

Изменения структуры миокарда под воздействием инкорпорированного ^{137}Cs и гипокинезии

Гомельский государственный медицинский университет

Приводятся результаты морфометрического анализа миокарда крыс, подвергшихся воздействию гипокинезии и инкорпорированных радионуклидов. Выявлены значительные структурно-функциональные изменения на органном, тканевом и клеточном уровнях, а также различия в реализации механизмов компенсаторно-приспособительных реакций миокарда.

Ключевые слова: миокард, инкорпорированные радионуклиды, гипокинезия, морфометрия, адаптация.

Совместное влияние малоподвижного образа жизни и радиационного фактора как отдаленного отголоска аварии на ЧАЭС в числе прочих эффектов привели к увеличению числа сердечно-сосудистых заболеваний на территории нашего региона [4,5,6]. Современная оценка реактивных свойств миокарда на комплексное воздействие стрессорных факторов неоднозначна. К тому же, на сегодняшний момент остается малоисследованной проблема длительного воздействия на организм малых и сверхмалых количеств инкорпорированных радионуклидов. По мнению большинства ученых, именно внутреннее облучение, вызванное инкорпорацией радионуклидов, является основным источником радиационного воздействия на население, проживающее на постчернобыльском пространстве, [13, 2]. Результаты проведенных исследований ^{137}Cs , являющегося основным дозообразующим радионуклидом на постчернобыльском пространстве.

^{137}Cs поступает в организм человека и животных в основном с пищей. Он полностью всасывается в желудочно-кишечном тракте и быстро проникает в кровь. Будучи хорошо растворимым в воде и имея значительное сходство по основным физико-химическим параметрам с калием, ^{137}Cs быстро распределяется по организму. Его растворимые соли способны относительно легко проникать через биологические мембраны [12] и активно накапливаться в различных компартментах клетки – в цитоплазме, ядре и особенно в митохондриальном матриксе.

Одним из органов мишеней для радиоцезия становится миокард. Под воздействием ионизирующего облучения в сердечной мышце развиваются выраженные морфо-функциональные и метаболические изменения, которые противоречат широко распространенным представлениям о высокой радиорезистентности миокарда [3,15,18].

Согласно современным представлениям, действие ионизирующего излучения на организм сопровождается интенсификацией свободнорадикальных реакций в тканях [14,1, 8].

При этом в свободнорадикальные реакции вовлекаются как водная, так и липидная фаза клетки, нарушается гомеостаз, что может привести к ее гибели [16]. Важную роль в процессах радиационного повреждения играют высокореакционные продукты, образующиеся в процессе радиолиза воды, вступающие в дальнейшие реакции по цепному механизму. Образование, даже в малых количествах, АФК и продуктов радиолиза воды играет первостепенную роль в инициации радиационных

повреждений тканей облученного организма. Эти продукты при взаимодействии с молекулами образуют новые свободные радикалы, перекиси и токсины.

Накопление АФК в ткани миокарда вызывает повреждение мембранного комплекса кардиомиоцитов и митохондриальной системы. Возникают нарушения процессов окислительного фосфорилирования и синтеза АТФ, что приводит к энергетическому дефициту в клетках, гибели отдельных органелл и угнетению сократительной функции. Неповрежденные клеточные структуры будут испытывать значительную перегрузку. Такие изменения могут послужить толчком для включения регенераторно-пластического механизма и возникновения явлений гипертрофии и гиперплазии.

Такой стрессорный фактор, как гипокинезия, существенно снижает экономичность и увеличивает напряженность функции сердечной мышцы [9,19,10]. Активация сократительного ритма сердца в условиях физиологического покоя всего организма является неэкономной и создает предпосылки для преждевременного истощения метаболического и функционального резерва миокарда, усугубляя риск развития сердечно-сосудистой патологии.

Можно предположить, что инкорпорация радиоцезием, отягощенная гипокинезией, будут вызывать серьезные структурно-функциональные изменения миокарда, усиливая стрессорное воздействие друг друга. Несмотря на то, что сердце обладает многоуровневой системой страхования, решающее значение для сохранения полноценного функционирования играют пределы его компенсаторных возможностей. Выявление направленности этих компенсаторных изменений и выяснение их механизмов представляет интерес не только с научной, но и с прикладной точки зрения, поскольку позволяет разработать основы теоретического обоснования путей профилактики и коррекции сердечно-сосудистых нарушений.

