

КИНЕТИКА ПРОЦЕССОВ РОСТА ЛИНЕЙНЫХ РАЗМЕРОВ И ЧИСЛЕННОСТИ КАРДИОМИОЦИТОВ В МИОКАРДЕ КОМПЛЕКСА (ЛЖ+МЖП) ДО И ПОСЛЕ РОЖДЕНИЯ КРЫС

Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)

prof.zagoruykoGE@gmail.com

Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами. Исследование проведено в соответствии с тематикой НИР «Морфофункциональный стан органів і тканин експериментальних тварин та людини в онтогенезі в нормі та під впливом зовнішніх і внутрішніх чинників», № государственной регистрации 0117U003181.

Вступление. В многочисленных исследованиях было установлено, что в зависимости от природы токсических факторов, воздействующих на организм лабораторных животных, наблюдаются изменения морфогенеза органов сердечно – сосудистой системы [1,2]. Существенные изменения размеров и объема кардиомиоцитов (КМЦ) происходят в процессе гипертрофии миокарда крыс Wistar, SHR, W\SSM [3]. В ряде публикаций, посвященных возрастным изменениям структурной организации сердца лабораторных животных, содержится морфометрическая информация только для отдельных возрастных групп животных (молодых, зрелых, старых) или находящихся в стадии прогрессивного, стабильного и регрессивного роста [4,5]. Эти работы не содержат всей полноты *кинетики* развития миокарда и сердца в целом. Серийные срезы миокарда разных животных и человека свидетельствуют о том, что КМЦ имеют сложную форму, которая изменяется в зависимости от состояния сердца в норме и условий проводимых экспериментов. Поэтому при определении объема КМЦ их сложную форму часто аппроксимируют правильными геометрическими фигурами: эллипсоидом вращения или прямым круговым цилиндром [6]. Такая замена реальной сложной формы КМЦ простыми геометрическими фигурами позволяет использовать элементарные математические формулы для определения объема КМЦ.

Цель работы. На основе результатов морфометрических измерений *определить* в паренхиме миокарда «левый желудочек + межжелудочковая перегородка» (ЛЖ + МЖП) относительные объемы одноядерных и двуядерных КМЦ (1-я и 2-я КМЦ), кинетику роста линейных размеров и численность КМЦ в паренхиме (ЛЖ + МЖП) до и после рождения крыс.

Объект и методы исследования. В работе были использованы крысы Вистар: 15-16 и 20-21 суточные эмбрионы, новорожденные, 2,5, 5, 7,5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 и 45-ти суточные крысята. В каждой возрастной группе было 5-10 особей, в основном, из одного помета. При проведении экспериментов руководствовались принципами биоэтики, изложенными в Законе Украины «Про захист тварин від

жорсткого поводження» (№ 1759 від 15.12.2009 р.). У крыс под наркозом вскрывали брюшную полость, удаляли сердце, обрезали сосуды, камеры сердца освобождали от сгустков крови, удаляли предсердия и правый желудочек. Определяли массу комплекса (ЛЖ + МЖП). Из *трабекулярного* и *компактного* слоя миокарда (ЛЖ + МЖП) крыс разного возраста готовили ультратонкие срезы. В серии негативов (6 x 9) см² миокарда, полученных при 2000 \times , определяли в паренхиме относительные объемы V_v (%) темных (τ) и светлых (σ) КМЦ. В области расположения ядра измеряли меньший диаметр d (мкм) изображений сечений КМЦ. По формуле: $V_{\text{кмц}} = V_{\text{я}}(\text{мкм}^3) \cdot 100\% / V_{\text{я}}(\%)$ определяли объем КМЦ. Значения $V_{\text{я}}$ и $V_{\text{я}}(\%)$ КМЦ крысят разного возраста взяты из работы [7]. Численность КМЦ в паренхиме миокарда (ЛЖ+МЖП) определяли по формуле: $N_{\text{кмц}} = m_{\text{пар}} / \rho \cdot V_{\text{кмц}}$. Здесь: $m_{\text{пар}}$ – масса паренхимы (мг); $\rho = 1,05\text{г/см}^3 = 1,05\text{ мг} / 10^9\text{мкм}^3$ – среднее значение плотности миокарда [8,9]; $V_{\text{кмц}}$ – объем КМЦ (мкм³). Данные для $m_{\text{пар}}$ (ЛЖ+МЖП) крыс разного возраста взяты из работы [10]. Форму КМЦ эмбрионов и новорожденных крысят аппроксимировали эллипсоидом вращения, форму 2-я КМЦ – прямым круговым цилиндром. Величины $V_{\text{кмц}}$ и d использовали для определения продольного размера l (мкм) КМЦ. Цифровые данные обрабатывали методами статистики и вычисляли погрешность морфометрических измерений [6].

