

ХАРАКТЕРИСТИКИ МИТОХОНДРИЙ КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

© А. В. Степанов,^{1,2} Е. В. Байдюк,¹ Г. А. Сакута^{1,*}

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, и

² Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, 194223;

* электронный адрес: sakuta@yandex.ru

Электронно-микроскопическое исследование миокарда крыс через 2 нед после инфаркта выявило значительное изменение ультраструктуры кардиомиоцитов по сравнению с контролем. Расположение миофибрилл было менее упорядоченным, чем в норме. Уменьшалась популяция межфибриллярных митохондрий. Кристы митохондрий были расположены менее плотно, образуя ячеистые структуры. Как в перинфарктной, так и в интактной зонах встречались обводненные и набухшие митохондрии, что свидетельствовало о развитии ишемического состояния во всем миокарде. Через 6 мес после коронароокклюзии изменения расположения миофибрилл и митохондрий в кардиомиоцитах в основном наблюдали в перинфарктной зоне. Митохондрии также образовывали ячеистые структуры. Для перинфарктной области показано снижение плотности упаковки внутренних мембран митохондрий в пересчете на единицу площади кардиомиоцита почти на 30 %. Соотношение объема, занимаемого в кардиомиоците митохондриями, и объема, занимаемого миофибриллами, в кардиомиоцитах перинфарктной зоны увеличивалось более чем на 20 %. Площадь митохондрий в интактной зоне миокарда левого желудочка увеличивалась почти на 30 % по сравнению с контролем. Исследование на изолированных живых кардиомиоцитах показало, что митохондриальный потенциал крыс, перенесших полгода назад инфаркт миокарда, был значительно ниже митохондриального потенциала контрольных животных. Таким образом, морфологически неотличимые от здоровых кардиомиоциты имеют сниженный суммарный мембранный потенциал митохондрий, что свидетельствует об их более низком энергетическом статусе.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, кардиомиоциты, митохондрии, мембранный потенциал.

Принятые сокращения: ИМ — инфаркт миокарда, ЛЖ — левый желудочек, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

Терапия сердечно-сосудистых заболеваний является актуальной проблемой в большинстве стран мира. В России только в 2014 г. от заболеваний системы кровообращения погибло более 940 тыс. человек, из них от ишемической болезни сердца — около 490 тыс., что составляет более половины всех случаев смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (Дианов, Никитина, 2015). Сердечная недостаточность является конечной стадией всех заболеваний сердца и главной причиной смертности среди населения (Харченко, 2005). Миокард, непрерывно работающий на протяжении всей жизни, является активным потребителем кислорода, крайне чувствительным к ишемии. Наиболее значительным изменениям в результате тканевой гипоксии подвергаются митохондрии, являющиеся «энергетическими станциями» клеток. Именно в них происходит полное окисление органических субстратов с образованием молекул АТФ, что требует постоянного снабжения кислородом. Нехватка энергии играет ключевую роль в развитии сердечной недостаточности (Иванов, 2013). При этом происходят значительные сдвиги в энергетическом метаболизме кардиомиоцитов, которые включают в себя нарушение функции митохондрий и

снижение скорости окисления жирных кислот, что частично компенсируется увеличением использования углеводов (Bilsen et al., 2009; Байдюк и др., 2014). Эти изменения представляют собой часть общего процесса постинфарктного ремоделирования, которую называют биохимическим ремоделированием (Stanley et al., 2005).

Митохондрии в кардиомиоцитах занимают до трети объема цитоплазмы (Альбертс и др., 1994). В отличие от скелетной мышечной ткани, хондриом которой представлен митохондриальным ретикулумом, в кардиомиоцитах хондриом образован множеством небольших митохондрий, представляющих три популяции — околадерную популяцию, популяцию митохондрий, расположенных непосредственно под сарколеммой, и популяцию межфибриллярных митохондрий (Бакеева, Ченцов, 1989; Birkedal et al., 2006; Ong, Hausenloy, 2010). Будучи крайне лабильными структурами, митохондрии одними из первых подвергаются изменениям при повреждении и гиперфункции клетки, причем разные популяции могут реагировать различно (Струков, Серов, 2010; Gladden et al., 2011; Ulasova et al., 2011). Размер митохондрий, который может колебаться в широких пределах, также является

показателем физиологического состояния клетки (Струков, Серов, 2010). В условиях ХСН довольно часто наблюдают появление мегамитохондрий — митохондрий, лежащих между миофибриллами и простирающихся на длину нескольких саркомеров (Tandler et al., 2002; Ong, Hausenloy, 2010; Hollander et al., 2014). Наряду с образованием мегамитохондрий часто описывают появление мелких митохондрий, расположенных неорганизованно. Это явление характерно для многих патологических состояний (дилатационная кардиомиопатия, кардиальная гибернация), в том числе для сердечной недостаточности после инфаркта миокарда (ИМ), и может быть индуцировано увеличением концентрации кальция или действием активных форм кислорода (Chen et al., 2009; Ong, Hausenloy, 2010). Хотя показано, что именно митохондрии играют критическую роль при формировании многих патологических состояний, в том числе ИМ, однако большая часть исследований посвящена изучению морфологии и функционирования этих органелл в остром периоде. Состояние же митохондрий при хронической сердечной недостаточности (ХСН) изучено недостаточно.

Целью настоящей работы было исследование морфологических и функциональных особенностей митохондриального аппарата кардиомиоцитов левого желудочка (ЛЖ) сердца крыс при ХСН, развившейся после экспериментального ИМ.

Материал и методика

Исследования проводили на крысах-самцах линии Wistar, возраст которых в начале эксперимента составлял 4 мес, а масса тела — 250—300 г. Животные были разделены на 3 группы: контрольные крысы, которые не подвергались какому-либо воздействию, ложнооперированные крысы и крысы с ИМ (Байдюк и др., 2012). Животных выводили из эксперимента через 2 нед и 6 мес после индукции ИМ.

