в стандартных условиях вивария на стандартном пищевом рационе, массой 180–200 г [5, 7]. Моделирование ушиба сердца было осуществлено на 40 животных. Эксперимент был проведен под общей анестезией — обезболивание было обеспечено диэтиловым эфиром. Непосредственно перед экспериментом животных под легким эфирным наркозом фиксировали на специальном стенде в положении на спине. С помощью игольчатых электродов электрофизиологического комплекса LabLinc model V75-25A (Coulbourn instruments, США), которые накладывались в стандартных отведениях, осуществлялась регистрация электрокардиограмм с последующей обработкой полученной информации с помощью компьютерной программы LabVIEW 5.1.

Ушиб сердца воспроизводился путем нанесения ударного травматического воздействия грузом массой 50 г при ускорении свободного падения с высоты 30 см и площади соударяющей поверхности 2 см² в точку максимального проявления сердечной пульсации на передней поверхности грудной клетки. При помощи электрокардиографического контроля животные были разделены на две группы по степеням тяжести ушиба сердца. В группу с ушибом сердца средней степени тяжести вошло 20 животных. У них электрокардиографические проявления травмы складывались из одиночных и групповых желудочковых экстрасистол и синусовой брадикардии с постепенным возвращением к нормальному ритму. После установления нормального сердечного ритма животных декапитировали. Группа с ушибом сердца тяжелой степени тяжести также состояла из 20 животных. У этих животных через 15–20 мин от начала эксперимента, после вышеуказанных нарушений ритма сердца, наступала фибрилляция желудочков, переходящая в асистолию, после чего животных декапитировали. В качестве контрольной группы использовали 3-х животных, которых в состоянии глубокой анестезии декапитировали. У погибших животных производилось быстрое вскрытие грудной клетки с последующим отсечением сердца и забором кусочков миокарда левого и правого желудочков для исследования.

Образцы миокарда для трансмиссионной электронной микроскопии подвергались стандартной обработке. При помощи светового микроскопа из полученных полутонких срезов выбирались необходимые участки для изготовления на микротоме LKB-Nova ультратонких срезов, которые в последующем контрастировались. Ультраструктурные изменения изучались и фиксировались с помощью электронного микроскопа JEM-1010 (Japan). На электронограммах с увеличением в 8000 раз точечным методом были охарактеризованы объемные плотности (Vv) митохондрий в образцах миокарда левого и правого желудочков. Для статистической оценки результатов применялась общая линейная модель, реализованная в процедуре однофакторного дисперсионного анализа с фиксированными эффектами — метод ANOVA (Analysis of Variance).

Результаты исследования. В контрольной группе экспериментальных животных митохондрии в кардиомиоцитах располагались довольно плотно между миофибриллами, а также между ними и сарколеммой. Диаметр большинства из них составлял 0,5–1 мкм. Анализ ультраструктурных изменений при ушибе сердца позволил выявить колебание размеров митохондрий как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения по сравнению с нормой. Межмембранное пространство увеличенных митохондрий было истончено, хорошо были видны разрывы крист, в некоторых участках кристы не визуализировались, при этом отмечались участки просветления, которые могли занимать почти всю площадь митохондрий. Патологически измененные митохондрии располагались небольшими группами в непосредственной близости с митохондриями, имеющими нормальные размеры и структуру.

Как следует из работ в области исследований патологии клетки, набухание митохондрий является реакцией на дефицит кислорода, т. е. на гипоксию в результате разобщения системы окислительного фосфорилирования биосинтеза АТФ [1, 9]. Также были выявлены мелкие митохондрии, которые локализовались преимущественно между несокращенными участками миофибрилл, они располагались компактно большими группами. Из-за локальной скученности этих органелл они были сжаты и деформированы, их матрикс был уплотнен за счет полной или частичной гомогенизации крист. Рядом авторов предполагается, что такие изменения митохондрий являются признаками внутриклеточной регенерации в условиях кислородной недостаточности [1, 2, 6, 8]. Нами было замечено, что выраженность ультраструктурных изменений митохондрий зависела от степени тяжести ушиба сердца.

