**Ямщикова Екатерина Николаевна. Морфологическая характеристика реактивных изменений сердечной мышечной ткани в условиях экспериментально измененного гистогенеза : диссертация ... кандидата медицинских наук : 03.00.25 / Ямщикова Екатерина Николаевна; [Место защиты: ГОУВПО "Оренбургская государственная медицинская академия"].- Оренбург, 2004.- 129 с.: ил.**

**Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Самарский государственный медицинский университет”**

**(04.20 0.5 25886 -**

На правах рукописи

**Ямщикова Екатерина Николаевна**

**Морфологическая характеристика реактивных изменений сердечной мышечной ткани в условиях экспериментально измененного эмбриогенеза**

03.00.25 - гистология, цитология, клеточная биология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор Г.Н. Суворова



Самара-2004

Стр.

....4

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТРУКТУРНОЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В НОРМАЛЬНОМ РАЗВИТИИ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИЗМЕНЕННОМ МИОГЕНЕЗЕ
   1. Современные представления об источниках и факторах развития тканей, образующих стенку сердца 11
   2. Гистогенез сердечной мышечной ткани позвоночных животных в эмбриональном и постнатальном периодах онтогенеза 13
   3. [Источники развития и морфофункциональная характеристика немиокардиальных клеток мышечной оболочки сердца 23](#bookmark1)
   4. Морфологическая характеристика клеточной гибели в процессе эмбрионального кардиомиогенеза 25
   5. Ультраструктурная организация сердечной мышечной ткани 28
   6. [Реактивные изменения тканей и органов под влиянием различных глюкокортикоидных препаратов 31](#bookmark2)
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

38

39

1. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
2. Материал исследования
3. Характеристика методов исследования
   1. РАЗВИТИЕ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИЗМЕНЕННОМ ГИСТОГЕНЕЗЕ

43

* + 1. Светооптическое изучение развития сердечной мышечной ткани после

пренатального введения преднизолона

* + 1. Внутриклеточные деструктивные процессы в развивающейся сердечной

55

мышечной ткани и гибель кардиомиоцитов

* + 1. Ультраструктурная организация кардиомиоцитов различных стадий

дифференцировки в эксперименте с пренатальным введением

преднизолона 63

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ 103

[ВЫВОДЫ 113](#bookmark6)

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ 114

**УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ**

В - вставочный диск

Гл- гликоген

JI - липидное включение

Мф - миофибриллы

Мтх — митохондрия

Ск - светлый кардиомиоцит

Тк - темный кардиомиоцит

ЭПС — эндоплазматическая сеть

*Я* - ядро

Яд - ядрышко

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Среди разрабатываемых в современной морфологии проблем фундаментального и прикладного характера значительное место занимает изучение закономерностей гистогенеза и регенерации тканей и органов.

Сложность и многоплановость различных сторон эмбрионального гистогенеза и регенерации миокарда обусловливают широкий круг вопросов, привлекающих внимание морфологов (.Румянцев П.П,1982; Непомнящих Л.М. с соавт., 1986,1989; Швалев B.H., 1989; Ямщиков Н.В., 1985,1991; Стадников, А.А. 1994,1997; Данилов Р.К., 2000).

Изучение структурных основ развития миокарда представляет не только теоретический, но и практический интерес. О повышенном внимании клиницистов к строению и работе сердца свидетельствует выделение науки о болезнях этого органа в самостоятельный раздел — кардиологию. Актуальность исследования миокарда в большой степени обусловлена недостаточным знанием патогенеза многочисленных заболеваний сердца. В последние годы все большее внимание гистологов привлекают проблема регенерации сердечной мышечной ткани. Необходимость изучения её восстановительных свойств связана с тем, что миокард довольно часто вовлекается в патологические процессы. Эффективность лечебных мероприятий во многом зависит от понимания механизмов восстановительных процессов в тканях сердца.

