

DOI: 10.34921/amj.2023.3.027

T.S.Sultanova

KƏSKİN FİZİKİ YÜKDƏN SONRA KARDİOMİOSİTLƏRİN MORFOFUNKSIONAL XÜSUSİYYƏTLƏRİNİN DƏYİŞİKLİKLƏRİ*Azərbaycan Tibb Universitetinin Ümumi cərrahliq kafedrası, Bakı, Azərbaycan*

Xülasə. Məqalədə birdəfəlik, kəskin fiziki yükədən sonra kardiomyosidlərdə baş verən ultrastruktur dəyişikliklərinin öyrənilməsinə həsr edilmiş tədqiqat işinin nəticələri təqdim edilmişdir. Təcrübə zamanı cinsi xətti bəlli olmayan, cinsi yetkinliyə çatmış, kütləsi 120,0-140,0 q. olan erkək ağ siçovullardan istifadə edilmişdir. Fiziki yük diametri 0,5m olan fırlanan çarxda həyata keçirilmişdir. Cəmi 30 siçovuldan istifadə edilmişdir ki, onlardan 6-sı kontrol qrupu təşkil etmişdir. Heyvanlar fırlanan çarxda yorulana qədər (3 saat) qaçaraq birdəfəlik fiziki yükün təsirinə məruz qalmışlar. Miokardda törənən dəyişiklikləri öyrənmək üçün histoloji, elektronhistokimyəvi, ultramikroskopik üsullardan istifadə edilmişdir.

Tədqiqat göstərmişdir ki, fiziki yükün təsirindən təcrübə heyvanlarının miokardında işıq-optik mikroskopiyaya zamanı elə ciddi dəyişikliklər olmur, yalnız birləşdirici toxuma stromasının hidpatasiyası müşahidə edilir. Miokardın elektron-mikroskopik tədqiqi zamanı ondakı erkən dəyişikliklərin kapillyarların ultrastruktur dəyişiklikləri ilə sıx bağlı olduğu aşkarlandı. Kapillyarların divarında qeyri-bərabər ocaqlı, müxtəlif intensivlikli distrofik dəyişikliklər törənir; endotel hüceyrələrinin, onların membranlarının ultrastrukturunu xeyli dəyişikliklərə məruz qalır. Ürək əzələsinin ödemi bir qayda olaraq miositin struktur yenidənqurulması ilə əlaqədar olur.

Açar sözlər: fiziki yük, kardiomyosit, endotel hüceyrələri, hipoksiya

Ключевые слова: физическая нагрузка, кардиомиоцит, эндотелиальные клетки, гипоксия

Key words: physical load, cardiomyocyte, endothelial cells, hypoxia

T.C.Султанова

ИЗМЕНЕНИЯ MORFOFUNKЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ КАРДИОМИОЦИТОВ ПОСЛЕ ОСТРОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

*Кафедра Общей хирургии Азербайджанского Медицинского Университета,
Баку, Азербайджан*

В статье представлены результаты исследования, проведенного с целью изучения ультраструктурных изменений кардиомиоцитов после предельной острой физической нагрузки в эксперименте. В эксперименте использованы белые лабораторные крысы-самцы половозрелого возраста, с исходной массой тела 120,0-140,0 г. Физические нагрузки воспроизводились во вращающемся колесе диаметром 0,5м. Всего было использовано 30 крыс, 6 из которых служили контролем. Животные подвергались однократной предельной физической нагрузке бегом в течение 3 часов на вращающемся колесе до полного утомления. Для изучения появившихся изменений в миокарде использованы гистологический, электронно-гистохимический, ультрамикроскопический методы исследования. С использованием параметрического критерия t-Стьюдента предварительно оценили разницы между вариационными рядами. Далее для проверки и уточнения полученных результатов использован непараметрический критерий – U-критерий Уилкоксона.

Исследование показало что, у подопытных животных в миокарде в течение острой физической нагрузки не удалось обнаружить серьезных изменений, наблюдалась гидратация соединительнотканной стромы. Электронно-микроскопическое исследование миокарда желудочков показало, что ранние изменения в них неразрывно связаны с состоянием ультраструктуры капилляров. В стенке капилляров возникает разнообразные по своей интенсивности дистрофические процессы, имеющие неравномерный очаговый характер, ультраструктура эндотелиальных клеток, цито-

мембраны их оболочек претерпевают значительные изменения. Картина отека мышечной ткани миокарда как правило, обусловлена значительной перестройкой структур миоцита, регистрируемой электронно-микроскопически.

