

## მიოფიბრილების ასაკობრივი ცლილებები სხვადასხვა ასაკის თეთრ ლაბორატორიულ ვირთაგვებში

ნიკოლოზ ვაჩაძე<sup>1</sup>, რამაზ ხეცურიანი<sup>2</sup>, მანანა არაბული-ჭლიკაძე<sup>3</sup>, სოფიკო კანდელაკი<sup>4</sup>,  
ნატალია ქეთრინ ჰარგრივს<sup>5</sup>

<sup>1</sup>ანატომიის დეპარტამენტი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, <sup>2</sup>ადამიანის ანატომიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, <sup>3</sup>ადამიანის ანატომიის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო. <sup>4</sup>ადამიანის ანატომიის დეპარტამენტის ასოცირებული პროფესორი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო, <sup>5</sup>ადამიანის ანატომიის დეპარტამენტი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

### აბსტრაქტი

14 თვის და უფრო ხანდაზმული ექსპერიმენტული თეთრი ვირთაგვების გულის იზოლირებული პრეპარატების შესწავლა ცხადჰყოფს, რომ ხანდაზმული ასაკის ვირთაგვებში კარდიომიოციტების სიგრძივი ორიენტაცია იცვლება კუთხური ორიენტაციით. ასევე გასათვალისწინებელია ის ფაქტიც, რომ ასაკის მატებასთან ერთად იკლებს როგორც კარდიომიოციტების, ისე მიოციტში მიოფიბრილების რაოდენობა. გულის ისეთი პათოლოგიების აღმოცენება, როგორებიცაა გულის უკმარისობა დაქვეითებული განდევნის ფრაქციით, შეკუმშვის ძალისა და რითმის დარღვევები, შესაძლოა დიდწილად რეალიზდებოდნენ სწორედ უჯრედშიდა სტრუქტურების, კერძოდ მიოფიბრილების დონეზე. საინტერესოა მიოფიბრილებთან ერთად მიოციტის ციტოპლაზმის პროცენტული შემადგენლობის კვლევა ასაკობრივ ჭრილში, რაც კვლევას ხდის მეტად ვალიდურს და სახავს სამომავლო პერსპექტივას მისი გაგრძელებისთვის.

**საკვანძო სიტყვები:** ვირთაგვა, გული, პარკუჭი, მიოფიბრილა, კარდიომიოციტი

### შესავალი

კარდიომიოციტების ნორმალურ ფუნქციონირებაში შეკუმშვა მოდუნების ციკლის რეგულირებასა და მიოკარდიუმის ადაპტაციური შესაძლებლობების რეალიზებაში ერთ-ერთი წამყვანი ადგილი უჭირავს მიოფიბრილების რაოდენობასა და სტრუქტურულ

სრულფასოვნებას(1-5). ჩვენ მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტული კვლევის მიზანს წარმოადგენდა მიოფიბრილების რაოდენობრივი და მორფოლოგიური თავისებურებების აღწერა ორი ასაკობრივი ჯგუფის ვირთაგვებში და მიღებული შედეგების მორფო-ფუნქციური ანალიზი. ექსპერიმენტული თეთრი ვირთაგვების ორ ასაკობრივ ჯგუფში (საშუალო - 8-14; ხანდაზმული - 14 თვე და მეტი. თითოეულ ჯგუფში ვირთაგვების რაოდენობა შეადგენდა ექვსს) ჰისტოლოგიური შეღებვის სხვადასხვა მეთოდების გამოყენებით შესწავლილ იქნა გულის იზოლირებული პრეპარატები. მიღებული შედეგები აჩვენებს, რომ საშუალო ასაკის ვირთაგვებთან შედარებით, ხანდაზმულ ვირთაგვებში ადგილი აქვს მიოფიბრილების დეგენერაციული ცვლილებების განვითარებას(6-12), რაც გამოიხატება სტრუქტურულ არასრულფასოვნებასა და რაოდენობრივ შემცირებაში. (ასაკის მატებასთან ერთად გამოვლენილი, უჯრედშიდა დონეზე განვითარებული დეგენერაციული ცვლილებები გულის ფუნქციური უკმარისობის ჩამოყალიბების და ადაპტაციური შესაძლებლობების ამოწურვის მნიშვნელოვან მორფოლოგიურ საფუძვლად შეიძლება ჩაითვალოს.(13-15)