Кусочки ЛЖ сердца контрольных животных и животных опытной группы фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, затем заливали в парафиновые блоки по стандартной методике и изготавливали гистологические срезы толщиной 6 мкм (Роскин, 1957). Для электронно-микроскопического исследования образцы ткани ЛЖ сердца крыс фиксировали в 2.5%-ном растворе глутаральдегида на какодилатном буфере (рН 7.4) с добавлением 0.15 М сахарозы. Постфиксацию проводили в растворе OsO₄, после чего обезвоживали в ряду спиртов и ацетона и заливали в смесь Аралдита и Эпона. Ультратонкие срезы изготавливали при помощи ультратома LKB III (Швеция) с использованием стеклянных ножей. Срезы помещали на медные сетки и контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца. Электронограммы получали при увеличениях 4000× и 20 000× на электронном микроскопе LIBRA 120 Carl Zeiss (Германия). Для проведения электронно-микроскопического исследования использовали по 3 крысы из каждой экспериментальной группы. У каждого животного анализировали 7—10 клеток. Анализ полученных электронограмм осуществляли в программе Image J. Определение объемной доли митохондрий и их площади, а также определение объемной доли миофибрилл проводили на электронограммах, отснятых при увеличении 4000×. Определение длины внутренних мембран митохондрий производили на электронограммах, отснятых при увеличении 20 000×.

Изолированные кардиомиоциты получали методом ферментативной диссоциации через 6 мес после индукции ИМ. Клетки изолировали из стенки ЛЖ сердца контрольных крыс и крыс с ХСН.

Животных наркотизировали хлоралгидратом (500 мг/кг), затем извлекали сердце и промывали его в холодном бескальциевом буфере Кребса—Хенселаита (Sigma-Aldrich, США) (рН 7.3). Вначале сердце перфузировали в течение 5 мин бескальциевым буфером с 30 мкМ EDTA. Затем перфузию осуществляли буфером с добавлением коллагеназы II типа (Worthington, США) (0.75 мг/мл) в течение 25 мин при 37 °С. По окончании перфузии сердца аккуратно вырезали стенку ЛЖ, измельчали ее ножницами в бескальциевом буфере и пропускали через нейлоновый фильтр. Полученную суспензию дважды центрифугировали при 300 об/мин, переводя клетки в буфер, содержащий 1 мМ CaCl₂.

Для анализа митохондриального аппарата кардиомиоцитов в суспензию клеток добавляли родамин 123 (10 мкг/мл) и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре, после чего клетки дважды промывали буфером.

Интенсивность флуоресценции окрашенных родамином 123 кардиомиоцитов определяли в программе ImageJ, анализируя микрофотографии, полученные с помощью микроскопа AxioScope (Carl Zeiss, Германия). Всего в исследовании было использовано 10 контрольных животных и 6 крыс с ХСН. Пространственную структуру митохондриального аппарата кардиомиоцитов исследовали с помощью конфокального микроскопа TSC SP8 (Leica, Германия).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Microsoft Excel 2007 и SigmaPlot 11.0. Для каждого параметра рассчитывали среднее значение (\bar{X}) и ошибку среднего (S_x). Достоверность различий данных оценивали, используя *t*-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В результате лигирования левой коронарной артерии у крыс развивается ишемический некроз участка миокарда ЛЖ. Постепенно участок некроза замещается рубцовой тканью: вначале рыхлой, затем плотной грубоволокнистой соединительной тканью (Струков, Серов, 2010; Байдюк и др., 2012). При этом динамика ремоделирования сердечной мышцы аналогична той, которую наблюдают у человека после ИМ (Ройтберг и др., 2007). С помощью эхокардиографии в сердце крыс через 6 мес после экспериментального ИМ выявили увеличение объема полости ЛЖ, истончение межжелудочковой перегородки, снижение фракции укорочения и фракции выброса. В то же время увеличивалось потребление кислорода и продукция углекислого газа крысами с ХСН (Байдюк и др., 2014).

Для анализа ультраструктурных изменений кардиомиоцитов стенку ЛЖ условно подразделили на две зоны — перинфарктную и интактную (рис. 1). К перинфарктной зоне относили участок миокарда на границе с областью ишемического некроза (рис. 1). Интактной считали зону, удаленную от рубца минимум на 2—3 мм.

Электронно-микроскопическое исследование миокарда через 2 нед после инфаркта выявило значительное изменение ультраструктуры кардиомиоцитов по сравнению с контролем. Расположение миофибрилл в кардио-

миоцитах крыс с ХСН было менее упорядоченным, а также они имели более рыхлую структуру, что может указывать на начало процесса их разборки (рис. 2, а, б). Практически полностью отсутствовала выраженная популяция межфибрилярных митохондрий, при этом митохондрии собирались в несколько крупных скоплений (рис. 2, в). В наибольшей степени эти изменения были выражены в кардиомиоцитах перинфарктной зоны. Как отмечалось ранее, хондриом кардиомиоцитов образован тремя субпопуляциями, причем органеллы взаимодействуют как друг с другом внутри одной популяции, так и с органеллами другой популяции, что обеспечивает их эффективную работу. Поэтому реорганизация сократительного аппарата, а также изменение хондриома в кардиомиоците неизбежно приводят к нарушению функционирования клетки. Известно, что функции митохондрий разных клеточных популяций в клетке различны. Митохондрии, расположенные между миофибриллами кардиомиоцита, являются основными производителями молекул АТФ для работы сократительного аппарата, в то время как митохондрии, расположенные вблизи сарколеммы, производят АТФ для обеспечения работы механизмов активного транспорта электролитов и метаболитов через мембрану. Популяция околоядерных митохондрий производит молекулы АТФ, необходимые для процессов, происходящих в ядре и околоядерном пространстве (Palmer et al., 1977, 1985; Rosca, Noppel, 2013; Hollander et al., 2014).