Результаты исследований и их обсуждение. Нами установлено, что паренхима *трабекулярного* слоя миокарда поздних эмбрионов крысят и новорожденных состоит из популяции умеренно дегидратированных «темных» 1-я т-КМЦ и популяции «светлых» 1-я с-КМЦ. Большинство КМЦ имеет веретеновидную и сложную отростчатую форму. Особенности ультраструктуры т-КМЦ позволяют предположить, что они находятся в состоянии замедленного метаболизма и физиологического покоя. Активно *сокращаются* 1-я с-КМЦ. Эти КМЦ способны к пролиферации. Миоциты расположены *рыхло* и образуют между собой локальные контакты. В *компактном* миокарде большинство КМЦ формируют популяцию с-КМЦ. Миоциты имеют оваловидную и несколько удлинненную форму, образуют между собой протяженные контакты. Некоторые с-КМЦ находятся на разных стадиях митоза. На *рис. 1* приведен *график 1* кинетики изменения V_v т-КМЦ в паренхиме (ЛЖ+МЖП) эмбрионов и новорожденных.

График состоит из двух последовательных участков. *Восходящий* участок свидетельствует об увеличении значений V_v т-КМЦ в паренхиме миокарда

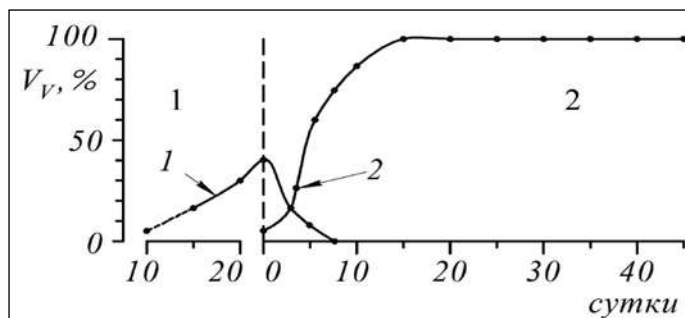


Рис. 1. Кинетика значений V_v 1-я т-КМЦ (график 1) и 2-я с-КМЦ (график 2) в паренхиме (ЛЖ + МЖП) в пренатальном – 1 и постнатальном – 2 онтогенезе крысы. По оси ординат – V_v КМЦ, в %. По оси абсцисс – сутки развития. Вертикальная штриховая линия – время рождения крысят.

