

КИНЕТИКА РАЗВИТИЯ МИТОХОНДРИОМА И ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ МИТОХОНДРИЙ В КАРДИОМИОЦИТАХ КОМПЛЕКСА (ЛЖ+МЖП) В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫС WISTAR

Ровненский государственный гуманитарный университет (г. Ровны)

*Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)

**Украинская медицинская стоматологическая академия (г. Полтава)

prof.zagoruykoGE@gmail.com

Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами. Работа проведена в соответствии с темами НИР: «Теоретичні та прикладні аспекти розвитку біологічних наук» и «Анатомо-фізіологічні аспекти росту та розвитку людини і тварин», № государственной регистрации 0116U002990.

Вступление. Учение о митохондриях (МХ) возникло в далеком 1850 году, когда Келликер впервые описал микроструктуры в форме мелких зернышек, расположенных в срезах волокон поперечнополосатой мышечной ткани. С тех пор прошло много лет и только в 1949 году Е.Р. Kennedy и А.Л. Lehninger [1] установили, что в суспензии МХ, выделенных из клеток печени крыс, протекают химические процессы цикла окислительного фосфорилирования и образование молекул АТФ. Результаты последующих исследований МХ А.Л. Lehninger обобщил в монографии [2], которая послужила толчком для проведения комплексных исследований физиологических, биохимических функций и биогенеза МХ биохимики, генетиками, морфологами в разных странах мира. В 1970 году вышла монография Д. Рудина и Д. Уикли «Биогенез митохондрий» [3], в которой авторы обобщили информацию о процессах роста, деления, слияния МХ и возможного образования этих органелл *de novo* в различных клетках эукариотов. В настоящее время исследуют функции митохондриальной ДНК (мх-ДНК) и мх-РНК, процессы синтеза мх-белков и энергетического метаболизма в МХ. Установлено, что мх-ДНК кодирует синтез структурных белков внутренней МХ мембраны и крист, а ДНК ядра – синтез растворимых мх-белков [4]. Показана роль МХ в обеспечении энергией функции различных типов клеток в тканях органов млекопитающих, установлено участие этих органелл в развитии патологических процессов [5], механизмах апоптоза и старения клеток [6,7]. Проводятся работы по изучению строения и функции белков, формирующих «митохондриальные поры» в МХ мембране [4], исследуются механизмы образования «межмитохондриальных» контактов, молекулярные механизмы «слияния ↔ деления» МХ, миграции этих органелл в цитоплазме клеток [8]. Успехи в исследовании ультраструктуры митохондриома = митохондриального аппарата (МА) связаны с применением методов трансмиссионной, растровой электронной микроскопии, гистохимии и морфометрии. При изучении динамики ультраструктуры кардиомиоцитов (КМЦ) млекопитающих выявлена гетерогенность МА в

зависимости от зоны локализации МХ в КМЦ [9]. Результаты исследований послужили основанием для выделения в МА КМЦ трех субпопуляций МХ: межмиофибриллярной, субсарколеммальной и парануклеарной [10]. Однако, до настоящего времени не исследованы *in vivo* закономерности деления и слияния, роста и убыли численности МХ в составе МА рабочих КМЦ миокарда в период раннего постнатального развития лабораторных животных – крыс Wistar.

Цель работы. Определить закономерности последовательности процессов деления и слияния, роста и убыли численности МХ, объема этих органелл в составе МА КМЦ в паренхиме миокарда комплекса (ЛЖ + МЖП) в процессе раннего постнатального онтогенеза крыс Wistar.

Объект и методы исследования. При проведении экспериментов руководствовались принципами биоэтики, изложенными в Законе Украины «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№ 1759 від 15.12.2009 р.) и правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных исследованиях. Работы по забою животных и экстирпации сердца проводили утром, в интервале время 8 – 10 часов. Были использованы: новорожденные (н/р), 1 – 45-ти суточные крысы линии Wistar. Известно, что в течение 45 суток завершаются процессы постнатального созревания рабочих КМЦ [11]. Объектом ультраструктурного и морфометрического исследования явился комплекс «левый желудочек + межжелудочковая перегородка» (ЛЖ + МЖП). Это обусловлено тем, что сократительная функция миокарда комплекса (ЛЖ + МЖП) обеспечивает кровоснабжение опорно-двигательного аппарата (костная система + мышечная система + соединения органов), на долю которого в организме позвоночных животных и человека приходится до 80 % массы тела [12]. Нами проведен морфометрический анализ изображений ультраструктуры КМЦ, полученных при увеличении 2000^x. Для морфометрии использовали оптико-механическое устройство УМА-1. Информация о методах гисто-, и ультраморфометрии препаратов миокарда изложена в монографии [13]. В данном исследовании определяли: относительный объем МА в КМЦ (VvMA, %), абсолютный объем МА в КМЦ (VMA, мкм³), который определяли по формуле $VMA = V_{кмц} \cdot VvMA / 100\% (1)$, где $V_{кмц}$ – средний объем КМЦ (мкм³). Цифровые значения $V_{кмц}$ в паренхиме миокарда (ЛЖ + МЖП) мо-

лодых крыс разного возраста приведены в работе [11]. Для определения среднего объема одной МХ ($\Delta V_{мх}$, мкм^3) использовали формулу объема эллипсоида вращения: $\Delta V_{мх} = k \cdot D/d^2$ (2), в которой $k = 0,523$; D и d средние значения большего и меньшего диаметров сечений МХ (мкм). Численность МХ ($N_{мх}$) в рабочих КМЦ рассчитывали по формуле: $N_{мх} = VMA / \Delta V_{мх}$ (3). Результаты морфометрии ультраструктуры МА КМЦ обрабатывали с помощью графико – аналитического метода и набора программ для персонального компьютера IBM – SigmaPlot for Windows 9.0.