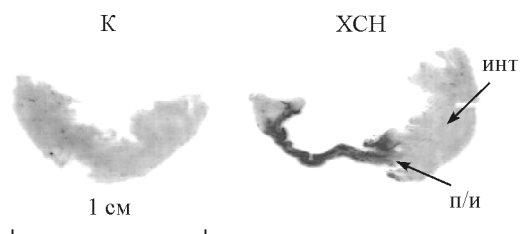


Рис. 1. Срезы стенки левого желудочка, окрашенные пикросириусом.

К — контроль, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, инт — интактная зона, п/и — перинфарктная зона.

При патологии, например перегрузке сердца объемом (модель сердечной недостаточности), основные изменения в интенсивности дыхания отмечали у митохондрий, расположенных вблизи сарколеммы, тогда как изменений в активности межфибрилярных митохондрий не происходило (Gladden et al., 2011; Ulasova et al., 2011).

Ультраструктура самих митохондрий также изменялась. Кристы были расположены менее плотно, чем в контроле, образуя ячеистые структуры (рис. 3, а, б). Встречались обводненные и набухшие митохондрии (рис. 3, в). Такие ячеистые и обводненные митохондрии встречались и в перинфарктной, и в интактной зонах, что свидетельствовало о развитии ишемического состоя-

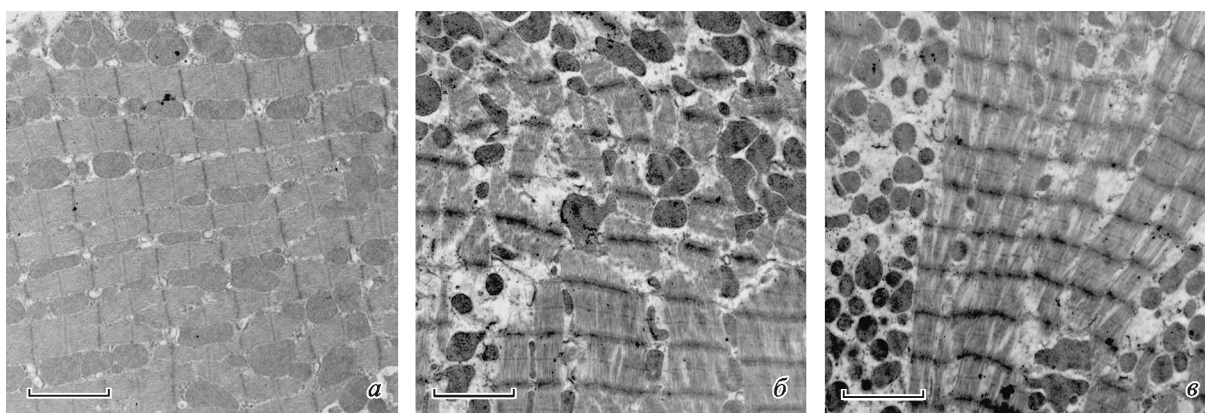


Рис. 2. Электронограммы кардиомиоцитов крыс контрольной группы (а) и кардиомиоцитов крыс через 2 нед после инфаркта миокарда (б, в).

Масштабные отрезки — 2 мкм.

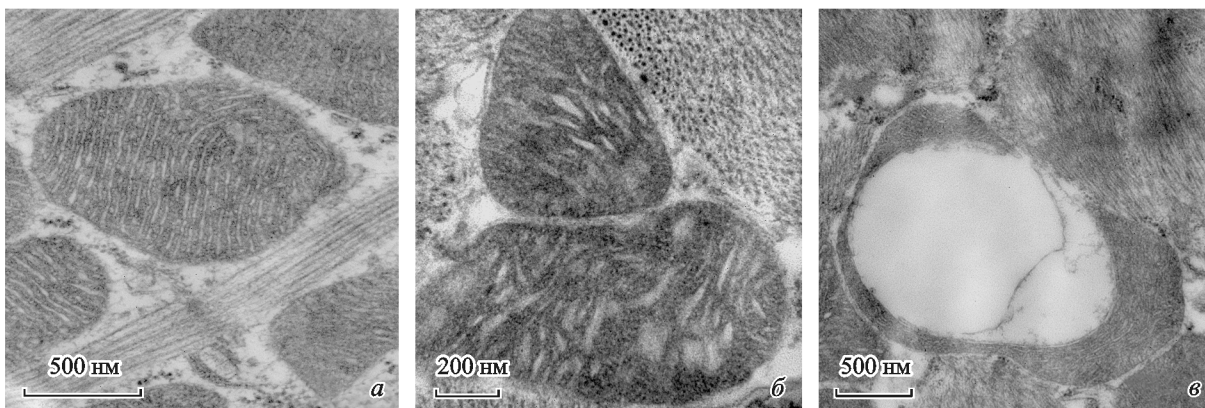


Рис. 3. Электронограммы митохондрий контрольных крыс (а) и митохондрий крыс через 2 нед после инфаркта миокарда (б, в).