В последнее время в процессе изучения недостаточности сердца и внезапной смерти большое значение придается очаговому поражению миокарда, что связано с гипоксией и аноксией сердечной мышцы [1-5]. Этой проблемой заинтересовались исследователи [6], которые установили снижение всех показателей сердечного выброса, увеличение легочного сопротивления в микроциркуляторном русле в результате увеличения вентиляции лёгких при физической нагрузке. Предметом активного изучения современной теории общей патологии является совокупность структурных и функциональных изменений, которые возникают в организме под воздействием различных внешних и внутренних факторов [7,8]. К числу таких факторов, которые вызывают изменения жизненно важных (системных) функций организма, относится и физическая активность [9-10].

Многочисленные исследования посвящены роли физической нагрузки. В реабилитации больных астмой [11,12] и экспериментальных моделях аллергического воспаления. Помимо основной газообменной функции, легкие активно участвуют в регуляции нагрузки сердца и находятся в прямой зависимости от сосудов большого круга кровообращения. Поэтому изучение закономерностей развития взаимообусловленных структурных изменений сердечной мышцы и лёгких приобретает исключительно большое практическое значение. В эксперименте выявились особенности динамики морфо-функциональных изменений при нагрузках и их взаимосвязи с поражением миокарда. Деструктивные изменения, протекающие в миокарде при однократной предельной физической нагрузке, изучены многими авторами [13-15].

Цель исследования — изучить ультраструктурные морфо-функциональные изменения кардиомиоцитов после предельной физической нагрузки в эксперименте.

Материалы и методы исследования. В эксперименте использованы белые лабораторные крысы-самцы половозрелого возраста, с исходной массой тела 120,0-140,0 г. Физические нагрузки

воспроизводились во вращающемся колесе диаметром 0,5 м. Животные подвергались однократной физической нагрузке до полного утомления (бег в течение 2-3 часов). Всего использовано 30 подопытных крыс, из них 6 контрольных. Объектом исследования послужили препараты подготовленные из обеих желудочков сердца крыс. Изучение миокарда проводили гистологическим, электронно-гистохимическим, ультрамикроскопическим методами исследования.

Для светооптического исследования было приготовлено 6-8 образцов мышцы левого (3-4) и правого (1-2) желудочков. Фиксацию материала проводили в 12% растворе формалина и в смеси Карнуа, заключали в парафин. Для общеморфологического изучения миокарда парафиновые срезы толщиной 5-8 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и пикрофукцином по методу Ван Гизона. Определенные ранние стадии поражения мышечных волокон сердца проводили по методу Селье Т. и соавтор (1960). Метод разработан на основе окраски методом Циль-Нильсена (комбинированное окрашивание гематоксилином – основной фуксин-пикриновая кислота). Для электронной микроскопии использовали два метода фиксации – иммерсионный и перфузионный. Для иммерсионной фиксации кусочки, взятые из левого и правого желудочков сердца, фиксировали в 2% растворе осмиевой кислоты (O_3 , O_4), приготовленной на кокадилатном буфере [16] ($pH=7,34-7,41$) в течение 2 часов. В другой группе животных проводили перфузию через легочной артерии 2,5% раствора глутаральдегида и 4% параформальдегида по методу Karnovsky M. (1965) [17]. Перфузия продолжалась 10 минут. После перфузии образцы тканей фиксировали в 2% растворе осмиевой кислоты в течение 1,2-2 часов на льду. После окончания фиксации кусочки тканей промывали дважды в буферных растворах при том же значении ($pH=7,2-7,4$).

Обезжизнение проводили в спиртах возрастающей концентрации и в абсолютном ацетоне. Заливку материала производили в смеси эпон-аралдита. Полимеризация осуществлялась в термостате в течение 48 часов при температуре 58°C. Полутонкие и ультратонкие срезы готовились на ультрамикротоме Reichert O_m-U3 с использованием стеклянных ножей. Полутонкие срезы толщиной 0,5 мкм окрашивали толуидиновым синим.

Ультратонкие срезы окрашивались методом двойного контрастирования уранил-ацетатом и цитратом свинца [18]. Исследование проводили на электронном микроскопе Tesla BS500, при ускоряющем напряжении прибора 70 кв. С использованием параметрический критерий t-Стьюдента предварительно оценили разницы между вариационными рядами. Далее для проверки и уточнения полученных результатов использован непараметрический критерий – U-критерий Уилкоксона