Методологической основой изучения регенераторных возможностей сердечной мышечной ткани является знание закономерных процессов нормального эмбрионального развития. В связи с этим подлежит дальнейшему изучению соотношение базисных процессов эмбрионального гистогенеза - пролиферации, дифференцировки, интеграции и клеточной гибели, закономерное протекание которых приводит к нормальному формированию миокарда. В литературе недостаточно освещены морфологические аспекты межклеточных и межтканевых взаимоотношений в развивающемся миокарде. Остается спорным вопрос об особенностях развития и функции светлых и темных кардиомиоцитов. До сих пор нет достоверных данных о соотношении и особенностях топографии разных видов гибели кардиомиоцитов. Отсутствуют исследования эмбрионального кардиомиогенеза и особенностей реактивных изменений кардиомиоцитов различных камер сердца в условиях воздействия фармакологических препаратов.

Известно, что метаболические процессы, протекающие в тканях эмбрионов, в значительной степени зависят от гормональной регуляции. В терапевтической практике широко применяются глюкокортикоидные препараты, в частности, преднизолон. Однако в литературе отсутствуют сведения о строении миокарда эмбрионов и взрослых животных после пренатального введения глюкокортикоидов. Данные об реактивных изменениях сердечной мышечной ткани в ходе её эмбрионального гистогенеза немногочисленны и часто противоречивы. Более того, в экспериментальной эмбриологии глюкокортикоидные препараты используют как вещества, обладающие тератогенной активностью. В связи с этим запросы теоретической и практической медицины ставят перед исследователями задачи по изучению реактивности органов и тканей в условиях воздействия данных препаратов. Существование спорных и малоизученных сторон дифференцировки, пролиферации и клеточной гибели кардиомиоцитов объясняет наш интерес к эмбриональному и постэмбриональному развитию сердечной мышечной ткани в норме и при экспериментально измененном эмбриогенезе. Выяснение этих вопросов с помощью гистологических, электронномикроскопических,

иммуноцитохимических и морфометрических методов имеет не только теоретическое значение, но и является чрезвычайно актуальным для практической медицины и, в частности, для кардиологии.

Цель работы - морфологический анализ эмбрионального и постнатального развития, структурной организации сердечной мышечной ткани в условиях экспериментально измененного кардиомиогенеза путем введениям зародышам глюкокортикоидного препарата преднизолона.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить структурную организацию сердечной мышечной ткани различных камер сердца белых крыс в норме и в условиях экспериментально измененного эмбриогенеза.
2. Выявить изменения морфометрических показателей кардиомиоцитов различных отделов сердца в ходе экспериментально измененного гистогенеза.
3. Исследовать гетероморфизм кардиомиоцитов в эмбриональном развитии белых крыс. Выяснить особенности реактивных изменений светлых и темных сердечных мышечных клеток при воздействии преднизолона.
4. Изучить морфологические проявления гибели кардиомиоцитов в процессе эмбрионального развития сердца белых крыс в норме и при воздействии преднизолона.

Научная новизна полученных данных. »

Используя комплекс морфологических методов, впервые в рамках одного исследования проведено детальное изучение гистогенеза сердечной мышечной ткани в норме и при воздействии на плоды белых крыс глюкокортикоидного препарата. В работе получены количественные характеристики кардиомиоцитов предсердий и желудочков в постнатальном периоде после экспериментально измененного гистогенеза.

Впервые проведено комплексное гистологическое,

иммуноцитохимическое, морфометрическое и электронномикроскопическое исследование структурной организации миокарда белых крыс в норме и после введения преднизолона в течение внутриутробного периода развития. С помощью комплекса методов гистологического исследования изучены регенераторные процессы, происходящие в сердечной мышечной ткани в ответ на воздействие преднизолона.

Впервые с помощью иммуноцитохимического метода исследования с применением моноклональных антител к белку р53 изучены особенности топографии гибнущих кардиомиоцитов и установлено наличие морфогенетической и гистогенетической программированной клеточной гибели в ходе эмбрионального развития сердца. Сочетание методов электронной микроскопии и иммуноцитохимии позволило изучить морфологические проявления гибели кардиомиоцитов в ходе экспериментально измененного гистогенеза.

**Научная и практическая значимость работы.**

В работе представлено комплексное морфологическое исследование эмбрионального развития миокарда белых крыс в условиях воздействия преднизолона. Полученные в работе данные об эмбриональном развитии сердца углубляют представления о кардиомиогенезе и представляют несомненный интерес для эмбриологов и гистологов.