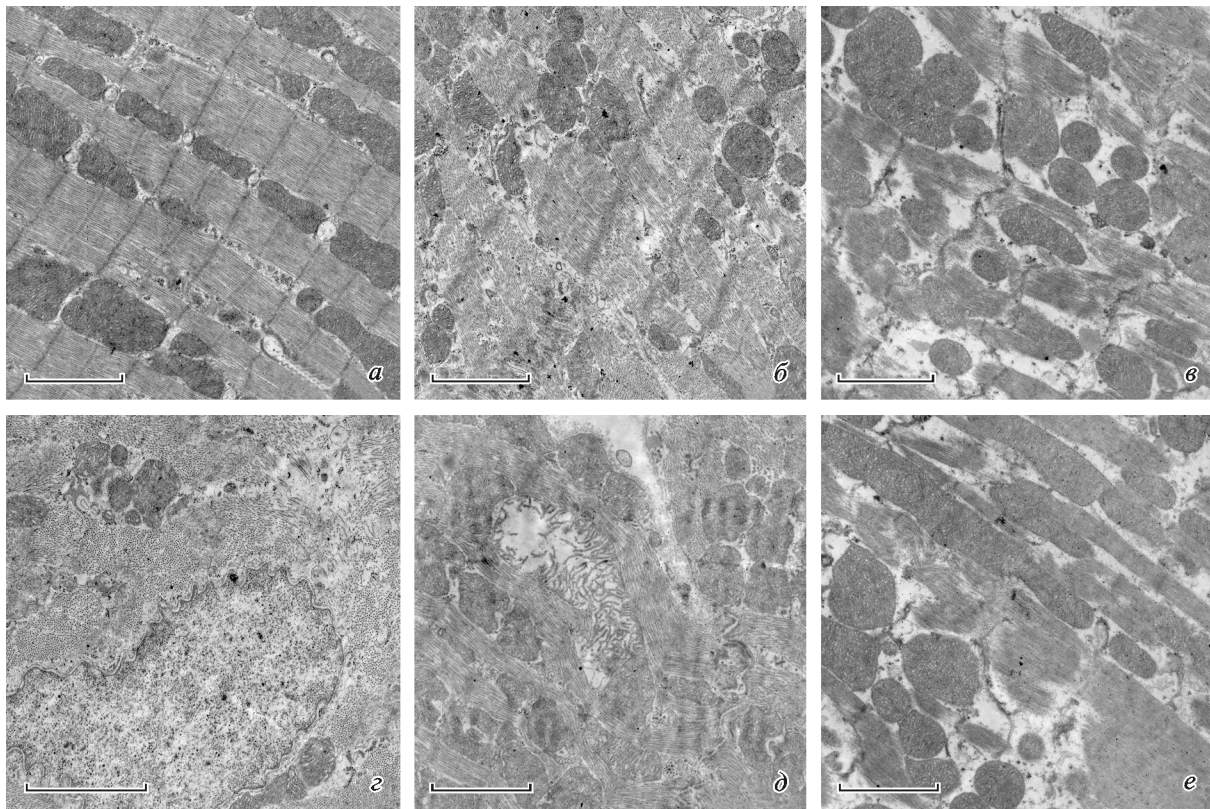


Рис. 4. Электронограммы кардиомиоцитов контрольных крыс (а) и крыс с хронической сердечной недостаточностью (б—е) через 6 мес после инфаркта миокарда.

Масштабные отрезки — 2 мкм.

ния во всем миокарде. Набухание и конденсацию митохондрий можно отнести к числу часто встречающихся патологических нарушений их структуры (Струков, Серов, 2010). Набухание митохондрий может происходить в условиях гипоксии, что характерно для миокарда при сердечной недостаточности, а также при токсических, инфекционных и прочих процессах. Показано, что гипоксия снижает уровень митохондриального дыхания, что приводит к нарушению метаболических процессов в клетке (Hollander et al., 2014). В условиях недостатка кислорода снижается активность I, III и IV комплексов дыхательной цепи (Davies et al., 2011). Гипоксия затрагивает митохондрии всех клеточных популяций без исключения.

Через 6 мес после индукции инфаркта в миокарде крыс с ХСН оставались значительные изменения морфологии кардиомиоцитов в сравнении с контролем. Расположение миофибрилл и митохондрий отличалось меньшей упорядоченностью (рис. 4, а, б). Миофибриллы имели более рыхлую структуру, присутствовали явные признаки их резорбции (рис. 4, в). В периинфарктной зоне можно было наблюдать кардиомиоциты, ядра которых имели неровный край с множеством складок (рис. 4, з). Подобные изменения ядра, как полагают некоторые авторы, можно рассматривать в качестве одного из признаков начала апоптоза (Самуилов, 2001). Помимо миофибрилл деструкции подвергались и другие клеточные структуры, в том числе и митохондрии (рис. 4, д). Описанные изменения в основном были характерны для периинфарктной зоны, хотя изредка встречались и в интактной зоне. Иногда в интактной зоне встречались крупные

митохондрии, длина которых превышала длину саркомера в несколько раз (рис. 4, е). Возможно, появление таких крупных органелл носит компенсаторный характер. Некоторые авторы полагают, что появление подобных митохондрий могут провоцировать короткие нелетальные периоды гипоксии (Wakabayashi, 2002; Noppel et al., 2009; Tondera et al., 2009). Таким образом, они предлагают считать процесс слияния митохондрий с образованием крупных органелл одним из первичных ответов на стресс, что призвано защитить клетку от возможных повторных случаев ишемии (Ong et al., 2010; Papanicolaou et al., 2012). Изменения митохондриального аппарата выражаются не только в изменении количества и размера митохондрий, но и в изменении числа, формы и размера крист. Так, увеличение числа крист может свидетельствовать о возросших функциональных потребностях клетки, и наоборот — снижение числа крист говорит о снижении уровня метаболизма (Струков, Серов, 2010). Кроме того, переход ламеллярных (пластинчатых) крист в тубулярные может носить компенсаторный характер (Солодовникова и др., 2006).

Через 6 мес после операции структура митохондрий ложнооперированных крыс не отличалась от контроля (рис. 5, а, б). Основное же отличие митохондрий крыс с ХСН заключалось в менее плотной упаковке крист, что иногда приводило к образованию ячеистых структур (рис. 5, в). Наиболее сильно эти изменения были выражены у митохондрий кардиомиоцитов периинфарктной зоны.