эмбрионов от 17,5% (15 суток) до 29,5% (21 сутки). Нисходящий – об уменьшении значений V_v т-КМЦ в паренхиме (ЛЖ + МЖП) после рождения крысят. Максимальное значение V_v т-КМЦ равно 41%, наблюдается в паренхиме миокарда новорожденных. К 2,5 суткам после рождения V_v т-КМЦ уменьшается до 18%, к 5 суткам – до 6%, в возрасте 7,5 суток – V_v т-КМЦ → 0%. Экстраполяция восходящего участка графика 1 в сторону меньших сроков эмбриогенеза позволила определить V_v т-КМЦ в сердце 10-ти суточных эмбрионов. Оказалось, что V_v т-КМЦ ≈ 3-5 %, а V_v 1-я с-КМЦ 95-97 %. Известно, что двухкамерное сердце заполненное кровью начинает ритмично пульсировать на 10-е сутки эмбриогенеза [11]. График 2 описывает кинетику роста значений V_v 2-я КМЦ в паренхиме миокарда после рождения крысят. В интервале времени (1- 2,5) суток V_v 2-я КМЦ в паренхиме увеличивается от 5 % до 24 %. Паренхима миокарда крысят в возрасте 2,5 суток содержит: 18 % 1-я т-КМЦ, 58 % 1-я с-КМЦ и 24 % 2-я КМЦ. К 10 суткам после рождения V_v 2-я КМЦ возрастает до 86 %, а V_v 1-я с-КМЦ уменьшается до 14 %. К 15 суткам – V_v 2-я КМЦ → 100 %. На рис. 2 приведена кинетика роста модальных значений d т-КМЦ (график а), d с-КМЦ (график б) в трабекулярном слое миокарда и кинетика роста d с-КМЦ (график в) в компактном слое миокарда. Из приведенных графиков следует, что в процессе эмбрионального созревания КМЦ [12] в трабекулярном миокарде происходит медленное увеличение модальных значений d от 5,5 мкм (1-я т-КМЦ) и 6,5 мкм (1-я с-КМЦ) у 15-ти суточных эмбрионов до 6,0 мкм (1-я т-КМЦ) и 7,0 мкм (1-я с-КМЦ) у новорож-

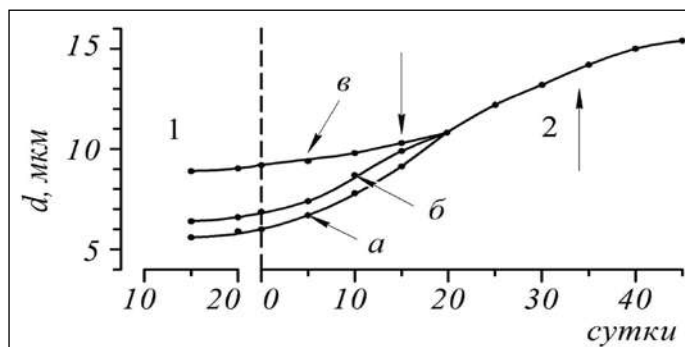


Рис. 2. Кинетика роста значений d т-КМЦ (график а), d с-КМЦ (график б) в трабекулярном миокарде и d с-КМЦ в компактном миокарде (график в) в пренатальном – 1 и постнатальном – 2 онтогенезе крысы. По оси ординат – d КМЦ, в мкм. Остальные обозначения на рис. 1.

денных крысят. В компактном слое миокарда значения d с-КМЦ постепенно возрастают от 8,8 мкм до 9,2 мкм.

К 20 суткам после рождения графики а, б и в монотонно сближаются и сходятся в узловой точке (20 суток, 10,7 мкм), которая является точкой перегиба графиков. При $t \leq 20$ суток, графики а, б и в выгнуты книзу (↓). Это свидетельствует об увеличении скорости ($\Delta d/\Delta t$) роста величины d КМЦ. Так, в трабекулярном миокарде 15-ти суточных эмбрионов $\Delta d/\Delta t = 0,1$ мкм/сутки, к 20 суткам после рождения крысят $\Delta d/\Delta t$ возрастает до 0,3 мкм/сутки. За этот период времени в компактном миокарде значения d с-КМЦ увеличивается от 0,04 мкм/сут до

0,2 мкм/сут. При $t \geq 20$ суток общий участок графиков а, б и в выпуклый вверх (↑). Это свидетельствует об уменьшении скорости роста величины d КМЦ. К 45 суткам $\Delta d/\Delta t \rightarrow 0$. Приведенные данные позволяют заключить, что к 20 суткам различия модальных значений d КМЦ трабекулярного и компактного