Полученные данные о структурной организации миокарда, сформированного в условиях измененного эмбриогенеза, имеют значение для разработки теоретических основ применения глюкокортикоидных препаратов в практической медицине. Данные о гистогенезе сердечной мышечной ткани в условиях экспериментально измененного эмбриогенеза могут быть использованы для моделирования врожденных пороков сердца.

Полученные в результате данного исследования морфометрические, иммуноцитохимические и электронномикроскопические характеристики сердечной мышечной ткани могут быть использованы в качестве базовых при проведении экспериментов на лабораторных животных.

Проведенное исследование позволило выявить морфологические особенности сердечной мышечной ткани эмбрионов и взрослых животных в условиях экспериментально измененного эмбриогенеза. Результаты

исследований следует учитывать при обосновании применения глюкокортикоидов в клинической практике.

Выявленные закономерности динамики морфологических изменений сердечной мышечной ткани расширяют существующие представления об ее реактивных изменениях при различных воздействиях.

Общетеоретические результаты работы целесообразно использовать в преподавании соответствующих разделов гистологии, эмбриологии и кардиологии.

Положения, выносимые на защиту.

1. Закономерные процессы эмбрионального гистогенеза сердечной мышечной ткани - пролиферация, дифференцировка, интеграция и клеточная гибель имеют свои особенности проявления в нормальном и экспериментально измененном гистогенезе.
2. Иммуногистохимическое выявление апоптоза с помощью моноклональных антител к белку р53 позволяет установить наличие 2-х видов гибели кардиомиоцитов - морфогенетической и гистогенетической.
3. Экспериментальное изменение эмбриогенеза в результате введения глюкокортикоидного препарата преднизолона вызывает нарушение ультраструктурных характеристик кардиомиоцитов, их морфометрических показателей, а также изменение интенсивности клеточной гибели.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на научной конференции "Гистологическая наука России в начале XXI века: итоги, задачи, перспективы" (г. Москва, 2003), на Всероссийской научной конференции "Реактивность и пластичность гистологических структур в нормальных, экспериментальных и патологических условиях", посвященной памяти члена-корреспондента АМН СССР профессора Ф.М. Лазаренко (г. Оренбург, 2003), на Всероссийской конференции "Молодые ученые - медицине" (г. Самара, 2003), на V Общеросийском съезде анатомов, гистологов и эмбриологов (г.

Казань, 2004), на расширенном заседании Самарского отделения Всероссийского научного общества анатомов, гистологов и эмбриологов (2004).

**Внедрение результатов исследования.**

Результаты исследований используются в учебном процессе в Самарском государственном медицинском университете при чтении лекций и проведении практических занятий по темам «Мышечные ткани» и «Сердечно-сосудистая система».

**Публикации.** По материалам диссертации опубликованы в печати 6 работ.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования, их обсуждения, выводов и списка литературы, включающего 146 источников, из которых 68 - отечественные.

Иллюстративный материал представлен 1 таблицей, 84 рисунками, которые включают 63 электронограммы и 15 микрофотографий