Известно, что число митохондрий может колебаться в широких пределах, и это отражает функциональное со-

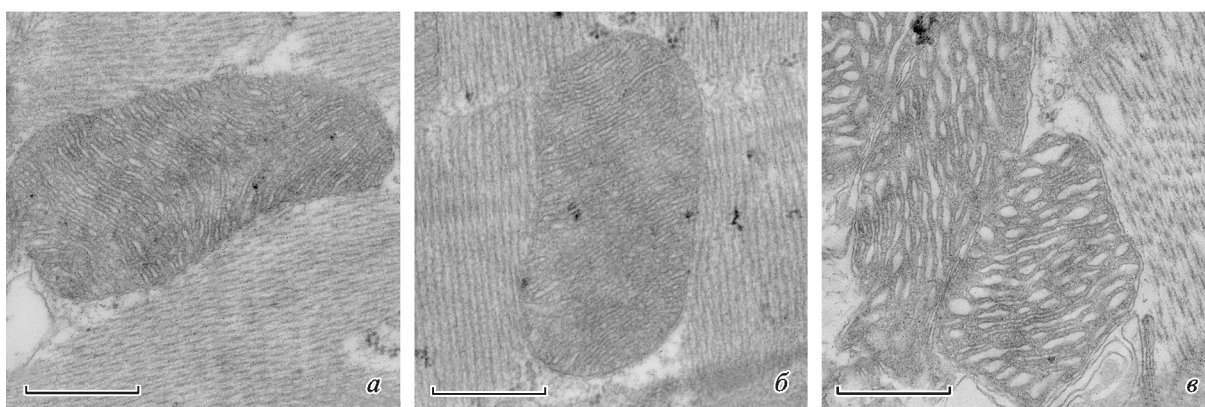


Рис. 5. Электронограммы митохондрий кардиомиоцитов контрольной группы (а), кардиомиоцитов ложнооперированных крыс (б) и кардиомиоцитов крыс с хронической сердечной недостаточностью через 6 мес после инфаркта миокарда (в).

Масштабные отрезки — 500 нм.

стояние клетки. Поэтому объемная доля митохондрий является важным параметром для оценки физиологического состояния клетки. Она показывает, какая доля от объема клетки занята митохондриями. В норме митохондрии занимают до 30 % объема цитоплазмы кардиомиоцита (Альбертс и др., 1994). Морфометрическое исследование митохондриального аппарата крыс через 6 мес после ИМ показало, что митохондрии занимают около трети от объема цитоплазмы кардиомиоцитов у крыс всех трех экспериментальных групп (см. таблицу). Изменялось соотношение объема, занимаемого в кардиомиоците митохондриями, и объема, занимаемого миофибриллами. В кардиомиоцитах перинфарктной зоны оно увеличивалось на 20,6 % (см. таблицу). Так как объемная доля митохондрий не изменялась, увеличение соотношения происходило из-за снижения объемной доли миофибрилл в кардиомиоцитах перинфарктной зоны. Причиной этого могут быть активные процессы резорбции и перестройки сократительного аппарата в клетках этой зоны.

Снижение объемной доли миофибрилл, а также значительные изменения ультраструктуры митохондрий в кардиомиоцитах перинфарктной зоны позволяют сделать вывод о снижении функциональной активности этих клеток. Морфометрическое исследование митохондриального аппарата кардиомиоцитов крыс через 6 мес после индукции инфаркта выявило изменение площади митохондрий в интактной зоне миокарда левого желудочка.

Она увеличивалась почти на 30 % по сравнению с контролем (см. таблицу).

Считается, что регенерация миокарда осуществляется в основном за счет внутриклеточных процессов компенсаторной гиперплазии, для которой характерно увеличение размера и числа различных органелл (митохондрий, миофибрилл). Возможно, что именно такой компенсаторный характер носит увеличение средней площади митохондрии в интактной зоне. Ведь именно на кардиомиоциты этой зоны переходит основная нагрузка по поддержанию адекватного сердечного выброса. Возможно, что увеличение площади митохондрии носит и протекторный характер. В соответствии с предположением ряда исследователей увеличение размера митохондрий в результате интенсификации процессов слияния должно повысить вероятность выживания клетки в условиях возможной повторной ишемии (Papanicolaou et al., 2012). Внутренняя мембрана, как известно, играет ключевую роль в синтезе молекул АТФ — основного и универсального источника энергии для функционирования клетки, а форма и число образуемых внутренней мембраной крист в многом обуславливают активность митохондрий (Riva et al., 2005; Струков, Серов, 2010).

Через 6 мес после индукции ИМ для перинфарктной области показано снижение плотности упаковки внутренних мембран митохондрий в пересчете на единицу площади кардиомиоцита на 26,3 % (см. таблицу). Получен-

Результаты морфометрического анализа электронограмм

Морфометрические параметры	Группа крыс			
	контроль (n = 3)	ложно- оперированные (n = 3)	хроническая сердечная недостаточность (n = 3)	
			интактная зона	перинфарктная зона
Средняя площадь одной митохондрии, мкм ²	0.61 ± 0.03	0.59 ± 0.04	0.79 ± 0.02 ^a	0.64 ± 0.02
Объемная доля митохондрий, %	31.10 ± 0.48	26.52 ± 3.50	33.38 ± 1.73	30.68 ± 3.71
Плотность упаковки крист на единицу площади цитоплазмы кардиомиоцитов, мкм/мкм ²	14.64 ± 0.94	12.32 ± 1.68	12.71 ± 0.62	10.80 ± 0.96 ^a
Отношение объемной доли миофибрилл к объемной доле митохондрий	0.63 ± 0.02	0.55 ± 0.03	0.82 ± 0.08	0.76 ± 0.03 ^a

Примечание. ^a Отличие от контрольных значений ($p < 0.05$).