Цель исследований – анализ компенсаторно-приспособительных реакций ткани миокарда при воздействии инкорпорированных радионуклидов и гипокинезии.

Материал и методы

В ходе эксперимента были сформированы 3 группы по 10 половозрелых самцов белых крыс: контрольная, 1-я и 2-я опытные группы. Животные подопытных групп в течение 30 суток содержались в клетках для моделирования состояния гипокинезии. При этом животные первой группы находились на стандартном рационе вивария, а для крыс второй группы в течение всего этого срока в рацион кормления были включены радиоактивные корма, что позволило создать уровень накопления ^{137}Cs в организме равный 3400 Бк/кг. Радиометрический контроль осуществлялся с помощью гамма-спектрометра LP-4000 (Финляндия). Контрольная группа находилась в стандартных клетках на обычном рационе вивария. По истечении 30-дневного срока животных декапитировали и ткань сердца использовали для проведения морфологических и морфометрических исследований. Измеряли массу тела и массу сердца крыс.

Для каждой группы были взяты по 10 образцов миокарда, из которых были приготовлены парафиновые блоки по стандартной методике. Серийные срезы окрашивались гематоксилин-эозином и галлоцианин-пикрофуксином (модифицированная методика Ван-Гизона). Морфометрические расчеты проводились по микрофотографиям с увеличением 1000. Для обработки изображений использовалась компьютерная программа «Photo M 131». В ходе морфометрического анализа определяли количество ядер кардиомиоцитов (КМЦ) на единицу площади (на

414720 пкс), площадь КМЦ, оптическую плотность ядер КМЦ, количество ядер соединительно-тканной стромы, площадь соединительной ткани, площадь, приходящаяся на ядра КМЦ. Площади рассчитывались в условных единицах (пкс).

Для электронной микроскопии брали по 3 образца левого желудочка, которые фиксировали в 2% растворе глутарового альдегида и готовили по стандартной методике. Использовался ультрамикротом УМТП-6М и электронный микроскоп JEM-100 (Япония). Для каждого блока были отсняты не менее 10 фотографий с увеличением 10 000. Для морфометрического анализа использовалась компьютерная программа «Photo M 131». Определяли количество профильных срезов митохондрий на единицу площади в 660000 пкс, площадь, приходящаяся на эти профили, удельный объем, занимаемый митохондриями (в %), площадь миофибрилл, удельный объем миофибрилл (в %), среднюю площадь одной митохондрии, отношение удельного объема митохондрий к удельному объему миофибрилл.

Полученные результаты обработаны при помощи пакета программ «STATISTICA» 6.0.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Морфометрические показатели структурных компонентов миокарда (M + m)

	Контроль	Гипокинезия 30-суток	Гипокинезия 30-суток +Cs ¹³⁷
Масса тела (г)	274±10	207±10*	200±7*
Абсолютная масса сердца (мг)	1140±43	980±42*	990±46*
Количество ядер КМЦ	9,8 ± 0,21	9,7±0,32	9,2±0,28
Площадь ядер КМЦ (пкс)	14907± 335	8751±284*	8544±414*
Площадь КМЦ (пкс)	381884±8511	380567±6754	388430±7487
Оптическая плотность ядер кардиомиоцитов	0,124 ±0,003	0,134±0,002*	0,148±0,003*
Количество ядер стромы	31,0± 0,37	31,4±0,42	40,9±0,38*
Площадь ядер стромы (пкс)	12379± 177	9375±145*	11014±198*
Площадь стромы (пкс)	32836+ 1658	34153+1876	26290±1457*

Примечание: * - различия в сравнении с контролем статистически значимы (p<0,05)

Таблица 2. Морфометрические показатели ультраструктурных компонентов миокарда (M + m)

	Контроль	Гипокинезия 30-суток	Гипокинезия 30-суток +Cs ¹³⁷
Среднее количество митохондриальных профилей N _μ	45,0 ± 2,28	42,8±1,09*	32,5±1,23*
Средняя площадь митохондрий (пкс)	277589 ± 8596	187409±5816*	224246±7084*
Удельный объем митохондрий (%) V _μ	42,06	28,39*	33,98*
Средняя площадь миофибрилл (пкс)	333488 ±8162	420980±5837*	364217±6864*
Удельный объем миофибрилл (%) V _μ	50,53	63,78*	55,18*