### **მასალა და მეთოდები**

საკვლევ მასალად შევარჩიეთ ექსპერიმენტული თეთრი ვირთაგვები. მოხდა ვირთაგვების კლასიფიცირება ასაკობრივი ნიშნით, ისინი გადანაწილდნენ ორ ჯგუფში: საშუალო ასაკი (8-14 თვე) და ხანდაზმული (14 თვე და ზევით). თითოეულ ჯგუფში ვირთაგვების რაოდენობა შეადგენდა ექვსს (6). ანესთეზიის საერთაშორისო პროტოკოლის დაცვით განხორციელდა ვირთაგვების დაძინება, გაკვეთა და მათგან გულის აღება შემდგომი კვლევებისთვის. გულის მაკროპრეპარატიდან აღებული იქნა ქსოვილოვანი ნიმუშები (ცალ-ცალკე პარკუჭებიდან და წინაგულებიდან), აღნიშნული ქსოვილოვანი ნიმუშები მოთავსდა 4%-იან ფორმალინის ხსნარში, შემდეგ მოხდა მათი ჩაყალიბება პარაფინში, შეიღება ჰემატოქსილინ-ეოზინით და შესწავლილი იქნა ჰისტოლოგიურად სინათლის მიკროსკოპის გამოყენებით.

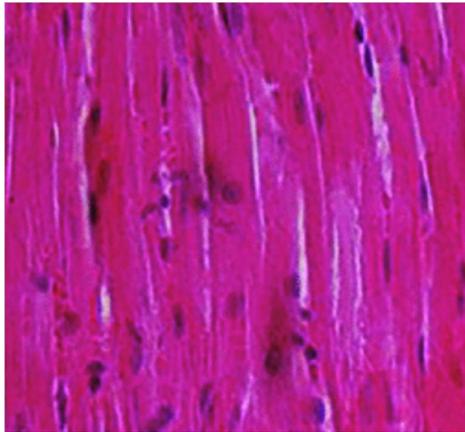
### **სტატისტიკური ანალიზი**

მონაცემები დამუშავებული იქნა სპეციალური კომპიუტერული პროგრამების გამოყენებით. კვლევაში მონაწილე ორივე ჯგუფისთვის ცალ-ცალკე დამუშავდა პარამეტრები და შემდეგ მოხდა შედეგების შედარება სტიუდენტის t ტესტის გამოყენებით.

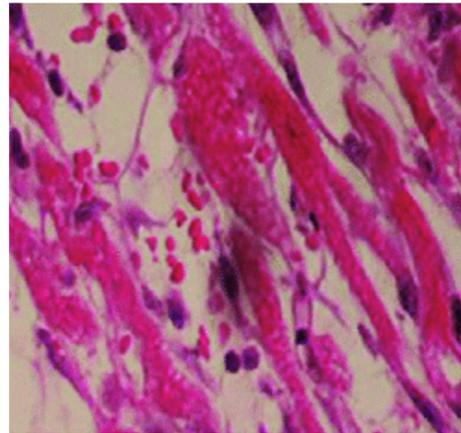
### **შედეგები**

შესწავლილ ჰისტოლოგიურ პრეპარატებზე ნათლად ჩანს, რომ საშუალო ასაკის ვირთაგვების მიოკარდიუმის ქსოვილში მიოციტების რეგიონალური ორიენტაცია უპირატესად ურთიერთპარალელურია(17-21), თუმცა წინაგულების მიოკარდიუმის ზოგიერთ უბანში შეინიშნება ერთმანეთის მიმართ გარკვეული კუთხით განლაგებული უჯრედები (სურ.1,2) ამავდროულად საყურადღებოა ის ფაქტიც რომ, საშუალო ასაკის ვირთაგვას პარკუჭების კარდიომიოციტებშიც მიოფიბრილებს ახასიათებთ სიგრძივი, ურთიერთპარალელური ლოკალიზაცია, ისინი კარგად არიან გამოხატულნი და ციტოპლაზმის მასის მნიშვნელოვან