(Лакин Г., 1990)[19]. Вычисления проводились на компьютере с помощью электронной таблицы EXCEL (Додж М. и др., 2000). Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью программы Microsoft Excel LL XP на персональном компьютере "Sony Vaio". Различия в сравниваемых группах, считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Характер задач, поставленных в этом исследовании, предопределил специальный интерес к взаимоотношениям морфологических изменений в легких и сердечной мышце. Общие изменения гемодинамики наряду с повышением сопротивления в легочных артериолах сопровождаются увеличением минутного объема сердца, вызванного возбуждением симпатического отдела нервной системы в связи с сильным раздражением хеморецепторов аортально-каротидной зоны. Электронно-микроскопическое исследование миокарда желудочков показало, что ранние изменения в них неразрывно связаны с состоянием ультраструктуры капилляров. В стенке капилляров возникает разнообразие по своей интенсивности дистрофические процессы, имеющие неравномерный очаговый характер, ультраструктура эндотелиальных клеток, цитомембраны их оболочек претерпевает значительные изменения. Дистрофия выражается набуханием эндотелия, увеличением клеток в объеме, вакуолизацией и частичным разрушением органелл. Клеточный компонент базального слоя капилляров четко контурируется. Пучки коллагеновых фибрилл разобщены. Поражение тонкой организации стенки капилляров связано с прекращением упорядоченного поступления веществ в межклеточное пространства и соответственно в цитоплазму мышечных клеток. Отсутствие регулирования поступления и выведения веществ в условиях кислородной недостаточности нарушает так называемый, «внутриклеточный гомеостаз» кардиомиоцитов, возникает выраженная гидратация мышечной ткани (рис.1).

У подопытных животных в миокарде в течение острой нагрузки светооптически не удалось обнаружить более или менее значительных изменений, только наблюдалась гидратация соединительнотканной стромы.

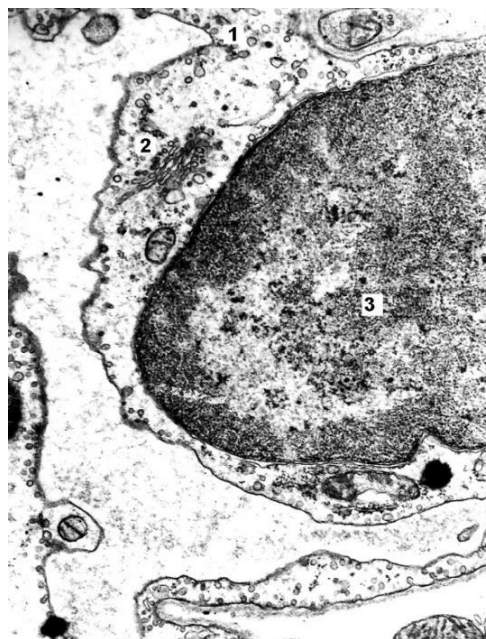


Рис. 1. Острая нагрузка. Капилляр из миокарда левого желудочка. Ув. 10000x: 1 – многочисленные пиноцитозные везикулы вдоль люминальной поверхности эндотелия; 2 – четко виден комплекс Голджи; 3 – набухание ядро эндотелиоцита

Картина отека мышечной ткани миокарда правого желудочка, как правило, обусловлена значительной перестройкой мембранных структур миоцита, регистрируемой электронно-микроскопически (рис. 2).



Рис. 2. Острая нагрузка. Миокард правого желудочка. Ув. 12000x: 1 – в кардиомиоцитах внутриклеточный отек с лизисом миофибрилл; 2 – в митохондриях имеется пятнистый матрикс, а также межкристильные гранулы; 3 – в контакте с митохондриями крупные липидные гранулы.

На электронограммах отчетлива выявляется межклеточный и интрацеллю-

лярный отек, набухание миофиламентов, лизис наружной мембраны митохондрии в контакте со вторичной лизосомой и уменьшение количества цитогранул. Ранние изменения в ультраструктуре миоцитов затрагивают энергетический аппарат клетки и определяют дальнейшее течение патологического процесса. Прежде всего раннее вовлечение митохондрий в процесс свидетельствует об их особой чувствительности к гипоксии и осмотическим нарушениям в клетке. Митохондриальный матрикс либо гомогенизирован, либо пятнисто просветлен или содержит мелкие осмиофильные гранулы. Миоциты объединяются жировыми включениями, они единичны с менее электронно-плотным матриксом. В некоторых органеллах теряется свойственная упорядоченность расположения крист, пространство между ними расширено, а иногда представлено в виде пузырьков. Соответствующие изменения возникают и в миофибриллярном аппарате. Миофиламенты хотя и сохраняют упорядоченность расположения крист, пространство между ними расширено, а иногда представлено в виде пузырьков. Соответствующие изменения возникают и в миофибриллярном аппарате. Миофиламенты хотя и сохраняют упорядоченное расположение с четко контурируемыми Z-полосками, но их гидрофильность повышена, саркоплазматический ретикулум как продольный, так и поперечный расширен (рис. 3). Подсарколемные трубочки и цистерны анастомозируют между собой и системой продольного саркоплазматического ретикулума, их полости заполнены осмиофильной массой и в сочетании и усиленным пиноцитозом в субсарколемной зоне, по-видимому, отражают процессы тканевого обмена.