Выводы

1. Экспериментальное нарушение эмбриогенеза крысиного зародыша путем многократного введения глюкокортикоидного препарата — преднизолона- вызывает деструктивные процессы в сердечной мышечной ткани, проявляющиеся в нарушении ультраструктуры ядер и цитоплазматических органоидов кардиомиоцитов.
2. Восстановление структурной организации кардиомиоцитов осуществляется путем внутриклеточной регенерации. В динамике морфологических показателей сердечных миоцитов наблюдается корреляция в пределах правой и левой половины сердца. В раннем постнатальном периоде у экспериментальных животных кардиомиоциты левой половины сердца (предсердия и желудочка) характеризуются меньшими размерами по сравнению с контролем. Размеры ядра и цитоплазмы кардиомиоцитов правого предсердия и правого желудочка превышают контрольные показатели.
3. Наличие различных морфологических форм кардиомиоцитов в составе сердечной мышечной ткани обусловливает пластичность и восстановительные способности миокарда. В эксперименте в светлых кардиомиоцитах деструктивные изменения завершаются перестройкой синтетического аппарата с последующей внутриклеточной регенерацией поврежденных органелл. Темные кардиомиоциты являются менее устойчивой к повреждению популяцией сердечных мышечных клеток. При экспериментальном воздействии глюкокортикоидов в них возникают необратимые повреждения ядерного аппарата и внутриклеточных органелл. Гибнущие миоциты теряют межклеточные контакты и подвергаются гибели по механизму, морфологически сходному с апоптозом.
4. Программированная гибель является неотъемлемым процессом эмбрионального гистогенеза сердечной мышечной ткани крыс. С помощью иммуноцитохимической реакции с моноклональными антителами к белку р53 и метода электронной микроскопии установлено, что в процессе эмбрионального развития сердечной мышечной ткани имеют место два вида клеточной гибели кардиомиоцитов, происходящих путем апоптоза, — гистогенетическая и морфогенетическая. Гистогенетической гибели подвергаются отдельные кардиомиоциты, расположенные мозаично. Морфогенетическая гибель затрагивает большие группы кардиомиоцитов. Она связана с формообразовательными процессами, происходящими в сердце, и обеспечивает дефинитивное строение сердца как органа.
5. Элиминация кардиомиоцитов в ходе экспериментально измененного путем введения глюкокортикоидного препарата гистогенеза осуществляется двумя способами. Первый характеризуется выраженной апоптотической гибелью кардиомиоцитов. Количество гибнущих кардиомиоцитов значительно больше, чем у контрольных животных. Кроме этого обнаруживаются морфологические проявления гибели кардиомиоцитов, свидетельствующие о том, что разрушение клеток происходит по механизму некроза.
6. Возникающие в результате воздействия глюкокортикоидов изменения соотношения и интенсивности процессов дифференцировки и программированной клеточной гибели кардиомиоцитов в процессе активного кардиомиогенеза лежат в основе клеточных и тканевых механизмов патологического гистогенеза. Диапазон этих изменений обусловлен пластичностью сердечной мышечной ткани и ее специфической детерминацией.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Авцын А.П., Шахламов В.А. Ультраструктурные основы патологии клетки. — М.: Медицина, 1979. - 316 с.
2. Балуева О.Б. Морфофункциональная характеристика кардиомицитов крыс в норме и после воздействия этилого эфира диметилтрихлоргексеновой кислоты в различные периоды онтогенеза: Автореф. дисс. ... канд. Мед. Наук. - СПб, 1996- 22с.
3. Белушкина Н.Н., Северин С.Е. Молекулярные основы патологии апоптоза // Архив патологии. -2001. - Т.72. - №1. - С. 51-60.
4. Валиуллин В.В. Влияние дексаметазона на развитие денервационных изменений в быстрой и медленной скелетной мышцах //Бюлл. экспер. биол. - 1999. - Т. 128 - №7. - С. 51 -53.
5. Валиуллин В.В. Нейротрофический контроль и гуморальная регуляция пластичности скелетной мышцы: Автореф дисс. ... докт. биол. наук- Саранск, 1996.-46с.
6. Валиуллин В.В., Дзамуков Р.А. Роль импульсивной активности мотонейрона в регуляции состава миозинов медленной скелетной мышцы // Бюлл. экспер. биол. - 1998. - Т. 126 - №10. - С. 472 — 473.
7. Волков В.И. Морфологическая характеристика сердечных миоцитов лягушки (Rana ridibunda) в процессе кардиогенеза. // Арх. Анат., 1982. - Т.82. - вып.З. - С. 73-80.
8. Горбачева Т.В. Химико-токсикологическое исследование анаболических стероидов: Автореф. диссс. ... док.мед. наук. - СПб, 1996. - 22с.
9. Дробышева Р.А. Гистохимический анализ дифференцировки мышечных элементов миокарда человека в эмбриогенезе // Гистогенез, регенерация и трансплантация миокарда и скелетных мышц, Куйбышев, 1970. - С.30-36.
10. Дробышева Р.А. Дивергентная дифференцировка мышечных элементов миокарда у некоторых позвоночных: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. - Куйбышев: КМИ,1975. 46с.