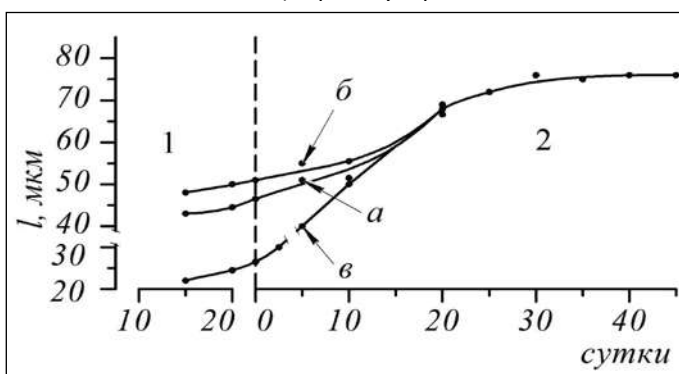


Рис. 3. Кинетика роста значений l т-КМЦ (график а), l с-КМЦ (график б) в трабекулярном миокарде и кинетика роста l с-КМЦ в компактном миокарде (график в) в пренатальном – 1 и постнатальном – 2 онтогенезе крысы. По оси ординат l КМЦ, мкм. Остальные обозначения на рис. 1.

миокарда практически нивелируются. В интервале времени (20–45) суток, значения d 2-я КМЦ в трабекулярном и компактном миокарде возрастают (от 10,7 до 15,3 мкм) ± 0,5 мкм. На рис. 3 приведена кинетика роста в трабекулярном миокарде значений продольного размера – l т-КМЦ (график а), l с-КМЦ (график б) и кинетика роста l с-КМЦ в компактном миокарде (график в).

Нами установлено, что к 20 суткам после рождения крысят, графики а, б и в сближаются и сходятся в точке (20 суток, 67 мкм). Следовательно, к 20 суткам после рождения крысят различия модальных значений l КМЦ трабекулярного и компактного миокарда практически нивелируются. Существенное увеличение цифровых значений l КМЦ происходит в паренхиме компактного слоя миокарда (график в). В интервале 15 суток до рождения и 20 суток после, значения l КМЦ компактного миокарда возрастают в 3 раза, (от 22 до 67 мкм) ± 2,0 мкм. За этот период времени значения l КМЦ в трабекулярном миокарде возрастают всего в 1,5 раза, (от 45 до 67 мкм) ± 2,0 мкм. Соотношение l/d в т-КМЦ и с-КМЦ в трабекулярном миокарде эмбрионов равно (7,7 : 1), у новорожденных –

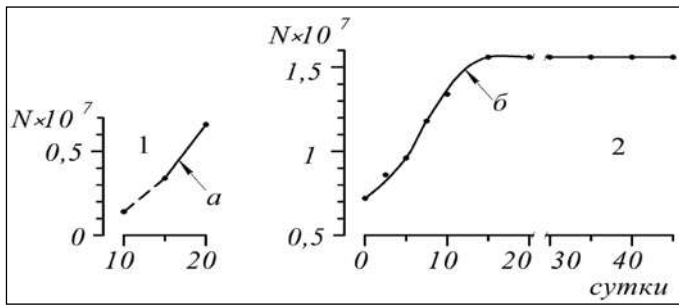


Рис. 4. Кинетика роста численности КМЦ в паренхиме миокарда (ЛЖ + МЖП) в пренатальном – 1 (график а) и постнатальном – 2 (график б) онтогенезе крыс. По оси ординат – $N \times 10^7$ КМЦ.

(7,4 : 1). В компактном миокарде соотношение Λd в 1-я с- КМЦ эмбрионов равно (2,2 : 1) у новорожденных – (2,7 : 1). После рождения цифровые значения Λd КМЦ трабекулярного и компактного миокарда постепенно сближаются. К 20 суткам Λd в 2-я КМЦ равно (6,3 : 1). К 45 суткам значение Λd равно (5 : 1). Из приведенных данных следует, что в трабекулярном миокарде значения Λd уменьшаются от (7,7 : 1) до (5 : 1), в компактном миокарде – возрастают от (2,2 : 1) до (5 : 1). На рис. 4 приведена кинетика роста численности (N) КМЦ в паренхиме (ЛЖ + МЖП) крыс до рождения (график а) и после рождения (график б).