Количественный ультраструктурный анализ объемных плотностей митохондрий кардиомиоцитов выявил отличия при различных степенях ушиба сердца. Отмечалось увеличение объемных плотностей митохондрий в кардиомиоцитах при ушибе сердца по сравнению с контролем. Прослеживалась однонаправленная тенденция увеличения объемных плотностей митохондрий в зависимости от степени тяжести ушиба сердца (рис. 1, 2).

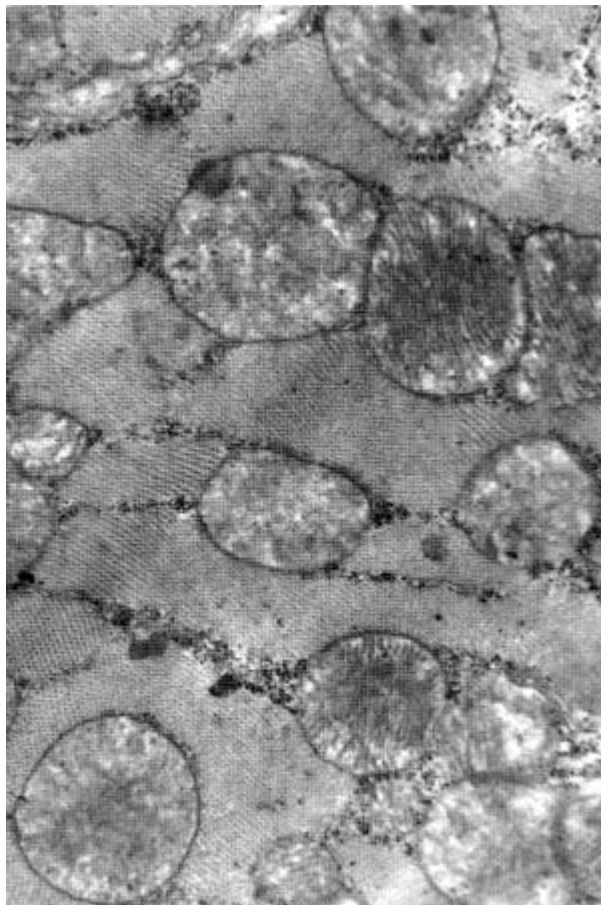


Рис. 1. Митохондрии кардиомиоцитов контрольной группы (электронограмма, ув. $\times 8000$)