Результаты исследований и их обсуждение. Известно, что *постнатальное* развитие позвоночных животных и человека сопровождается *ростом* массы тела, органов опорно-двигательного аппарата, сердца [12]. В процессе роста организма увеличивается объем циркулирующей крови, протяженность кровеносных сосудов большого и малого кругов кровообращения, возрастает периферическое сопротивление кровотоку в интрасосудистом русле *растущих* органов. В процессе постнатального онтогенеза наблюдается существенная активизация *двигательной* активности организма, рост его работоспособности. Для обеспечения энергией сократительной функции сердца по перемещению *возрастающего* объема крови в макроциркуляторных *растущих* органах, необходимо адекватное *увеличение* численности и размеров рабочих КМЦ в миокарде комплекса (ЛЖ + МЖП), *увеличение* объема МА в КМЦ и количества энергопродуцирующих органелл – МХ.

Кинетика раннего постнатального развития МА в популяциях КМЦ

В работе [14] было установлено, что к **15 суткам** после рождения крысят в миокарде (ЛЖ + МЖП) *завершаются* процессы *пролиферации* и *полиплоидии* КМЦ. *Тотальная* численность рабочих КМЦ в паренхиме миокарда (ЛЖ + МЖП) к 15 суткам стабилизируется на уровне $1,52...1,56 \times 10^7$. В ранний период постнатального *кардиомиогенеза* ($t \leq 15$ суток) в паренхиме миокарда комплекса (ЛЖ + МЖП) крысят определяются *три вида* рабочих КМЦ, которые формируют *три* неравнозначные по численности и функциям *популяции* мышечных клеток сердца (см. табл.).

Первая популяция состоит из одноядерных умеренно обезвоженных темных 1ят-КМЦ. В миокарде n/p крысят Vv популяции 1ят-КМЦ составляет $41 \pm 1 \%$. Т-КМЦ находятся в состоянии *функционального покоя* и не участвуют в сокращении сердечной мышцы. В течение (5-7) суток после рождения крысят значения Vv популяции 1ят-КМЦ в миокарде (ЛЖ + МЖП) убывают до **0 %** в результате активизации *сократительной* функции 1ят-КМЦ, *гидратации* саркоплазмы, умеренного *набухания* МХ, *релаксации* МФ и *перехода* 1ят-КМЦ в популяцию *сокращающихся светлых* 1яс-КМЦ. В результате перехода 1ят-КМЦ \rightarrow 1яс-КМЦ происходит *убыль* численности популяции 1ят-КМЦ в миокарде (ЛЖ + МЖП) от $3,9 \times 10^6$ до «0» (см. табл.). В 1ят-КМЦ в состоянии *функционального покоя* осуществляются непрерывные процессы *замедленного* метаболизма. Об этом свидетельствует *увеличение* в течение 7 суток объема

Таблица – Динамика структурной организации популяций КМЦ в комплексе (ЛЖ + МЖП) в ранние сроки ($t \leq 15$ сут) постнатального развития крыс Wistar

Возраст	n/p	2,5 сут	5 сут	7 сут	10 сут	15 сут
$Vv_{мх}$ в КМЦ %	21,3 $\pm 0,50$	25 % $\pm 0,50$	29 % $\pm 0,50$	30,5 % $\pm 0,50$	32 % $\pm 0,50$	34 % $\pm 0,50$
N т-кмц в (ЛЖ+МЖП)	$3,9 \times 10^6$	$2,8 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	Nкмц \rightarrow 0	-	-
V т-кмц (мкм^3)	880 ± 50	940 ± 50	1000 ± 80	1120 ± 80		
VMA т-кмц (мкм^3)	187 ± 40	235 ± 40	290 ± 40	340 ± 40	-	-
ΔV т-мх (мкм^3)	0,08 $\pm 0,005$	0,10 $\pm 0,005$	0,11 $\pm 0,005$	0,12 $\pm 0,005$	-	-
N т-мх $\pm \Delta N_{мх}$	2337 ± 50	2350 ± 50	2640 ± 70	2850 ± 70	-	-
N с-кмц в (ЛЖ+МЖП)	$3,1 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$	$3,8 \times 10^6$	$3,7 \times 10^6$	$2,3 \times 10^6$	Nкмц \rightarrow 0
V с-кмц (мкм^3)	1480 ± 100	1600 ± 100	1700 ± 100	1900 ± 100	2100 ± 150	2700 ± 150
VMA с-кмц (мкм^3)	315 ± 40	400 ± 40	493 ± 40	580 ± 50	672 ± 50	918 ± 50
ΔV с-мх (мкм^3)	0,11 $\pm 0,005$	0,12 $\pm 0,005$	0,13 $\pm 0,005$	0,14 $\pm 0,005$	0,15 $\pm 0,005$	0,17 $\pm 0,005$
N с-мх $\pm \Delta N_{мх}$	2800 ± 100	3300 ± 100	3800 ± 100	4150 ± 100	4480 ± 150	5400 ± 150
N 2я-кмц в (ЛЖ+МЖП)	$0,9 \times 10^6$	$2,3 \times 10^6$	$5,2 \times 10^6$	$8,8 \times 10^6$	$11,5 \times 10^6$	$14,5 \times 10^6$
V 2я-кмц (мкм^3)	2120 ± 100	2250 ± 100	2400 ± 100	2700 ± 100	3100 ± 150	4500 ± 150
VMA 2я-кмц (мкм^3)	452 ± 40	562 ± 40	696 ± 50	824 ± 50	992 ± 80	1530 ± 100
$\Delta V_{мх}$ 2я-кмц (мкм^3)	0,12 $\pm 0,005$	0,13 $\pm 0,005$	0,14 $\pm 0,005$	0,15 $\pm 0,005$	0,16 $\pm 0,005$	0,19 $\pm 0,01$
$N_{мх}$ 2я-кмц $\pm \Delta N_{мх}$	3770 ± 100	4320 ± 150	4970 ± 150	5490 ± 150	6200 ± 150	8050 ± 150