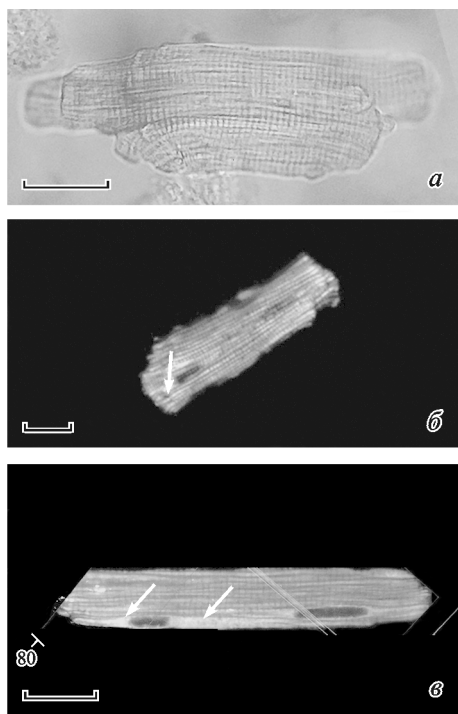


Рис. 6. Микрофотографии изолированных кардиомиоцитов.

a — общий вид изолированного кардиомиоцита в суспензии; *б* — кардиомиоцит крысы через 6 мес после инфаркта миокарда, окрашенный родамином 123; *в* — кардиомиоцит контрольной крысы, окрашенный родамином 123. Стрелками отмечены околядерные митохондрии. Масштабные отрезки — 10 мкм.

ный результат может свидетельствовать о снижении энергетического метаболизма в клетках перинфарктной зоны, однако при этом снижается и уровень образования активных форм кислорода, что может иметь положительный эффект (Murphy, 2009; Heather et al., 2010, 2012).

Исследование ультраструктуры кардиомиоцитов и митохондрий при ХСН, развившейся после экспериментального ИМ, показало значительное изменение их морфологии, что позволяет предполагать и нарушение их функционирования. Для проверки данного предположения было проведено исследование на живых изолированных кардиомиоцитах. Изолированные кардиомиоциты, выделенные как из сердец контрольных животных, так и из крыс, перенесших ИМ, сохраняли свою форму и способность сокращаться. Хорошо просматривалась попе-

речная исчерченность (рис. 6, *a*). Флуоресцентный краситель родамин 123 избирательно связывается с функционирующими митохондриями, что делает его хорошим средством для изучения хондриома клеток (Jakobs, 2006). На рис. 6, *б*, *в* представлены кардиомиоциты ЛЖ контрольных крыс и крыс с ХСН, окрашенные родамином 123. В клетках хорошо различимы популяции межфибриллярных митохондрий, тянущиеся вдоль длинной оси кардиомиоцита, видны скопления околядерных митохондрий (рис. 6, *б*, *в*). Прижизненное исследование митохондриального аппарата изолированных кардиомиоцитов крыс через 6 мес после ИМ не позволило выявить различия в его структуре и локализации внутри клетки по сравнению с контролем. Это объясняется, скорее всего, тем, что большая часть кардиомиоцитов была выделена из интактной зоны ЛЖ сердца крысы просто в силу ее намного большей массы. А как показало электронно-микроскопическое исследование, основные изменения митохондриального аппарата были зафиксированы в клетках перинфарктной зоны. По интенсивности свечения родамина 123 можно судить о величине потенциала внутренней мембраны митохондрии (Varacca et al., 2003). Измерение интегральной интенсивности флуоресценции окрашенных родамином 123 митохондрий показало, что в кардиомиоцитах крыс, перенесших полгода назад инфаркт миокарда, она на 39 % ниже по сравнению с контрольной группой (рис. 7, *a*). Среднее значение интенсивности флуоресценции в пересчете на единицу площади клетки было ниже контрольного на 24 % (рис. 7, *б*). Таким образом, морфологически неотличимые от здоровых кардиомиоциты имеют сниженный мембранный потенциал митохондрий, что свидетельствует о более низком энергетическом статусе, а значит, и о снижении способности митохондрий синтезировать АТФ. Изменение значения потенциала на мембране может быть связано и с нарушением морфологии митохондрий, образованием ячеистых структур (Владимиров, 1998; Солодовникова и др., 2006). Существует также предположение о том, что процессы гипертрофии, наблюдаемые в миокарде и приводящие к увеличению размера клеток, приводят к уменьшению концентрации кислорода внутри клетки, что негативно сказывается на метаболической активности митохондрий, расположенных вдалеке от поверхности сарколеммы, главным образом межфибриллярных и околядерных (Hollander et al., 2014). Таким образом, даже через полгода после коронароокклюзии, несмотря на активацию процессов гиперплазии, функциональная активность митохондрий кардиомиоцитов остается ниже, чем в

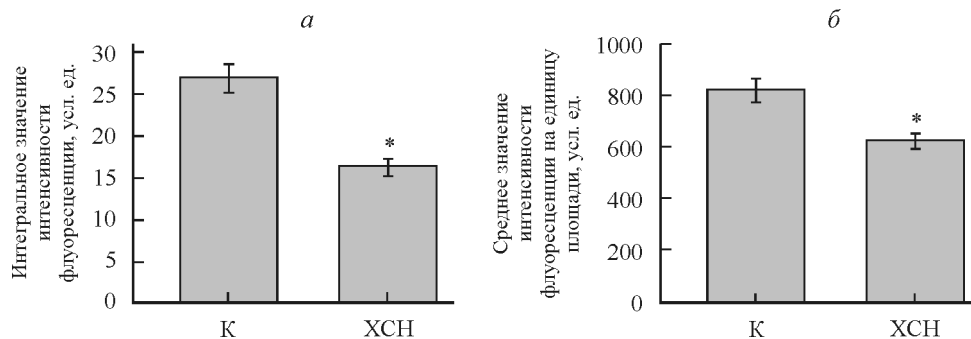


Рис. 7. Интегральное (*a*) и среднее (*б*) значения интенсивности флуоресценции кардиомиоцитов контрольных животных и крыс через 6 мес после инфаркта миокарда.

К — контроль, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, звездочка — отличие от контрольных значений ($p < 0.01$).

контроле. Это подтверждает нашу гипотезу, согласно которой, несмотря на функциональную компенсацию, сердце, подвергнувшись постинфарктному ремоделированию, остается неполноценным и выполняет необходимую работу на пределе своих возможностей и за счет большего напряжения механизмов энергообеспечения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 14-04-00730), исследования с использованием конфокальной микроскопии выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 15-15-20008).