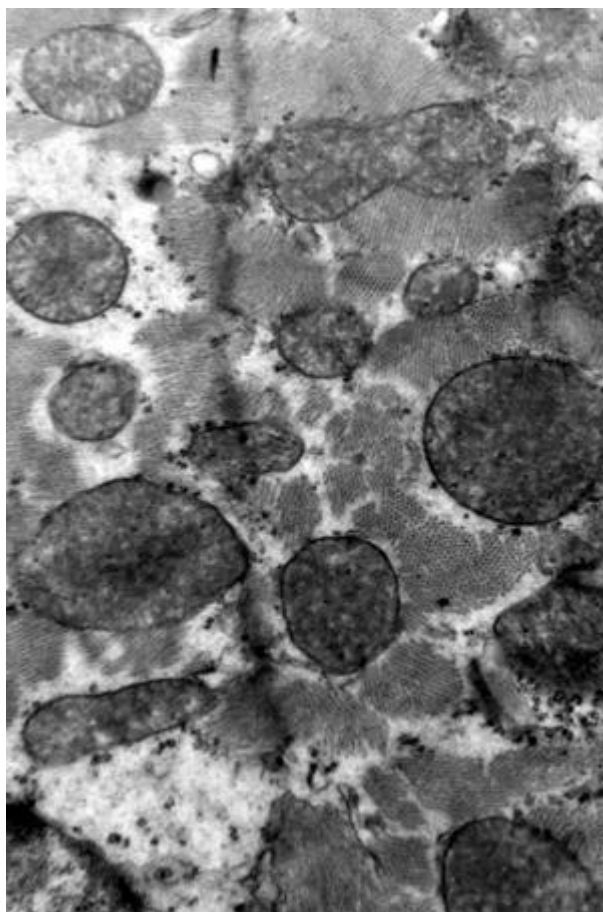


Рис. 2. Митохондрии кардиомиоцитов при ушибе сердца (электронограмма, ув. $\times 8000$)

Так, в кардиомиоцитах левого желудочка объемная плотность митохондрий была больше в 1,05 раза при ушибе средней степени тяжести и в 1,23 раза при ушибе сердца тяжелой степени по сравнению с контрольной группой (соответственно $1767,1 \pm 147,5$; $2067,4 \pm 47,3$ и $1687,6 \pm 85,0$). В правых отделах сердца — в 1,03 раза объемная плотность митохондрий была больше при ушибе средней степени тяжести и в 1,14 раза при ушибе сердца тяжелой степени по сравнению с контролем (соответственно $1904,9 \pm 67,4$; $2101,1 \pm 52,4$ и $1842,8 \pm 103,9$).

Выводы. Полученные в процессе выполнения исследования данные позволили выявить ультраструктурные изменения митохондрий кардиомиоцитов при ушибе сердца, выраженность которых зависит от степени тяжести травмы. Изменения митохондрий представлены набуханием увеличенных органелл с нарушением ориентации и уменьшением количества крист, а также утолщением мембран уменьшенных органелл, сопровождающееся затемнением органелл за счет более плотного расположения крист. Выявленные ультраструктурные изменения свидетельствуют об остром снижении энергетических возможностей кардиомиоцитов миокарда при ушибе сердца.

Список литературы

1. Авцын А. П. Ультраструктурные основы патологии клетки / А. П. Авцын, В. А. Шахламов. — М. : Медицина, 1979. — 320 с.
2. Глаголева В. В. Ультраструктурная основа нарушения функции сердечной мышцы : атлас / В. В. Глаголева, Ю. С. Чечулин. — М. : Наука, 1968. — 73 с.
3. Ковалева М. А. Патоморфологическая оценка адренергических волокон и кровоизлияний в миокарде, а также клеток мозгового вещества надпочечников

- при ушибе сердца : автореф. дис. ... канд. мед. наук / М. А. Ковалева. — Новосибирск, 2006. — 20 с.
4. Кошляк Д. А. Морфо-гистохимические и ультраструктурные изменения миокарда при ушибе сердца : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Д. А. Кошляк. — Новосибирск, 2008. — 20 с.
 5. Патоморфология миокарда при ушибах сердца / В. П. Новоселов [и др.]. — Новосибирск : Наука, 2002. — 168 с.
 6. Румянцев П. П. Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации / П. П. Румянцев. — Л. : Наука, 1982. — 320 с.
 7. Савченко С. В. Патоморфология и судебно-медицинская оценка изменений эндокарда и миокарда при ушибах сердца : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / С. В. Савченко. — Новосибирск, 2002. — 48 с.
 8. Саркисов Д. С. Электронно-микроскопический анализ повышения выносливости сердца / Д. С. Саркисов, Б. В. Втюрин. — М. : Медицина, 1969. — 170 с.
 9. Фролов В. А. Морфология митохондрий кардиомиоцита в норме и патологии / В. А. Фролов, В. П. Пухляк. — М. : Изд-во Университета дружбы народов, 1989. — 141 с.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF MITOCHONDRIONS OF CARDIOMYOCYTES AT HEART CLOSED WOUND OF VARYING SEVERITY AT EXPERIMENT