Примечание: * - различия в сравнении с контролем статистически значимы (p<0,05)

Морфометрический анализ светооптических препаратов выявил, что в обеих опытных группах происходит достоверное снижение массы тела животных на 27%, а абсолютной массы сердца на 14%. При этом данные показатели значимо не отличаются друг от друга у животных разных опытных групп. Само снижение массы сердца связано, по-видимому, с тем, что при гипокинезии в миокарде происходит

уменьшение поглощения кислорода, следовательно, имеет место снижение окислительных процессов; уменьшение фосфорилирования, т.е. снижается активность синтеза макроэргических продуктов; нет систематического распада АТФ и креатин фосфата, и это приводит к уменьшению стимуляции генетического аппарата. В результате не происходит синтеза белка в том объеме, как это возникает в условиях обычной нагрузки на сердце. [7,20,11,]

Относительная масса сердца (т.е. отношение массы органа к общей массе тела), наоборот, в опытных группах возрастает и превышает контроль к 30-суткам на 14-19%. Это говорит о непропорциональном уменьшении массы тела и массы сердца. По всей видимости, основным фактором, вызывающим этот процесс, является гипокинезия. Данное явление объясняет положение теории адаптации, согласно которому в экстремальной ситуации происходит накопление тех структур, которые срочно могут обеспечить наиболее важные для жизни функции. [17] При гипокинезии сердце оказывается более значимым элементом для поддержания гомеостаза по сравнению со скелетными мышцами, и его темп дезадаптивной атрофии ниже. Кроме того, в отличие от этих мышц, сердце постоянно работает.

Такие показатели, как количество ядер КМЦ, а также площадь, приходящаяся на сами кардиомиоциты, не претерпели значимых изменений в сравнении с контролем и между собой. Средняя площадь одного КМЦ при сочетанном воздействии стрессорных факторов увеличивается на 9% относительно контроля, что свидетельствует о тенденции к гипертрофии у мышечных клеток.

Ядра КМЦ значительно уменьшились в размерах (приблизительно в 1,7 раза в сравнении с контролем). Увеличилась плотность ядер. Данный процесс свидетельствует об угнетении процессов внутриклеточного синтеза, более выраженном при совместном воздействии обездвиживания и инкорпорации радионуклидами. В этой группе ядра стали плотнее на 19% (в случае с гипокинезией данный показатель вырос только на 8%).

Различия в реактивном ответе опытных групп выявлены также и при анализе стромальных компонентов миокарда.

При гипокинезии удельная площадь соединительнотканной стромы значимо не отличалась от контроля. Большая ее часть приходилась на расширенные капилляры и отечное межклеточное пространство. Количество клеток соединительной ткани также было одинаково в сравнении с контролем. Ядра этих клеток уплотнились.

При сочетанном воздействии стрессорных факторов площадь, приходящаяся на строму, по количественным показателям уменьшилась, но качественный анализ фотографий показал, что в отличие от предыдущей группы практически всю строму составляют утолщенные коллагеновые волокна и пролиферирующие клетки соединительной ткани. Их количество увеличивается относительно контроля на 31%. Происходит усиление процессов коллагенизации миокарда, развивается заместительный кардиосклероз.

Морфометрический анализ электронограмм выявил следующие ультраструктурные сдвиги.

В КМЦ обеих групп уменьшилось общее количество митохондрий: при гипокинезии на 6%, а при сочетанном воздействии стрессорных факторов на 28%. Уменьшилась и общая площадь, приходящаяся на эти органеллы. Но перестройка митохондриальной системы у животных опытных групп происходила по-разному. При обездвиживании митохондрии КМЦ измельчались, и средний удельный объем,

приходящийся на одну органеллу, составил 0,66% (в 1,4 раза меньше контроля). Гипокинезия, отягощенная инкорпорированным радиоцезием, вызывала противоположный эффект. Митохондрии КМЦ животных этой опытной группы набухали, и средний удельный объем, приходящийся на одну органеллу, составил 1,05% (в 1,13 раза больше контроля).

Неодинаковыми были и изменения, происходящие с фибриллярным аппаратом. Более гипертрофированными оказались миофибриллы группы животных, подвергшихся 30-дневной гипокинезии. Их удельный объем составил 63,78% (в 1,26 раза больше контроля). Совместное воздействие факторов также вызвало увеличение площади, приходящейся на миофибриллы, но не столь значительное. Изменения миофибрилярного аппарата в этом случае сопровождалось глубокими контрактурными повреждениями, нарушением ориентации миофибрилл, наличием участков лизиса филаментов.