1ят-КМЦ в 1,27 раза, от 880 до 1120 мкм^3 , объема МА 1ят-КМЦ в 1,82 раза, от 187 до 340 мкм^3 и среднего объема МХ в 1,5 раза, от 0,08 до 0,12 мкм^3 (см. табл.). В интервале ($n/p - 2,5$) суток в 1ят-КМЦ наблюдается умеренное *набухание* МХ и увеличение объема этих органелл от 0,08 до 0,10 мкм^3 . Численность МХ в 1ят-КМЦ в этот период не изменяется ($N_{т-мх} = 2337...2350$). В следующем возрастном интервале (2,5 - 7) суток в 1ят-КМЦ численность МХ *возрастает* от 2350 до 2850 в результате *деления* органелл с частотой $\approx 111 \text{ мх/сут}$ или (4-5) *мх/час*. **Вторая популяция** состоит из 1яс-КМЦ. В миокарде *новорожденных* крысят Vv популяции 1яс-КМЦ составляет $54 \pm 0,5 \%$. В течение 15 суток после рождения крысят популяция 1яс-КМЦ обеспечивает *сократительную* и *пролиферативную* функции миокарда (ЛЖ+МЖП). В результате *убыли* числа 1яс-КМЦ, способных к *пролиферации* и *полиплоидии* 1яс-КМЦ, происходит переход 1яс-КМЦ \rightarrow 2я-КМЦ. Поэтому Vv популяции 1яс-КМЦ в миокарде в течение 15 суток убывает до **0 %**. В ранние сроки ($t \leq 2,5$ суток) численность популяции 1яс-КМЦ в (ЛЖ + МЖП) *возрастает* от $3,1 \times 10^6$ (n/p) до $5,0 \times 10^6$ (см. табл.). Рост значений $N_{с-кмц}$ в этот период происходит в результате активной *пролиферации* 1яс-КМЦ, а также перехода 1ят-КМЦ \rightarrow 1яс-КМЦ. В интервале времени (5 - 7) суток численность популяции 1яс-КМЦ в миокарде (ЛЖ + МЖП) *не изменяется* ($N_{с-кмц} = 3,7...3,8 \times 10^6$), а к 15 суткам

1яс-кмц → «0» в результате прекращения деления 1яс-КМЦ. В период времени ($t \leq 15$ суток) в 1яс-КМЦ осуществляются процессы *активного* метаболизма. Увеличивается объем 1яс-КМЦ в 1,82 раза, от 1480 до 2700 мкм^3 , возрастает объем МА в 2,91 раза от 315 до 918 мкм^3 и средний объем МХ в 1,54 раза, от 0,11 до 0,17 мкм^3 (см. табл.). Численность МХ в 1яс-КМЦ на протяжении 15 суток *возрастает* в 1,9 раза, от 2800 до 5400 в результате деления МХ с частотой **173 мх/сут**, или **7 мх/час**. **Третья популяция** – двуядерные КМЦ (2я-КМЦ). В миокарде н/р крысят Vv популяции 2я-КМЦ составляет $5 \pm 0,5 \%$. В течение 15 суток после рождения крысят Vv популяции 2я-КМЦ в (ЛЖ + МЖП) возрастает от 5 % до 95 %. Увеличение Vv популяции 2я-КМЦ в миокарде (ЛЖ + МЖП) происходит в результате пролиферации 1яс-КМЦ и последующего перехода 1яс-КМЦ → 2я-КМЦ. За 15 суток N 2я-кмц в миокарде (ЛЖ + МЖП) возрастает в 16,3 раза от $0,9 \times 10^6$ (н/р) до максимума равного $14,5 \times 10^6$ (см. табл.). В саркоплазме 2я-КМЦ осуществляются непрерывные процессы *активного* метаболизма. В интервале (н/р -15) суток происходит *увеличение* объема 2я-КМЦ 2,12 раза, от 2120 до 4500 мкм^3 , объема МА в 3,38 раза, от 453 до 1530 мкм^3 среднего объема МХ в 1,58 раза, от 0,12 до 0,19 мкм^3 (см. табл.). За 15 суток численность МХ в 2я-КМЦ возрастает в 2,13 раза, от 3770 до максимума, равного 8050 в результате деления МХ с частотой **285 мх/сут** или **12 мх/час**. Возрастающая по численности популяция 2я-КМЦ обеспечивает сократительную функцию комплекса (ЛЖ+МЖП) сердца на протяжении всей последующей постнатальной жизни крыс. Следовательно, особенностями раннего постнатального кардиомиогенеза ($t \leq 15$ сут) являются: *убыль* численности популяций 1ят- и 1яс-КМЦ до «0», *рост* численности популяции 2я-КМЦ до максимума, *увеличение* объема 1ят-, 1яс- и 2я-КМЦ, *рост* объема МА и размеров МХ, *увеличение* в КМЦ численности МХ в результате деления. Итак, ранний ($t \leq 15$ сут) постнатальный кардиомиогенез в комплексе (ЛЖ + МЖП) крыс Wistar осуществляется в результате скоординированного в пространстве и согласованного во времени динамического взаимодействия *трех* популяций КМЦ: 1ят-КМЦ, 1яс-КМЦ и 2я-КМЦ.