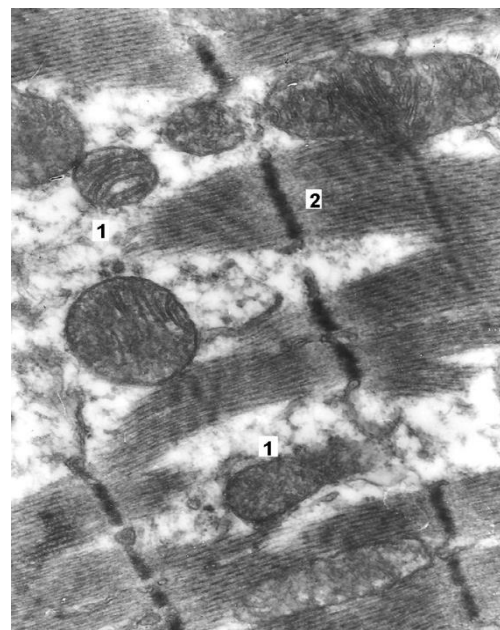


Рис. 3. Острая нагрузка. Миокард правого желудочка. Ув. 12000х: 1 – межфибриллярный отек и лизис отдельных миофиламентов; 2 – Z-полоски четко контурированы, осмиофильны.

Заключение. Ранние изменения в ультраструктуре миоцитов затрагивают энергетический аппарат клетки и определяют дальнейшее течение патологического процесса. Данные ультра и гистоструктуры мышц желудочков сердца при остром утомлении, позволяют объяснить особенности динамики кардиопульмональных реакций. По итогам проведенного эксперимента можно прийти к выводу, что при предельной физической нагрузке очевидны глубокие нарушения аэрогематического барьера легких и кардиомиоцитов, возникновение декомпенсированного дыхательного ацидоза, что свидетельствует о неадекватности физической нагрузке данного режима.

ЛИТЕРАТУРА

1. Василенко В.С. Изменение миокарда под влиянием стрессорных нагрузок в эксперименте // Морфология, 2011, Т. 140, №: 6, с. 56-59 [Vasilenko V.S. *Izmenenie miokarda pod vlianiem stressornyh nagruzok v eksperimente* // *Morfologia*, 2011, T. 140, No: 6, s. 56-59].
2. Afzal J., Liu Y., Du W., Suhail Y., Zong P., Feng J., Ajeti V., Sayyad WA., Nikolaus J., Yankova M., Deymier AC., Yue L., Kshitiz. Cardiac ultrastructure-inspired matrix induces advanced metabolic and functional maturation of differentiated human cardiomyocytes // *Cell Rep.* 2022 Jul 26;40(4):111146. doi: 10.1016/j.celrep.2022.111146. PMID: 35905711. // *Cell reports*, Volume 40, Issue 4, 2022, 111146
3. Маркина А.Е. Влияние физических нагрузок на сердечно-сосудистую систему студентов // Вестник науки. 2021. №6-1 (39). [Markina A.E. *Vlianie fiziceskih nagruzok na serdecno-sosudistuu sistemu studentov* // *Vestnik*

nauki. 2021. No6-1 (39)].