В интервале эмбриогенеза (15 – 20) суток N КМЦ увеличиваются (от 0,36 до 0,63) $\times 10^7$. Экстраполяция графика а в сторону меньших сроков эмбрионального развития позволила определить N КМЦ в сердце 10-ти суточных эмбрионов. $N \approx (0,13-0,15) \times 10^7$. На графике б определяются два участка изменения значений N КМЦ. Криволинейный восходящий участок ограничен координатами (1- 15) суток. В течение этого времени N КМЦ в паренхиме (ЛЖ + МЖП) возрастает в 2,15 раза, (от 0,72 до 1,56) $\times 10^7$, а $V_{кмиц}$ увеличивается в 4,1 раза (от ≈ 1100 до ≈ 4500 $\text{мкм}^2 \pm 200$ мкм^3) [8]. Прямолинейный участок графика б ограничен координатами (15 – 45) суток после рождения. В течение этого времени значения N КМЦ в паренхиме (ЛЖ + МЖП) практически не изменяются (1,54 – 1,56) $\times 10^7$. В этот период наблюдается физиологическая гипертрофия 2-я КМЦ. По данным [8], $V_{кмиц}$ увеличивается (от 4500 до 14100 мкм^3) ± 200 мкм^3 .

Результаты исследования позволяют сделать следующие выводы.

1. В процессе эмбрионального развития крысят в трабекулярном слое миокарда комплекса (ЛЖ + МЖП) увеличивается содержание умеренно дегидратированных «темных» 1-я т-КМЦ, которые находятся в состоянии длительного физиологического покоя. Наибольшее значение V_v т-КМЦ, равное 41%, определяется в трабекулярном миокарде новорожденных. В процессе постнатального развития крысят (1 – 7,5) суток происходит активация метаболической и сократительной функции «покоящихся» резервных т-КМЦ, объемная доля которых уменьшается от 41% до 0%.

2. Относительный объем 2-я с-КМЦ в паренхиме миокарда комплекса (ЛЖ + МЖП) увеличивается от 5 % у новорожденных и достигает ≈ 100 % к 15 суткам после рождения крысят.

3. В интервале времени (15 суток до рождения и 45 суток после), наблюдается непрерывный рост значений l и d – линейных размеров КМЦ. Физиологическая гипертрофия КМЦ в компактном миокарде происходит в результате преимущественного увеличения l – продольного размера миоцитов. Гипертрофия КМЦ в трабекулярном миокарде – в результате преимущественного увеличения d – поперечного размера миоцитов. К 20 суткам после рождения в паренхиме компактного и трабекулярного миокарда нивелируются различия линейных размеров и объемов КМЦ.

4. В интервале (1 – 15) суток после рождения крысят происходит затухание процесса пролиферации КМЦ в миокарде (ЛЖ + МЖП). За этот период численность КМЦ увеличивается в 2,15 раз, (от 0,72 до 1,56) $\times 10^7$. После 15 суток $N_{кмиц} \approx \text{const}$. Следовательно, рост численности КМЦ в паренхиме (ЛЖ + МЖП) завершается к 15 суткам после рождения крыс.

5. С момента начала активных сокращений эмбрионального сердца (10-е сутки) до 15 суток постнатального развития крысят, происходит 10-ти кратное увеличение численности КМЦ в паренхиме миокарда комплекса (ЛЖ + МЖП), (от 0,13 – 0,15 до 1,56) $\times 10^7$.

Перспективы дальнейших исследований. Нами будет проведено исследование вклада в кинетику роста массы паренхимы миокарда комплекса (ЛЖ + МЖП) процессов пролиферации, полиплоидии и физиологической гипертрофии 1-я КМЦ и 2-я КМЦ.