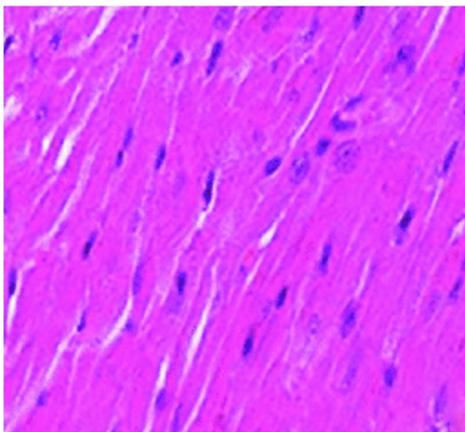
ნაწილს შეადგენენ (სურ.3,4). რაც შეეხება ხანდაზმული ასაკის ვირთაგვებს, იცვლება როგორც კარდიომიოციტების, ისე უჯრედშიდა მიოფიბრილების ორიენტაცია და რაოდენობა. ხანდაზმული ასაკის ვირთაგვების შემთხვევაში, მიოციტების ცვეთის პარალელურად შეინიშნება მათი სიგრძივი ორიენტაციის დარღვევა და ისინი ერთმანეთის მიმართ კუთხურ ორიენტაციას ავლენენ, ზოგიერთ პრეპარატზე გამოვლინდა მიოციტების ტალღისებრი დაკლაკნილობის უბნები, რაც სავარაუდოდ მემბრანის გამობერილობებს წარმოადგენს მიოფიბრილებისაგან თავისუფალ უბნებში. ასევე ყურადღებას იქცევს მიოფიბრილების რაოდენობის თითქმის განახევრება (საშუალო ასაკის ანალოგიურ პრეპარატებთან შედარებით), რაც აისახება ფუნქციური რესურსების და ადაპტაციური შესაძლებლობების რეგრესში, როგორც ინდივიდუალური კარდიომიოციტის, ისე მთლიანად გულის, როგორც ორგანოს დონეზე. აღნიშნული კვლევის შემდგომი გაღრმავება მიგვიყვანს შედეგებამდე, რომლებიც დაგვეხმარებიან მიოკარდიუმის ასაკდამოკიდებული დეგენერაციული და ფუნქციური ძვრების აღმოცენების მოლეკულური საფუძვლების გარკვევაში და გარკვეულ წარმოდგენას შეგვიქმნიან გერიატრიულ პაციენტთა კარდიოლოგიური გართულებების პრევენციის თაობაზე.



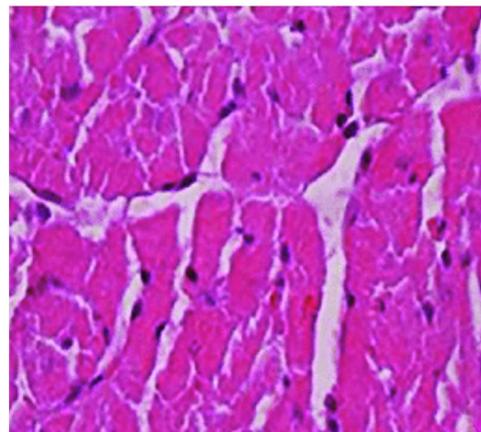
სურათი 1



სურათი 2



სურათი 3



სურათი 4

## შედეგების განხილვა:

- საშუალო ასაკის ვირთაგვებში კარდიომიოციტები განლაგებული არიან სიგრძივად, ერთმანეთის გასწვრივი ღერძის პარალელურად
- ხანდაზმული ასაკის ვირთაგვებში კარდიომიოციტების სიგრძივი ორიენტაცია იცვლება კუთხური ორიენტაციით
- ასაკის მატებასთან ერთად იკლებს როგორც კარდიომიოციტების, ისე მიოციტში მიოფიბრილების რაოდენობა
- მიოფიბრილების ასაკდამოკიდებული ცვლილებები საფუძვლად უდევს კარდიოლოგიური პათოლოგიების და დისფუნქციების ფორმირებას.
- კვლევა წინ გადადგმულ ნაბიჯად შეიძლება ჩაითვალოს გერიატრიული კარდიოლოგიის სხვადასხვა პრობლემის გადაჭრის გზაზე, როგორც პათოგენეზური, ისე პრევენციული კუთხით.

## გამოყენებული ლიტერატურა

- 1) Barry, S. P., Davidson, S. M. & Townsend, P. A. Molecular regulation of cardiac hypertrophy. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 40, 2023–2039 (2008). Zhou Q, Li L,
- 2) Zhao B, Guan KL. The hippo pathway in heart development, regeneration, and diseases. *Circ Res.* 2015;116:1431–1447.
- 3) Yoshida M, et al. Weaving hypothesis of cardiomyocyte sarcomeres: discovery of periodic broadening and narrowing of intercalated disk during volume-load change. *Am J Pathol.* 2010;176:660–678.
- 4) Nepomnyashchy L. M. Morphogenesis of the major all-pathological processes in heart / L. M. Nepomnyashchy. — Novosibirsk : Science, 1991. — 349 p
- 5) Schmidt RE, Dorsey DA, Beaudet LN, et al. Experimental Rat Model: 10.1093/jnen/63.5.450
- 6) Ahmed HM, Blaha MJ, Nasir K, Rivera JJ, Blumenthal RS. Effects of physical activity on cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* 2012;109:288–295.
- 7) Andersson DC, Fauconnier J, Yamada T, Lacampagne A, Zhang SJ, Katz A, Westerblad H. Mitochondrial production of reactive oxygen species contributes to the beta-adrenergic stimulation of mouse cardiomyocytes. *J Physiol.* 2011;589:1791
- 8) Beer M, Seyfarth T, Sandstede J, Landschutz W, Lipke C, Kostler H, von Kienlin M, Harre K, Hahn D, Neubauer S. Absolute concentrations of high-energy phosphate metabolites in normal, hypertrophied, and failing human myocardium measured noninvasively with (31)P-SLOOP magnetic resonance spectroscopy. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:1267–1274.