Список литературы

- Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. 1994. Молекулярная биология клетки. М.: Мир. 1 : 521 с. (Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J.D., 1994. Molecular biology of the cell. Moscow. Mir. 1 : 521 p.)
- Байдюк Е. В., Коршак О. В., Карнов А. А., Кудрявцев Б. Н., Сакута Г. А. 2012. Клеточные механизмы регенерации печени крыс после экспериментального инфаркта миокарда. Цитология. 54 (12) : 873—882. (Baidyuk E. V., Korshak O. V., Karpov A. A., Kudryavtsev B. N., Sakuta G. A. 2012. Cell mechanisms of rat's liver regeneration after experimental myocardial infarction. Tsitologiya. 54 (12) : 873—882.)
- Байдюк Е. В., Сакута Г. А., Кислякова Л. П., Кисляков Ю. Я., Оковитый С. В., Кудрявцев Б. Н. 2014. Структурно-функциональные характеристики сердца и параметры газообмена у крыс после экспериментального инфаркта миокарда. Цитология. 56 (10) : 735—740. (Baidyuk E. V., Sakuta G. A., Kislyakova L. P., Kislyakov Yu. Ya., Okovity S. V., Kudryavtsev B. N. 2014. Heart structural and functional characteristics and gas exchange parameters after experimental myocardial infarction in rats. Tsitologiya. 56 (10) : 735—740.)
- Бакеева Л. Е., Чеңцов Ю. С. 1989. Митохондриальный ретикулум: строение и некоторые функциональные свойства. Итоги науки и техники. Актуальные проблемы биологии. 9 : 104—114. (Bakeeva L. E., Tshentsov Yu. S. 1989. The mitochondrial reticulum: the structure and some functional properties. Itogi nauki i tehniki. Actual problems of biology. 9 : 104—114.)
- Владимиров Ю. А. 1998. Физико-химические основы патологии клетки. Нарушение функций митохондрий при тканевой гипоксии. М.: МГУ. 214 с. (Vladimirov Yu. A. 1998. Physical and chemical bases of cell pathology. Mitochondrial disfunctions in tissue hypoxia. Moscow. MGU. 214 p.)
- Дианов М. А., Никитина С. Ю. 2015. Демографический ежегодник России. Стат. сб. М.: Росстат. 263 с. (Dianov M. A., Nikitina S. Yu. 2015. Demographic Yearbook of Russia. Stat. col. Moscow. Rosstat. 263 p.)
- Иванов К. П. 2013. Современные медицинские проблемы энергообмена у человека. Вестн. РАМН. 6 : 56—59. (Ivanov K. P. 2013. Modern medical problems of energy in humans. Bull. of Med. Sci. 6 : 56—59.)
- Ройтберг Г. Е., Струтинский А. В. 2007. Внутренние болезни. Сердечно-сосудистая система. М.: Бином-пресс. 856 с. (Reutberg G. E., Strutinskiy A. V. 2007. Internal diseases. The cardiovascular system. Moscow. Binom-press. 856 p.)
- Роскин Г. И. 1957. Микроскопическая техника. М.: Советская наука. 467 с. (Roskin G. I. 1957. Microscopic technics. Moscow: Sovetskaya nauka. 467 p.)
- Самуилов В. Д. 2001. Биохимия программируемой клеточной смерти (апоптоза) у животных. Сорос. образоват. журн. 7 (10) : 18—25. (Samuilov V. D. 2001. The biochemistry of programmed cell death (apoptosis) in animals. Soros Educat. J. 7 (10) : 18—25.)
- Солодовникова И. М., Сапрунова В. Б., Бакаева Л. Е., Ягузинский Л. С. 2006. Динамика изменений ультраструктуры митохондрий кардиомиоцитов изолированного миокарда крысы при длительной инкубации в условиях аноксии. Цитология. 48 (10) : 848—855. (Solodovnikova I. M., Saprunova V. B., Bakeeva L. E., Yaguzhinsky L. S. 2006. Ultrastructural changes in mitochondria of isolated rat myocardium during long-term incubation under anoxia conditions. Tsitologiya. 48 (10) : 848—855.)
- Струков А. И., Серов В. В. 2010. Патологическая анатомия. М.: Литтерра. 880 с. (Strukov A. I., Serov V. V. 2010. Pathologic anatomy. Moscow: Litterra. 880 p.)
- Харченко В. И. 2005. Смертность от основных болезней системы кровообращения в России. Рос. кардиол. журн. 1 : 5—15. (Kharchenko V. I. 2005. Mortality from major diseases of the circulatory system in Russia. Russ. Cardiol. Magazine. 1 : 5—15.)
- Baracca A., Sgarbi G., Solaini G., Lenaz G. 2003. Rhodamine 123 as a probe of mitochondrial membrane potential: evaluation of proton flux through F(0) during ATP synthesis. Biochim. biophys. acta. 1606 : 137—146.
- Bilsen M., Nieuwenhoven F. A., Vusse G. J. 2009. Metabolic remodelling of the failing heart: beneficial or detrimental? Cardiovasc Res. 81 : 420—428.
- Birkedal R., Shiels H. A., Vendelin M. 2006. Three-dimensional mitochondrial arrangement in ventricular myocytes: from chaos to order. Amer. J. Physiol. Cell Physiol. 291 : 1148—1158.
- Chen L., Gong Q., Stice J. P., Knowlton A. A. 2009. Mitochondrial OPA1, apoptosis, and heart failure. Cardiovasc. Res. 84 : 91—99.
- Davies K. M., Strauss M., Daum B., Kief J. H., Osiewacz H. D., Rycovska A., Zickermann V., Kuhlbrandt W. 2011. Macromolecular organization of ATP synthase and complex I in whole mitochondria. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 108 : 14 121—14 126.
- Gladden J. D., Zelickson B. R., Wei C. C., Ulasova E., Zheng J., Ahmed M. I., Chen Y., Bamman M., Ballinger S., Darley-Usmar V., Dell'Italia L. J. 2011. Novel insights into interactions between mitochondria and xanthine oxidase in acute cardiac volume overload. Free Radic. Biol. Med. 51 : 1975—1984.
- Heather L. C., Carr C. A., Stuckey D. J., Pope S., Morten K. J., Carter E. E., Edwards L. M., Clarke K. 2010. Critical role of complex III in the early metabolic changes following myocardial infarction. Cardiovasc. Res. 85 : 127—136.
- Heather L. C., Cole M. A., Tan J. J., Ambrose L. J., Pope S., Abd-Jamil A. H., Carter E. E., Dodd M. S., Yeoh K. K., Schofield C. J., Clarke K. 2012. Metabolic adaptation to chronic hypoxia in cardiac mitochondria. Basic Res. Cardiol. 107 : 268.
- Hollander J. M., Thapa D., Shepherd D. L. 2014. Physiological and structural differences in spatially distinct subpopulations of cardiac mitochondria: influence of cardiac pathologies. Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 307 : H1—H14.
- Hoppel C. L., Tandler B., Fujioka H., Riva A. 2009. Dynamic organization of mitochondria in human heart and in myocardial disease. Int. J. Biochem. Cell Biol. 41 : 1949—1956.
- Jakobs S. 2006. High resolution imaging of live mitochondria. Biochim. biophys. acta. 1763 : 561—575.
- Murphy M. P. 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species. Biochem. J. 417 : 1—13.
- Ong S.-B., Hausenloy D. J. 2010. Mitochondrial morphology and cardiovascular disease. J. Cardiovasc. Res. 88 : 16—29.
- Ong S.-B., Subrayan S., Lim S. Y., Yellon D. M., Davidson S. M., Hausenloy D. J. 2010. Inhibiting mitochondrial fission protects the heart against ischemia/reperfusion injury. Circulation. 121 : 2012—2022.
- Palmer J. W., Tandler B., Hoppel C. L. 1977. Biochemical properties of subsarcolemmal and interfibrillar mitochondria isolated from rat cardiac muscle. J. Biol. Chem. 252 : 8731—8739.
- Palmer J. W., Tandler B., Hoppel C. L. 1985. Biochemical differences between subsarcolemmal and interfibrillar mitochondria from rat cardiac muscle: effects of procedural manipulations. Arch. Biochem. Biophys. 236 : 691—702.
- Papanicolaou K. N., Ngoh G. A., Dabkowski E. R., O'Connell K. A., Ribeiro R. F., jr., Stanley W. C., Walsh K. 2012. Cardiomyocyte deletion of mitofusin-1 leads to mitochondrial fragmentation and improves tolerance to ROS-induced mitochondrial dysfunction and cell death. Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 302 : H167—H179.