Литература

1. Dovgal HV, Shevchenko IV. Yltrastrukturni osnovi kardiotsichnoy dii acetaty svincy na morfogenez serdca. Visnik probl. biol. i med. 2018;2(144);306-10. [in Ukrainian].
2. Lushnikova EL, Nepomnyashchikh LM, Young NA. Strukturnaya reorganizaciya miokarda krysa i chislennost' kardiomiocitov pri deystvii doksorybicina i triterpenoidov. Fundamentalnie issledovaniya. 2011;6;98-102. [in Russian].
3. Postnikova OA. Gisto-stereologicheskij i ultrastrukturnij analiz gipertrofii miokarda krysa. Wistar, SHR, W\SSM [avtoreferat]. Novosibirsk, 1999. 27 s. [in Russian].
4. Gnatyuk MS, Tatchuk LV, Prishlyak AM. Vikovi osoblivosti zmín yaderno-tsitoplazmaticnikh vidnoshen v kardiomiotsitakh sertsya doslidnikh tvarin. Tavrich. mediko-biol. vestnik. 2010;13(4);29-32. [in Ukrainian].
5. Nepomnyashchikh LM, Lushnikova YeL. Morfometriya i stereologiya gipertrofii serdtsa. Novosibirsk: «Nauka»; 1986. 304 s. [in Russian].
6. Avtandilov GG. Osnovy kolichestvennoy patologicheskoy anatomii. M.: «Meditsina»; 2002. 240 s. [in Russian].
7. Zahoruiko GE, Zahoruiko YuV. Vozrastnye izmeneniya razmerov i chisla kardiomiocitov, ix yader v processe prenatalnogo i rannego postnatalnogo razvitiya serdca krysa. Visnik probl. biol. i med. 2017;3(141):304-11. [in Ukrainian].
8. Najdich AM. Neodnorodnost levogo zheludochka i remodelirovanie miokarda. Byull. Sibir. mediciny. 2006;1;38-45. [in Russian].
9. Scheider W, Portfeld T. Physiol. Med. Biol. 2000;45:459-78.
10. Zahoruiko GE, Zahoruiko YuV, Shmulich AV. Zakonomernosti kinetiki rosta massy serdca, kompleksa (LZh+MZhP) i parenximy miokarda v prenatalnom i postnatalnom ontogeneze krysa. Visnik probl. biol. i med. 2018;2(144);87-90. [in Russian].
11. Rummyantsev PP. Kardiomiotsity v protsessakh reprodukcii, differentsirovki i regeneratsii. L.: «Nauka»; 1982. 288 s. [in Russian].

12. Zahoruiko GYe, Zahoruiko YuV. Morfometricheskii analiz prenatalnogo i postnatalnogo sozrevaniya kardiomiotsitov kryс. Вісник проблем біол. і мед. 2017;2(136):290-4. [in Russian].

КИНЕТИКА ПРОЦЕСІВ ЗРОСТАННЯ ЛІНІЙНИХ РОЗМІРІВ І ЧИСЕЛЬНОСТІ КАРДІОМІОЦИТІВ В МІОКАРДІ КОМПЛЕКСУ (ЛШ + МЖП) ДО І ПІСЛЯ НАРОДЖЕННЯ ЩУРІВ

Загоруйко Г. Е., Загоруйко Ю. В., Шмуліч А. В.

Резюме. Проведено морфометричне дослідження зростання розмірів і чисельності КМЦ в комплексі (міжшлункова перетинка + лівий шлуночок) до і після народження щурів Wistar. В інтервалі 15 діб ембріогенезу та 45 діб після народження, відбувається безперервне зростання лінійних розмірів КМЦ та їх об'єму (від 560 мкм³ до 14050 мкм³). За цей період чисельність КМЦ в (ЛШ + МЖП) зростає від $0,36 \times 10^7$ до $1,56 \times 10^7$.

Ключові слова: щури Вістар, онтогенез, серце, кардіоміоцити.