- 9) Capasso JM, Strobeck JE, Sonnenblick EH: Myocardial mechanical alterations during gradual onset of long-term hypertension in rats. *Am J Physiol* 1981;241:H435-H441
- 10) Julian FJ, Morgan DL, Moss RL, Gonzales M, Dwivedi P: Myocyte growth without physiological impairment in gradually induced rat cardiac hypertrophy. *Circ Res* 1981; 49:1300
- 11) Meerson FZ, Javich MP, Lerman MI: Decrease in the rate of RNA and protein synthesis and degradation in the myocardium under long-term compensatory hyperfunction and on aging. *J Mol Cell Cardiol* 1978;10:145-149
- 12) Waterlow JC, Garlick PJ, Millward DJ: Protein Turnover in Mammalian Tissues and in the Whole Body. North-Holland, Amsterdam/New York/Oxford, 1978
- 13) Ram R, Mickelsen DM, Theodoropoulos C, Blaxall BC. New approaches in small animal echocardiography: imaging the sounds of silence. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;301: H1765–80
- 14) Stuckey DJ, Carr CA, Tyler DJ, Clarke K. Cine-MRI versus two-dimensional echocardiography to measure in vivo left ventricular function in rat heart. *NMR Biomed*. 2008;21:765
- 15) Hanft LM, Greaser ML, McDonald KS. Titin-mediated control of cardiac myofibrillar function. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2014;552–553
- 16) Herron TJ, Korte FS, McDonald KS. Power output is increased after phosphorylation of myofibrillar proteins in rat skinned cardiac myocytes. *Circulation Research*. 2001;89:1184
- 17) Korte FS, McDonald KS. Sarcomere length dependence of rat skinned cardiac myocyte mechanical properties: dependence on myosin heavy chain. *Journal of Physiology*. 2007;581
- 18) Mun JY, Gulick J, Robbins J, Woodhead J, Lehman W, Craig R. Electron microscopy and 3D reconstruction of F-actin decorated with cardiac myosin-binding C (cMyBP-C) *Journal of Molecular Biology*. 2011;410:214
- 19) Previs MJ, Beck Previs S, Gulick J, Robbins J, Warshaw DM. Molecular mechanics of cardiac myosin-binding protein C in native thick filaments. *Science*. 2012;337
- 20) Regnier M, Martin H, Barsotti RJ, Rivera AJ, Martyn DA, Clemmons E. Cross-bridge versus thin filament contributions to the level and rate of force development in cardiac muscle. *Biophysical Journal*. 2004;87:1815
- 21) Korte FS, Herron TJ, Rovetto MJ, McDonald KS. Power output is linearly related to MyHC content in rat myocytes and isolated working hearts. *American Journal of Physiology*. 2005;289:H80

## Age-related changes of myofibrils in white laboratory rats of different ages

Nikoloz Vachadze<sup>1</sup>, Ramaz Khetsuriani<sup>2</sup>, Manana Arabuli-Tchlikadze<sup>3</sup>, Sophiko Kandelaki<sup>4</sup>, Natalia Catherine Hargreaves<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Human Anatomy, TSMU, Tbilisi, Georgia, <sup>2</sup>Head of the Department of Human Anatomy, TSMU, Tbilisi, Georgia, <sup>3</sup>Associate professor of the Department of Human Anatomy, TSMU, Tbilisi, Georgia, <sup>4</sup>Associate professor of the Department of Human Anatomy, TSMU, Tbilisi, Georgia, <sup>5</sup>Department of Human Anatomy, TSMU, Tbilisi, Georgia

### Abstract

The study of isolated preparations of experimental white rats of 14 months and older reveals that the longitudinal orientation of cardiomyocytes is replaced by an angular orientation in older mice. The number and structural integrity of myofibrils occupy one of the leading places in the regulation of the contraction-relaxation cycle and the implementation of the adaptive capabilities of the myocardium in the normal functioning of cardiomyocytes. Our experimental studies aim at describing the quantitative and morphological characteristics of myofibrils in rats of two age groups and analyzing the morphological and functional results. Isolated heart preparations were examined in two age groups of white rats (middle - 8-14 years; elderly - 14 months and more. The number of rats in each group amounted to six) using different histological staining methods. The results obtained show that, compared with middle-aged rats, the development of degenerative changes in myofibrils is observed in old rats, which is manifested in structural inferiority and quantitative reduction. Degenerative changes revealed with age at the intracellular level can be considered an important morphological basis for the formation of functional heart failure and the depletion of adaptive capabilities.

**Keywords:** *rat, heart, myofibrils, cardiomyocyte, ventricle*