V. P. Novoselov¹, S. V. Savchenko¹, A. N. Porvin², D. A. Koshlyak³

¹*SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk c.)*

²*SBHE of Novosibirsk Region «Novosibirsk regional clinical bureau of medicolegal investigation» (Novosibirsk c.)*

³*333 District clinical military hospital Siberian Military District of Ministry of Defense of the Russian Federation (Novosibirsk c.)*

An experimental modeling of heart closed wound on the approved model — white Vistar male rats was carried out for the purpose of identification of high-quality and quantitative changes of mitochondrions of cardiomyocytes at heart closed wound of varying severity. Transmissive electron and microscopical research of slices of ventricles of heart of animals with the subsequent statistical processing of the received results was carried out. Series of characteristic changes of organellas of cardiomyocytes, in particular mitochondrions is revealed. Experiment allowed revealing such ultrastructural features which have been mainly bound to a swelling of mitochondrions, as a thinning of intermembranous space, ruptures of cristas and a matrix enlightenment. Thus expression of ultrastructural changes of mitochondrions depended on severity of heart closed wound.

Keywords: legal medicine, heart closed wound, experiment, rat, transmissive submicroscopy, cardiomyocyte, mitochondrion.

About authors:

Novoselov Vladimir Pavlovich — doctor of medical sciences, professor, head of legal medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 346-00-19, e-mail: sme@sibsme.ru

Savchenko Sergey Vladimirovich — doctor of medical sciences, professor of legal medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 346-00-19, e-mail: sme@sibsme.ru

Porvin Alexander Nikolaevich — doctor, medicolegal scientist at SBHE of Novosibirsk Region «Novosibirsk regional clinical bureau of medicolegal investigation», office phone: 8 (383) 346-00-19, e-mail: sme@sibsme.ru

Koshlyak Dmitry Alekseevich — candidate of medical sciences, head of medicolegal laboratory at 333 District clinical military hospital Siberian Military District of Ministry of Defense of the Russian Federation, office phone: 8 (383) 346-00-19, e-mail: sme@sibsme.ru.

List of the Literature:

1. Avtsyn A. P. Ultrastructural bases of pathology of a cell / A. P. Avtsyn, V. A. Shakhlamov. — M: Medicine, 1979. — 320 P.
2. Glagolev V. V. Ultrastructural basis of disturbance of function of cardiac muscle: atlas / V. V. Glagoleva, Y. S. Chechulin. — M: Science, 1968. — 73 P.
3. Kovalyova M. A. Pathomorphological assessment of adrenergic fibers and hemorrhages in myocardium, and also cells of cerebral substance of adrenals at heart closed wound: autoref. dis. ... cand. of medical sciences / M. A. Kovalyova. — Novosibirsk, 2006. — 20 P.
4. Koshlyak D. A. Morphohistochemical and ultrastructural changes of myocardium at heart closed wound: autoref. dis. ... cand. of medical sciences / D. A. Koshlyak. — Novosibirsk, 2008. — 20 P.
5. Pathomorphology of myocardium at heart closed wound / V. P. Novoselov [etc.]. — Novosibirsk: Science, 2002. — 168 P.
6. Rumyantsev P. P. Cardiomyocytes in processes of reproduction, differentiation and neogenesis / P. P. Rumyantsev. — L.: Science, 1982. — 320 P.
7. Savchenko S. V. Pathomorphology and medicolegal assessment of changes of an endocardium and myocardium at heart closed wound: autoref. dis. ... dr. of medical sciences / S. V. Savchenko. — Novosibirsk, 2002. — 48 P.
8. Sarkisov D. S. Electron and microscopical analysis of rising of endurance of heart / D. S. Sarkisov, B. V. Vtyurin. — M: Medicine, 1969. — 170 P.
9. Phrolov V. A. Morphology of mitochondrions of cardiomyocyte in norm and pathology / V. A. Phrolov, V. P. Pukhlyanko. — M: Publishing house of University of friendship of the people, 1989. — 141 P.