КИНЕТИКА ПРОЦЕССОВ РОСТА ЛИНЕЙНЫХ РАЗМЕРОВ И ЧИСЛЕННОСТИ КАРДИОМИОЦИТОВ В МИОКАРДЕ КОМПЛЕКСА (ЛЖ+МЖП) ДО И ПОСЛЕ РОЖДЕНИЯ КРЫС

Загоруйко Г. Е., Загоруйко Ю. В., Шмулич А. В.

Резюме. Проведено морфометрическое исследование роста размеров и численности КМЦ в комплексе (межжелудочковая перегородка + левый желудочек) до и после рождения крыс. Установлено, что в интервале 15 суток до и 45 суток после рождения крыс, происходит непрерывный рост продольного и поперечного размеров КМЦ. Тотальная численность КМЦ в комплексе (ЛЖ + МЖП) возрастает в 4,3 раза, от $0,36 \times 10^7$ до $1,56 \times 10^7$.

Ключевые слова: крысы Вистар, онтогенез, сердце, кардиомиоциты.

KINETICS OF THE PROCESSES OF GROWTH OF LINEAR SIZES AND NUMBERS OF CARDIOMYOCYTES IN THE MYOCARDIUM COMPLEX (LV + MZP) BEFORE AND AFTER THE RAT-BIRTH

Zahoruiko G. E., Zahoruiko Yu. V., Shmulich A. V.

Abstract. Wistar rats were used: 15-16 and 20-21 diurnal embryos, newborns, 2.5 and 5, 7.5 and 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 and 45 day-old rats. From compact and trabecular layers of the myocardium of rats of different ages, ultrafine sections were prepared. In a series of negatives (6x9) cm² obtained at 2000x, V_v (in%) of dark (d) and light (l) CMCs was determined in the parenchyma (LV + MZP). At the location of the nucleus, a smaller diameter (d, μm) of CMC images was measured. According to the formula: $V_{cmc} = V_c (\mu m^3) \cdot 100\% / V_{vc} (\%)$ determined the volumes of CMC (μm³). Here V_n is the volume of the nucleus (μm³), and V_v is the relative volume of the CMC core (%). The number of CMCs in the parenchyma (LV+MZP) was determined by the formula: $N_{cmc} = m_{par} / \rho \cdot V_{cmc}$. Here m_{par} is the parenchyma mass (mg), $\rho = 1.05 \text{ g} / \text{cm}^3 = 1.05 \text{ mg} / 10^9 \mu\text{m}^3$ is the average value of myocardial density, V_{cmc} is the CMC volume (μm³). It was found that in the process of embryogenesis, the content of moderately dehydrated d-CMC increases in the parenchyma of the myocardium, which are in a state of physiological rest. The highest value of V_v d-CMC is equal to 41%, it is determined in the parenchyma of the trabecular myocardium of newborns. In the process of postnatal development of rats (1-7.5) days, activation of the contractile function of reserve "resting" d-CMC occurs, the relative volume of which decreases from 41% to 0%. V_v dual-core CMC in the parenchyma of the myocardium increases from 5% in newborns to 100% by 15 days after the birth of the rat. In the process of ontogenesis (15 days before birth and 45 days after), a continuous increase in the linear dimensions of CMC in a compact and trabecular myocardium is observed. For hypertrophic CMC of a compact myocardium, characteristic growth of longitudinal dimensions, in trabecular myocardium – growth of transverse sizes of myocytes. By 20 days after the birth of the rat, the differences in the linear characteristics of CMC of the compact and trabecular myocardium are leveled. After the birth of the rat, the proliferation of CMC in the parenchyma (LV + MZP) gradually fades to 15 days. For this period of time the number of CMC increases 2.5 days, (from 0.724 to 1.56) x 10⁷. After 15 days, N_{cmc} ≈ const. Consequently, the increase in the number of CMCs in the parenchyma myocardium complex (LV + MZP) is completed by 15 days after the birth of Wistar rats.

Key words: Wistar rats, ontogeny, heart, cardiomyocytes.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 12.09.2018 року*