Кинетика постнатального развития МА в КМЦ комплекса (ЛЖ+МЖП)

Из результатов морфометрического анализа следует, что при $t \leq 15$ суток паренхиму миокарда комплекса (ЛЖ + МЖП) формируют взаимодействующие между собой три популяции КМЦ (1ят-, 1яс-, 2я-КМЦ). При $t \geq 15$ суток паренхима миокарда практически на 95 % состоит из популяции 2я-КМЦ.

В этой связи представляет научный интерес исследовать *кинетику* структурных изменений *митохондрия*, который обеспечивает энергией сократительную функцию *трех* популяций КМЦ. На рис. 1 представлен **график 1** кинетики роста усредненных для *трех* популяций КМЦ значений VvМА в паренхиме миокарда (ЛЖ+МЖП). VvМА монотонно возрастает от **21,3 %** и *асимптотически* приближается к максимуму $40 \pm 0,5 \%$ в 2я-КМЦ 45-ти суточных крысят. **График 1** выпуклый кверху. *Наибольший* рост усредненных значений VvМА в популяциях КМЦ наблюдается в первые 10 суток от **21,3** до $32 \pm 0,5 \%$. *Наименьший* рост значений VvМА в 2я-КМЦ наблюдается в интервале времени (30 – 45) суток, от **37 %** до **40 %**. На основании данных постнатального роста VvМА (**график1**) и увеличения объема рабочих КМЦ [11,14], нами проведены вычисления и построен **график 2 (рис. 1)** кинетики роста абсолютного объема (VMA) в КМЦ миокарда (ЛЖ + МЖП). В течение 45-ти суток кардиомиогенеза значения VMA в КМЦ монотонно возрастают в 20 раз от **270 мкм³** (усредненное значение для популяций КМЦ н/р крысят) до максимума **5400 мкм³** в 2я-КМЦ 45-ти суточных крысят. На **графике 2** расположена точка «А», координаты которой 30 сут и 3500 мкм^3 , определяют место *перегиба* графика. При $t \leq 30$ суток участок **графика 2** вогнутый книзу. Это свидетельствует об *ускорении* роста значений VMA в КМЦ в 13 раз, от **270 мкм³** (н/р) до **3500 мкм³** (30-е сутки). При $t > 30$ суток участок **графика 2** выпуклый кверху. Это свидетельствует об *замедлении* роста значений VMA в 2я-КМЦ. В интервале времени (30 – 45) суток значения VMA возрастают всего в 1,5 раза, от **3500 мкм³** до

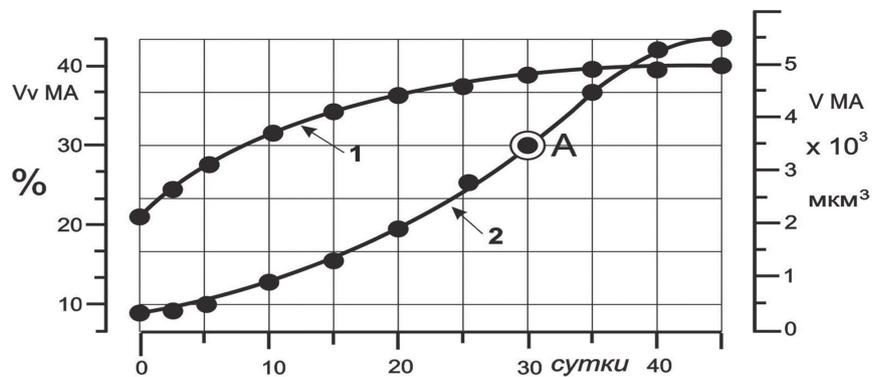


Рисунок 1 – Кинетики роста цифровых значений VvМА (график 1) и VMA (график 2) в КМЦ комплекса (ЛЖ + МЖП) в раннем постэмбриогенезе крыс Wistar. По оси абсцисс – сутки развития.

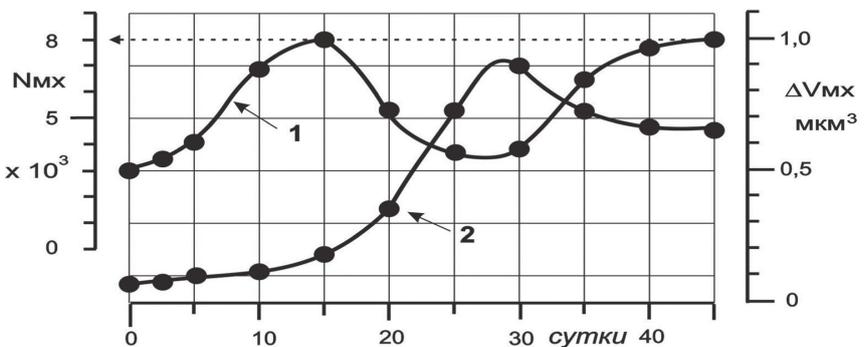


Рисунок 2 – Кинетика «роста↔убыли» цифровых значений Nмх (график 1) и ΔVмх (график 2) в КМЦ комплекса (ЛЖ + МЖП) в раннем постэмбриогенезе крыс Wistar. По оси абсцисс – сутки развития.