4. Исаев А.Б. Сравнительная морфофункциональная оценка скелетной и сердечной мышечной ткани при различных режимах физической нагрузки // *Азербайджанский медицинский журнал*, Баку, 2008, № 3. стр. 66-68. [Isaev A.B. *Sravnitel'naa morfo-funkcional'naa ocenka skeletnoj i serdecnoj mysecnoj tkani pri razlicnyh rezimah fiziceskoj nagruzki* // *Azerbaijan medical journal*, Baku, 2008, No 3. 66-68 str.].
5. Шадлинский В.Б., Исаев А.Б., Цагарели З.Г., Гогиашвили Л.Е. Ультраструктура кардиомиоцитов при физических нагрузках у животных зрелого и старческого возраста // *Азербайджанский Медицинский Журнал*, 2007, №3, с.162-165
6. Journeay W., Reardon F., Martin C. et al. Control of cutaneous vascular conductance and sweating during recovery from dynamic exercise in humans // *J. Appl. Physiol.*, USA, 2004, v.96, №6, p.2007-2012
7. Bougault V., Turmel J., St-Laurent J. et al. Asthma, airway inflammation and epithelial damage in swimmers and cold-air athletes // *Eur. Respir. J.*, 2009, v.33, №4, p.740-746
8. Сушевич Д.С., Рудченко И.В., Качнов В.А. Влияние физических упражнений на метаболизм и ремоделирование сердечно-сосудистой системы // *Наука молодых – Eruditio Juvenium*, vol. 8, no. 3, 2020, pp. 433-443. [Susevic D.S., Rudcenko I.V., Kacnov V.A. *Vlianie fiziceskih upraznenij na metabolizm i remodelirovanie serdecno-sosudistoj sistemy* // *Nauka molodyh - Eruditio Juvenium*, vol. 8, no. 3, 2020, pp. 433-443.].
9. Durakovic Z., Misigoj-Durakovic M., Vuori I. et al. Acute cardiovascular complications due to ohysical exercise in male teenagers // *Coll. Antropol.*, Croatia, 2004, v.28, №1, p.271-276
10. Ma, M.; Chen, W.; Hua, Y.; Jia, H.; Song, Y.; Wang, Y. Aerobic exercise ameliorates cardiac hypertrophy by regulating mitochondrial quality control and endoplasmic reticulum stress through M(2) AChR. *J. Cell Physiol.* 2021, 236, 6581–6596
11. Moreira A., Delgado L., Haahtela T., et al. Physical training does not increase allergic inflammation in asthmatic children // *Eur. Respir. J.*, 2008, v.32, №6, p.1570-1575
12. Hewitt M., Estell K., Davis I., Schwiebert L. Repeated Bouts of Moderate-Intensity Aerobic Exercise Reduce Airway Reactivity in a Murine Asthma Model // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, USA, 2010, v.42, №2, p.243-249
13. Lomas D., Silverman E., Edvards L. et al. Serum surfactant protein D is steroid sensitive and associated with exacerbations of CORD // *Eur. Respir.*, 2009, v.34, №1, p.95-102
14. Adams V, Reich B, Uhlemann M, Niebauer J. Molecular effects of exercise training in patients with cardiovascular disease: focus on skeletal muscle, endothelium, and myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2017 Jul 1;313 (1):H72-H88. doi: 10.1152/ajpheart.00470.2016. Epub 2017 May 5. PMID: 28476924.
15. Ljones K, Ness HO, Solvang-Garten K, Gaustad SE, Høydal MA (2017) Acute exhaustive aerobic exercise training impair cardiomyocyte function and calcium handling in Sprague-Dawley rats. *PLoS ONE* 12(3): e0173449.
16. Bennett H., Luft J. Collidine as a basis for buffering fixatives // *J. Biopsy. Biochem. Cyt.*, 1959, 6, p.113-4
17. Karnovsky M. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy // *J. Cell. Biol.*, 1965, v.27, p.137-8
18. Reynolds E. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy // *J Cell Biol.*, 1963, v.17, p.208-212
19. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая Школа, 1990, 352с.

T.S.Sultanova

CHANGES IN THE MORPHOFUNCTIONAL PROPERTIES OF CARDIOMYOCYTES AFTER ACUTE PHYSICAL LOAD

Department of General Surgery, Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

Summary. This article presents the results of research conducted to study the ultrastructural changes in cardiomyocytes after extreme acute physical load in an experiment. In the experiment, white laboratory male rats of sexually mature age, with an initial body weight of 120.0-140.0 grams were used. Physical loads were reproduced on a rotating wheel with a diameter of 0.5 m. During the study, 30 rats were used, 6 of which were the control group. Animals were subjected to a single physical load by running for 3 hours on a rotating wheel until they were completely exhausted. Histological, electron histochemical, and ultramicroscopic research methods were used to study the changes that appeared in the myocardium. The study showed that during an acute load in experimental animals in the myocardium, the light-optical system failed to detect serious changes, and hydration of the connective tissue stroma was observed. An electron microscopic examination of the ventricular myocardium showed that early changes in it are inextricably linked with the state of the capillary ultrastructure. In the wall of capillaries, dystrophic processes of various intensities occur, which have an uneven focal character, the ultrastructure of endothelial cells and the cytomembrane of

their membranes undergo significant changes. The picture of edema of myocardial muscle tissue, as a rule, is due to a significant restructuring of the myocyte structures, which is recorded electron-microscopically.

Автор для корреспонденции:

Султанова Тарана Солтан г., Ассистент кафедры Общей хирургии Азербайджанского Медицинского университета, Баку, Азербайджан

E-mail: rustem686@mail.ru