Riva A., Tandler B., Loffredo F., Vazquez E., Hoppel C. 2005. Structural differences in two biochemically defined populations of cardiac mitochondria. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 289 : H868—H872.

Rosca M. G., Hoppel C. L. 2013. Mitochondrial dysfunction in heart failure. *Heart Fail. Rev.* 18 : 607—622.

Stanley W. C., Recchia F. A., Lopaschuk G. D. 2005. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. *Physiol Rev.* 85 : 1093—1129.

Tandler B., Dunlap M., Hoppel C. L., Hassan M. 2002. Giant mitochondria in a cardiomyopathic heart. *Ultrastruct. Pathol.* 26 : 177—183.

Tondera D., Grandemange S., Jourdain A., Karbowski M., Mattenberger Y., Herzig S. 2009. SLP-2 is required for stress-induced mitochondrial hyperfusion. *EMBO J.* 28 : 1589—1600.

Ulasova E., Gladden J. D., Chen Y., Zheng J., Pat B., Bradley W., Powell P., Zmijewski J. W., Zelickson B. R., Ballinger S. W., Darley-Usmar V., Dell-Italia L. J. 2011. Loss of interstitial collagen causes structural and functional alterations of cardiomyocyte subsarcolemmal mitochondria in acute volume overload. *J. Mol. Cell Cardiol.* 50 : 147—156.

Wakabayashi T. 2002. Mega-mitochondria formation — physiology and pathology. *J. Cell Mol. Med.* 6 : 497—538.

Поступила 22 VI 2016

CHARACTERISTICS OF RAT CARDIOMYOCYTES MITOCHONDRIA IN CHRONIC HEART FAILURE

A. V. Stepanov,^{1,2} E. V. Baidyuk,¹ G. A. Sakuta^{1, *}

¹ Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064, and

² I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, St. Petersburg, 194223;

* e-mail: sakuta@yandex.ru

Electron microscopic investigation of rat myocardium in two weeks after infarction showed significant changes of cardiomyocytes ultrastructure compared with control. Location of myofibrils was less orderly than in normal rats. Population of interfibrillar mitochondria has decreased. Mitochondrial cristae were located less tight, forming a honeycomb-like structure. Swollen mitochondria were observed both in the peri-infarction and in the intact zone, indicating that the development of an ischemic state of the entire myocardium. In 6 months after coronary occlusion, location changes of myofibrils and mitochondria in cardiomyocytes were observed mainly in the peri-infarction zone. The mitochondria of rats with chronic heart failure also formed a honeycomb structure. Reduction of packing density of the internal membranes per unit of cardiomyocyte area of almost 30 % was shown for peri-infarction area. The ratio of the volume occupied by mitochondria and the volume occupied by myofibrils, increased for more than 20 % in the cardiomyocytes of the peri-infarction zone. Area of mitochondria in intact zone of left ventricular increased for almost 30 % compared to control. Research on isolated living cardiomyocytes showed that mitochondrial potential of rats after myocardial infarction was significantly lower than mitochondrial potential of control animals. Thus, cardiomyocytes morphologically indistinguishable from normal have reduced total mitochondrial membrane potential, reflecting their lower energy status.

Key words: myocardial infarction, cardiomyocytes, mitochondria, membrane potential.