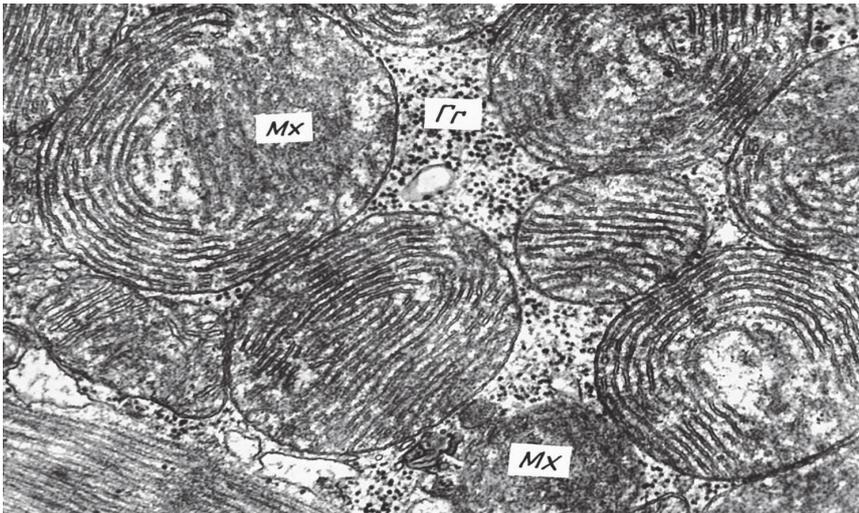


Рисунок 3 – Ультраструктура МХ в парануклеарной зоне 2я-КМЦ на 30-е сутки постнатального развития крыс Wistar. Мх – митохондрии, Гг – зерна гликогена.

максимума 5400 мкм^3 . Следовательно, в течение 45 суток после рождения крысят, в КМЦ комплекса (ЛЖ + МЖП) определяется *монотонный и непрерывный рост* значений V_{VMA} и V_{MA} . На **рис. 2** представлены графики *кинетики* «роста ↔ убыли» средних значений N_{Mx} (график 1) и ΔV_{Mx} (график 2) в популяциях КМЦ комплекса (ЛЖ + МЖП) в период постнатального развития крысят.

График 1 состоит из **4-х** последовательных участков монотонности. **Первый** участок соответствует интервалу времени ($n/p - 15$) суток. В течение этого времени происходит *интенсивное увеличение* в $\approx 2,4$ раза значений N_{Mx} в КМЦ от **3300** (n/p) до **максимума 8050** в результате *деления МХ*. Средняя частота *деления МХ* в популяциях КМЦ за 15 суток составила $\approx 317 \text{ мх/сут}$ или $\approx 13 \text{ мх/час}$. За этот период времени значения ΔV_{Mx} (график 2) *увеличились* в 1,9 раза от $0,09 \text{ мкм}^3$ (усредненное значение для популяций КМЦ n/p крысят) до $0,17 \text{ мкм}^3$ (15-е сутки) в результате *гипертрофии МХ*. Итак, при $t \leq 15$ суток, в популяциях КМЦ в комплексе (ЛЖ + МЖП) происходят *одновременно* два процесса: *увеличение численности МХ ($N_{\text{Mx}} \uparrow$)* в результате *деления органелл* и *рост среднего объема МХ ($\Delta V_{\text{Mx}} \uparrow$)* в результате физиологической *гипертрофии МХ*. **Второй** участок соответствует интервалу времени (15 – 25) суток. На протяжении этого времени наблюдается *уменьшение* значений N_{Mx} в 2я-КМЦ в 2 раза, от **8050** до **4000**. *Одновременно* возрастают в 4,2 раза значения ΔV_{Mx} (график 2) от $0,17$ до $0,72 \text{ мкм}^3$. Приведенные данные свидетельствуют о том, что в интервале времени (15 – 25) суток в 2я-КМЦ происходит *интенсивное слияние МХ* и *уменьшение их численности* в 2 раза. Частота *слияния МХ* составила **400 мх/сут** или **(16-17) мх/час**. При слиянии органелл объем образовавшейся МХ увеличивается в 2 раза ($\Delta V_{\text{Mx}} = 0,17 \times 2 = 0,34 \text{ мкм}^3$). Рост значений ΔV_{Mx} до $0,34 \text{ мкм}^3$ происходит в интервале (15 – 20) суток. В следующем интервале (20 – 25) суток значения ΔV_{Mx} возрастают еще 2,1 раза от $0,34$ до $0,72 \text{ мкм}^3$. Рост значений ΔV_{Mx} в этот период времени объясняется тем, что в процессе *слияния* двух МХ, в образовавшейся МХ *увеличивается* в 2 раза количество мх-ДНК [8]. Это способствует *интенсификации биосинтеза мх-белков* и *росту* объ-

ема МХ. Следовательно, в интервале времени (15 – 25) суток *морфогенез МА* в 2я-КМЦ обеспечивается двумя *процессами*: *слиянием МХ ($2\text{Mx} \rightarrow 1\text{Mx}$)*, *уменьшением* в 2 раза их численности от **8050** до **4000** и *ростом* значений ΔV_{Mx} в 2,1 раза от $0,34$ до $0,72 \text{ мкм}^3$ в результате *интенсификации биосинтеза мх-белков удвоенным количеством мх-ДНК*. **Третий** участок соответствует интервалу времени (25 – 30) суток. На протяжении этого времени наблюдается *стабилизация численности МХ* в 2я-КМЦ ($N_{\text{Mx}} = 3900 \dots 4000$). *Одновременно* возрастают в 1,25 раза значения ΔV_{Mx} от $0,72$ до **максимума, $0,9 \text{ мкм}^3$** (график 2). Анализ ультраструктуры парануклеарной зоны 2я-КМЦ позволил установить, что в интервале времени (20 – 30) суток, в 2я-КМЦ происходит *существенная перестройка МА* и *перераспределение множества МХ* в зонах их локализации. К 30-м суткам в парануклеарной зоне 2я-КМЦ *возрастает* численность МХ. В этой зоне определяется *увеличенное число МХ округлой формы, больших размеров*. МХ содержат *многочисленные протяженные кристы извитой и спиральной формы* (рис. 3).