Выводы

1. Структурные изменения сердечной мышечной ткани оказались более глубокими при совместном воздействии стрессорных факторов, следовательно, инкорпорация радионуклидами оказывает отягощающее влияние на кардиомиоциты. Развивающиеся компенсаторно-приспособительные реакции миокарда при воздействии радиации реализуются иными механизмами, чем при гипокинезии.

2. Полученные данные свидетельствуют о значительной функциональной напряженности клеток, что может создать предпосылки для инициации или усугубления сердечно-сосудистой патологии.

Литература

1. Барабой, В. А., Чеботарев, Е. Е. Проблема перекисного окисления в радиобиологии // Радиобиология. 1986. Т. 26, № 5. С. 591 – 597.

2. Булдаков, Л. А. Радиоактивные вещества и человек. М.: Энергоатомиздат, 1990. 160 с.

3. Грицук, А. И. Влияние инкорпорированных радионуклидов цезия на ультраструктуру митохондрий кардиомиоцитов и процессы тканевого дыхания / А. И. Грицук [и др.] // Весці Нацыянальнай Акадэміі навук Беларусі. Серыя медыка-біялагічных навук. 2002 б. № 2. С. 63 – 70.

4. Дробышевская, И. М. Состояние здоровья населения Беларуси после Чернобыльской катастрофы / И. М. Дробышевская [и др.] // Здравоохранение. 1996. № 5. С. 3 – 7.

5. Жаворонок, С. В., Романьков, Л. В. и др. Оценка состояния сердечно-сосудистой системы у работников полесского государственного радиационного экологического заповедника / Актуальные проблемы медицины. Гомель, 2002. С. 279 – 284.

6. Забурьянова, Ю. В. Оценка состояния сердечно-сосудистой системы у лиц пострадавших в результате аварии на ЧАЭС, с помощью ультразвуковой диагностики / Ю. В. Забурьянова [и др.] // Врачеб. дело. 1998. № 8. С. 30 – 33.

7. Коваленко, Е. А. Гипокинезия. М.: Медицина, 1980. 320 с.

8. Коломийцева, И. К. Радиационная биохимия мембранных липидов. М.: Наука, 1989. 181 с.

9. Кочетков, А. Г. Приспособительная реакция желудочков сердца собаки при дозированной гипокинезии // Морфология. 2001. Т. 119. № 1. С. 33-36.

10. Кочетков, А. Г. Морфометрическая оценка адаптивных реакций артерий синусно-предсердного узла собаки в условиях различных режимов двигательной активности организма // Морфология. 2001. Т. 119. № 3. С. 62 – 65.
11. Макаров, Г. А. К механизму нарушений пластических процессов в тканях при длительной гиподинамии // Пат. физиолог. 1974. № 4. С. 41 – 45.
12. Миронова, Г. Д., Проневич, Л. А., Федотчева, Н. И. и др. // Биофизика сложных систем и радиационных нарушений. М., 1977. С. 223 – 228.
13. Москалев, Ю. И. Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений. М.: Медицина, 1991. 464 с.
14. Мусиенко, П. И. Действие радиоактивных изотопов на живой организм. Киев, 1991. 100 с.
15. Никифоров, А. М., Каташкова, Г. Д. Ишемическая болезнь сердца у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС // Мед. радиол. и радиац. безопасность. М., 1995. С. 18 – 24.
16. Рыскунова, С. Т. Радиационная биология плазматических мембран. М., 1986. 128 с.
17. Саркисов, Д. С. Избранные лекции по курсу общей патологии. Вып.2. М.: МГП Эрус, 1992. 128 с.
18. Симоненко, В. Б., Бойцов, В. А., Глухов, А. А. Апоптоз и патология миокарда // Клин. мед. 2000. Т. 78. № 8. С. 12 – 16.
19. Усов, А. И. Комплексная морфофункциональная характеристика мозгового вещества надпочечников и синоаурикулярной области сердца собак после 30-суточной гипокинезии // Морфология. 2005. Т. 127. № 2. С. 47 – 51.
20. Федоров, И. В. Интенсивность синтеза и распада тканевых белков при гипокинезии и повышенной мышечной активности // Физиол. журн. СССР им. Сеченова. 1977. № 8. С. 1128 – 1133