Извитая форма крист в МХ 2я-КМЦ способствует *существенному увеличению площади внутренней митохондриальной мембраны*, на поверхности которой локализованы *многочисленные ферменты*, которые участвуют в процессах *окислительного фосфорилирования* и *синтеза универсального источника биологической энергии – молекул АТФ*. **Четвертый** участок графика соответствует интервалу времени (30 – 45) суток. В течение этого времени происходит *деление МХ с частотой 267 мх/сут* или **11 мх/час** и *увеличение численности МХ* в 2я-КМЦ в 2 раза, от **4000** до **8000**. При *делении* одной МХ объемом $0,9 \text{ мкм}^3$ образуются две дочерние МХ, каждая объемом по $0,45 \text{ мкм}^3$. Однако, данные приведенные на **рис. 2** (график 2), свидетельствуют о том, что после *деления МХ*, значения ΔV_{Mx} *уменьшаются* не в 2 раза, а всего в **1,34** раза от $0,9$ до $0,67 \text{ мкм}^3$. Следовательно, в интервале времени (30 – 45) суток, в 2я-КМЦ происходят не только процессы *деления МХ*, но и *рост объема МХ* в 1,49 раз от $0,45$ до $0,67 \text{ мкм}^3$. Итак, при $t \geq 30$ суток, в 2я-КМЦ происходят *одновременно* два процесса: *увеличение численности МХ ($N_{\text{Mx}} \uparrow$)* в результате *деления* этих органелл и *рост среднего объема дочерних МХ ($\Delta V_{\text{Mx}} \uparrow$)*.

Выводы
1. В миокарде комплекса (ЛЖ + МЖП) *новорожденных* крысят определяются *три* неравнозначных по численности и функциям *популяций КМЦ*: 1ят-КМЦ, 1яс-КМЦ, 2я-КМЦ. В постнатальном периоде развития крысят ($t \leq 15$ суток) происходит *убыль численности популяций* 1ят-КМЦ и 1яс-КМЦ до «0» в результате *перехода* 1ят-КМЦ \rightarrow 1яс-КМЦ \rightarrow 2я-КМЦ.
2. В период постнатального *кардиомиогенеза* (45 суток) в миокарде (ЛЖ + МЖП) определяется непре-

ривний *рост* об'ємів 1ят-КМЦ, 1яс-КМЦ, 2я-КМЦ от 880 мкм³ (1ят-КМЦ) до 14050 мкм³ (2я-КМЦ) и *увеличение* в КМЦ об'єма *митохондрия* в 8,2 раза от 187 мкм³ (1ят-КМЦ) до 1530 мкм³ (2я-КМЦ).

3. Постнатальное развитие *митохондрия* в КМЦ осуществляется путем реализации биологического закона «деление ↔ слияние». В период (н/р – 15) суток определяется интенсивное *деление* МХ (1МХ→2МХ) и увеличение численности этих органелл в КМЦ. Частота *делений* МХ составила: в 1ят-КМЦ 111мх/сут; в 1яс-КМЦ – 173мх/сут, в 2я-КМЦ – 285 мх/сут. В интервале времени (30 – 45) суток частота *делений* МХ в 2я-КМЦ составила 267мх/сут.

4. В интервале времени (15 – 25) суток в 2я-КМЦ комплекса (ЛЖ + МЖП) происходит *слияние* МХ (2МХ→1МХ) с частотой 420 мх/сут. В результате *слияния* численность МХ в 2я-КМЦ уменьшается в 2 раза от 8000 до 4000.

5. *Слияние* МХ сопровождается *увеличением* в 2 раза содержания мх-ДНК в матриксе МХ. Удвоенное количество мх-ДНК *способствует*: интенсификации биосинтеза и накоплению в матриксе МХ мх-белков; физиологической гипертрофии МХ и существенному увеличению площади поверхности крист, которые часто приобретают *извитую* и *спиралевидную* формы.

6. При *t < 30 суток* в популяциях КМЦ миокарда (ЛЖ + МЖП) происходит непрерывный *рост* размеров МХ в 11раз, от минимума 0,08 мкм³ в 1ят-КМЦ н/р крысят до максимума 0,9 мкм³ в 2я-КМЦ 30-ти суточных крысят. При *t > 30 суток* в 2я-КМЦ происходит уменьшение размеров МХ до 0,67 мкм³.

Перспективы дальнейших исследований. Будет проведено исследование *кинетики* постнатального роста миофибриллярного аппарата в КМЦ паренхимы миокарда комплекса (ЛЖ + МЖП) крыс Wistar.

Литература

- Kennedy EP, Lehninger AL. Oxidation of fatty acids and tricarboxylic acid cycle intermediates by isolated rat liver mitochondria. J. Biol. Chem. 1949 Jun;179(2):957-72.
- Lehninger AL. The Mitochondrion. New York, 1964. 160 p.
- Rydin D, Yilki D. Biogenesis mitochondria. M.: Mir; 1970. 156 s. [in Russian].
- Naryjnaia NV, Maslov LN, Lishmanov IyB. Pora, izmeniaiyaya prornitsaemost mitohondrii – regyliator ystoichivosti serdtsa k deistviyu reperfyzii. Russian J. of Physiol. 2018;104(3):272-90. [in Russian].
- Ong S-B, Hausenloy DJ. Mitochondrial morphology and cardiovascular disease. J. Cardiovasc. Res. 2010;88:16-29.
- Hacker G. The morphology of apoptosis. Cell Tissue Res. 2000;90(13):5-17.
- Myrdian NK. Apoptoz i starenie. Probl. starenia i dolgoletia. 1999;8(1):85-102. [in Russian].
- Patryshev MV, Mazynin IO, Vinogradova EN. Slianie i delenie mitohondrii. Obzor. Biokhimiia. 2015;80(11):1745-54. [in Russian].
- Hollander JM, Thapa D, Shepherd DL. Physiological and structural differences in spatially distinct subpopulations of cardiac mitochondria: influence of cardiac pathologies. Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2014;307:1-14.
- Shponka IS. Gistogeneticheskie protsessy v razvivajemsia miokarde mlekopitaiyih. Dnepropetrovsk: POROGI; 1996. 228 s. [in Russian].
- Zahoruyko GE, Zahoruyko 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 Russian].
- Shmidt-Nielsen. Razmery zhivotnyh: pochemy oni tak vajny? M.: Mir; 1987. 259 s. [in Russian].
- Avtandilov GG. Osnovy kolichestvennoy patologicheskoy anatomii. M.: «Meditsina»; 2002. 240 s. [in Russian].
- Zahoruyko YuV, Zahoruyko GE, Martsinovskii VP, Filatova VL. Zakonomernosti kardiomiogeneza y krysa Wistar: rost symmarnoi chislennosti kardiomiotsitov i obrazovanie popyliatsii dviyadernnyh miotsitov v parenhime miokarda kompleksa (LJ +MJP). Visnik probl. biol. i med. 2019;2(149):70-5. [in Russian].

КИНЕТИКА РОЗВИТКУ МІТОХОНДРІОМА І ДИНАМІКА ЧИСЕЛЬНОСТІ МІТОХОНДРІЙ В КАРДІОМІОЦИТАХ КОМПЛЕКСУ (ЛЖ+МЖП) У РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ ЩУРІВ WISTAR

Загоруйко Г. Е., Марциновський В. П., Загоруйко Ю. В., Філатова В. Л., Шмуліч О. В.

Резюме. Постнатальний розвиток митохондрия в КМЦ здійснюється шляхом реалізації біологічного закону «поділ ↔ злиття». В інтервалі часу (н/р – 15) діб визначається інтенсивний поділ МХ і збільшення чисельності цих органелл в КМЦ. Частота поділу МХ в 1ят-КМЦ дорівнює 111 мх/діб; в 1яс-КМЦ – 173 мх/діб, в 2я-КМЦ – 285 мх/діб. В інтервалі часу (30 – 45) діб частота поділу МХ в 2я-КМЦ дорівнює 267 мх/діб. В інтервалі часу (15 – 25) діб в 2я-КМЦ відбувається інтенсивне злиття МХ з частотою 420 мх/діб.

Ключові слова: кардіоміогенез, популяція кардіоміоцитів, поділ і злиття митохондрий, митохондрияльний апарат.

КИНЕТИКА РАЗВИТИЯ МИТОХОНДРИОМА И ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ МИТОХОНДРИЙ В КАРДИОМИОЦИТАХ КОМПЛЕКСА (ЛЖ+МЖП) В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫС WISTAR

Загоруйко Г. Е., Марциновский В. П., Загоруйко Ю. В., Филатова В. Л., Шмулич О. В.

Резюме. Постнатальное развитие *митохондрия* в КМЦ осуществляется путем реализации биологического закона «деление ↔ слияние». В интервале времени (н/р – 15) определяется интенсивное *деление* МХ и увеличение численности этих органелл в КМЦ. Частота *делений* МХ в 1ят-КМЦ равна 111 мх/сут; в 1яс-КМЦ – 173 мх/сут, в 2я-КМЦ – 285 мх/сут. В интервале времени (30 – 45) суток частота *делений* МХ в 2я-КМЦ равна 267 мх/сут. В интервале времени (15 – 25) суток в 2я-КМЦ происходит интенсивное *слияние* МХ с частотой 420 мх/сут.

Ключевые слова: кардиомиогенез, популяции кардиомиоцитов, деление и слияние митохондрий, митохондрияльный апарат.

KINETICS OF DEVELOPMENT OF MITOCHONDRIA AND DYNAMICS OF THE NUMBER OF MITOCHONDRIA IN CARDIOMYOCYTES OF THE COMPLEX (LV+RH) IN EARLY POSTNATAL RAT ONTOGENESIS WISTAR

Zahoruiko G. E., Martsinovsky V. P., Zahoruiko Yu. V., Filatova V. L., Shmulich O. V.

Abstract. It has been established that by 15 days after birth, the rat in the myocardium of the complex left ventricle and interventricular septum (LV + ISH) complete the proliferation and polyploidy of CMC. The number of CMC workers in the myocardium (LV + ISH) stabilizes at the level of $1,52 \dots 1,56 \times 10^7$. In the myocardial parenchyma of newborn rat three populations of muscle cells are unequal in number and function: 1nuclear d-CMC, 1nuclear s-CMC and 2nuclear-CMCs. At $t \leq 15$ days, the number of populations of 1nd- and 1ns-CMC decreases to "0" as result of the transition $1nd-CMC \rightarrow 1ns-CMC \rightarrow 2n-CMC$. In the process of postnatal development of rat pups, in the myocardial parenchyma (LV + ISH) a continuous increase in the sizes of 1nd-, 1ns-, 2n-CMCs and an increase in the volume of mitochondrioma in 1nd-, 1ns-, 2n-CMC is determined. The postnatal development of mitochondrioma in CMC is carried out through the implementation of the biological law "division \leftrightarrow merger". In the time interval (n/p – 15), the division of MX and the increase in the number of these organelles in CMC are determined. The frequency of MX divisions in 1nd-CMC is 111 mx/day; in 1ns-CMC – 173 mx/day, in the 2n- CMC – 285 mx/day. The frequency of MX divisions in 2n-CMC equal to 267 mx/day, is determined in the time interval (30 – 45) days of postnatal development of rats. In the time interval (15 – 25) days in the 2n-CMC, an intensive fusion of the MX occurs with a frequency of 420 mx/day. The fusion of MX leads to an increase in the volume of organelles and a 2-fold increase in the content of MX DNA molecules in MX. The doubled amount of MX-DNA in MX promotes: intensification of biosynthesis and accumulation of MX-proteins in the MX matrix; an increase in the size of the surface area of cristae which acquire a convoluted and spiral shape; an increase in the volume of MA, the development of physiological hypertrophy of the MX in CMC. During postnatal ontogenesis in populations of CMC of the myocardium complex (LV + ISH), MX sizes increase from a minimum of $0.08 \mu\text{m}^3$ in 1nd-CMC of newborn rat to a maximum of $0.9 \mu\text{m}^3$ in 2n-CMC of 30- day- old rat.

Key words: cardiomyogenesis, populations of cardiomyocytes, mitochondrial division and fusion, mitochondrial apparatus.

Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 11.02.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-1-155-72-75

UDC 577.113.4:546.719

¹Polokhina K. V., ¹Golichenko O. A., ¹Shtemenko O. V., ²Shtemenko N. I.

**INTERACTION OF RHENIUM(III) CLUSTER COMPOUNDS
WITH OLIGONUCLEOTIDES OF DIFFERENT COMPOSITION**
¹SHEI «Ukrainian State University of Chemical Technology» (Dnipro)
²Dnipro University of Technology (Dnipro)

golichenko_alex@ukr.net

Publication relation to planned scientific research projects. The study is a fragment of the research project «Purposeful synthesis of rhenium compounds with low oxidation states and their nanoparticles with biological activity», state registration No. 0117U001159; the work was partially performed at Friedrich-Alexander-University of Erlangen-Nuernberg, Germany.

Introduction. In continuation of our study on the interaction of dirhenium(III) cluster compounds with nucleic acids [1-3], we present a paper devoted to the study on the interaction of three structural types dirhenium(III) complex compounds [4] and cisplatin with adenine-thymine (AT)-rich and guanine-cytosine (GC)-rich (conditionally) oligonucleotides, consisting of twenty mononucleotides. The need for such a study lies in the previously demonstrated efficacy of the Rhenium-Platinum antineoplastic system, which administration to tumor-bearing rats resulted in the almost complete disappearance of the neoplasm [5] and on Jurkat cells [6]. Neighboring nucleic acid base pairs, dGpG (65%) and dApG (25%), are known to be the primary targets of cisplatin and predominantly cause its anticancer activity [7-9].

The purpose of the study was to compare the binding activity of cisplatin and dirhenium(III) complex compounds with oligonucleotides to possibly explain the synergistic or additive effect of these compounds on the cancer cell DNA. It is also an important task to establish

a correlation between the structure of rhenium coordination compounds and their ability to interact with certain DNA sequences, which may elucidate the fields of controlled novel anticancer drugs synthesis.

Object and methods. The following compounds served the material under study: cisplatin (Sigma-Aldrich, USA), (cisPt), cis-Pt(NH₃)₂Cl₂ (1); dichlorotetra-μ-isobutyratodirhenium(III), (Re_{tetra-isob}), Re₂(i-C₃H₇COO)₄Cl₂ (2); bis-dimethylsulfoxide-cis-tetrachlorodi-μ-isobutyratodirhenium(III), (Re_{cis-isob}), cis-Re₂(i-C₃H₇COO)₂Cl₄(DMCO)₂ (3); trans-tetrachlorodi-μ-isobutyratodirhenium(III), (Re_{trans-isob}), trans-Re₂(i-C₃H₇COO)₂Cl₄ (4); bis- dimethylsulfoxide-cis-tetrachlorodi-μ-pivalatodirhenium(III), (Re_{cis-piv}), cis-Re₂((CH₃)₃CCOO)₂Cl₄(DMCO)₂ (5); trans-tetrachlorodi-μ-pivalatodirhenium(III), (Re_{trans-piv}), trans-Re₂((CH₃)₃CCOO)₂Cl₄ (6); bis-dimethylsulfoxide-cis-tetrachlorodi-μ-adamantylcarboxylatodirhenium(III), (Re_{cis-adam}), cis-Re₂(C₁₀H₁₅COO)₂Cl₄(DMCO)₂ (7); trans-tetrachlorodi-μ-adamantylcarboxylatodirhenium(III), (Re_{trans-adam}), trans-Re₂(C₁₀H₁₅COO)₂Cl₄ (8); cis-hexachlorodi-μ-3-aminopropanoatodirhenium(III), (Re_{cis-β-Ala}), cis-[Re₂{β-AlaH}₂Cl₆] (9); cis-aquapentachlorodi-μ-4-aminobutanoatodirhenium(III) chloride, (Re_{cis-GABA}), cis-[Re₂(GABA)₂Cl₅(H₂O)]Cl (10); potassium diaquotetra-μ-hydrogenphosphatodirhenate(III), (Re_{tetra-phosp}), K₂[Re₂(HPO₄)₄(H₂O)₂] (11).