

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ПЕРЕСТРОЙКА МИОКАРДА НА 60-Е СУТКИ ПОСЛЕ ДОКСОРУБИЦИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ У КРЫС



Е. В. Фёдорова

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Введение. Для оценки кардиотоксических эффектов доксорубицина большое значение имеет выяснение характера и выраженности повреждений тканей и клеток, их ультраструктурных изменений, а также исследование особенностей ремоделирования миокарда в таких условиях.

Цель исследования. Качественный и количественный анализ ультраструктурных изменений миокарда крыс на 60-е сутки после развития доксорубицин-индуцированной кардиомиопатии.

Материал и методы. Кардиомиопатию у крыс индуцировали доксорубицином в кумулятивной дозе 15 мг/кг веса животного в течение 14 дней. Выведение животных из эксперимента осуществлялось на 60-е сутки после введения последней дозы препарата. В работе использован электронно-микроскопический метод исследования. Ультраструктурный анализ проводили с использованием микроскопа JEM-100 CX, морфометрическую оценку – с использованием программы обработки данных «ImageJ».

Результаты. Ультраструктурные изменения миокарда крыс на 60-е сутки после развития доксорубицин-индуцированной кардиомиопатии характеризовались: альтеративными изменениями сократительного аппарата и ядерного компартмента кардиомиоцитов, активацией аутофагической и некротической гибели клеток и компенсаторной гиперплазией митохондрий с дилатацией каналов Т-системы; разнообразием реактивных изменений эндотелия капилляров в виде гипертрофии ядер и гиперплазии органелл в одних эндотелиальных клетках наряду с внутриклеточным отеком и разрушением органелл – в других, что сопровождалось значимым снижением площади поперечного сечения капилляров; активацией фибробластов с формированием интерстициального и периваскулярного фиброза; активацией процессов аутофагии в кардиомиоцитах, клетках фибробластического ряда и эндотелии капилляров.

Выводы. Установленные ультраструктурные изменения в миокарде крыс на 60-е сутки после развития доксорубицин-индуцированной кардиомиопатии указывают на комплексное влияние метаболического и ангиогенного механизмов развития патологии. Активация процессов аутофагии играет важную роль в перестройке миокарда на поздних стадиях доксорубицинового поражения миокарда.

Ключевые слова: доксорубицин-индуцированная кардиомиопатия, ультраструктура, миокард, реорганизация, гибель клеток, аутофагия.

Для цитирования: Фёдорова, Е. В. Ультраструктурная перестройка миокарда на 60-е сутки после доксорубицин-индуцированной кардиомиопатии у крыс / Е. В. Фёдорова // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2021. Т. 19, № 6. С. 668-674. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2021-19-6-668-674>.

Введение

В настоящее время совершенствуются фармакологические возможности лечения онкологических заболеваний и, как следствие, увеличивается продолжительность жизни пациентов на фоне химиотерапии и поддерживающего лечения [1]. При этом доксорубицин (ДОКС) и другие антрациклиновые антибиотики ввиду своей высокой эффективности и финансовой доступности остаются препаратами первого ряда для проведения химиотерапии. Повышение продолжительности жизни онкологических пациентов привело к более широкому изучению долгосрочных побочных эффектов антрациклиновых препаратов со стороны сердечно-сосудистой системы [2].

Наиболее значимое осложнение антрациклиновой терапии злокачественных новообразований – антрациклиновая кардиомиопатия (КМП) [3]. По сравнению с другими формами КМП антрациклин-опосредованная КМП ассоциируется с особенно плохим прогнозом: до 60% пациентов умирают в течение 2 лет после постановки диагноза [4]. Ключевым патогенетическим фактором в развитии антрациклиновой КМП является потеря терминально дифференцированных

кардиомиоцитов (КМЦ) [5]. Однако механизмы гибели сердечных клеток остаются до конца не изученными. Большинство исследований, оценивающих ДОКС-индуцированную гибель КМЦ, проводилось в основном *in vitro* или *in vivo* с временным интервалом в часы или дни после воздействия цитостатика [6, 7]. В то же время данных об изучении повреждения и гибели мышечных клеток в более поздние сроки после развития доксорубицинового поражения миокарда морфологическими методами крайне недостаточно. В большинстве работ КМЦ и их органеллы выделены как основные мишени доксорубицинового повреждения миокарда [8]. Гораздо меньше внимания уделяется изменениям сосудов микроциркуляторного русла сердца. В частности, недооценена роль эндотелиальной дисфункции капилляров, нарушения функции фибробластов в патогенезе доксорубицинового повреждения сердца.

Цель настоящего исследования – качественный и количественный анализ ультраструктурных изменений миокарда крыс на 60-е сутки после развития ДОКС-индуцированной КМП.

Материал и методы

Экспериментальное исследование проведено на беспородных белых крысах-самцах начальной массой 150-180 г. с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными в соответствии с национальными и международными стандартами качества планирования и проведения исследований на животных [9]. В ходе проведения эксперимента были сформированы 2 группы по 10 половозрелых особей в каждой: контрольная и опытная. В опытной группе моделировали КМП путем дробного внутривенного введения ДОКС гидрохлорида («Белмедпрепараты», РБ) в кумулятивной дозе 15 мг/кг, разделенной на 6 инъекций (по 2,5 мг/кг) в течение 14 дней [10]. Верификацию ДОКС-индуцированной КМП осуществляли по данным массометрического анализа, развитию признаков застойной сердечной недостаточности (гидроторакса, геморрагического асцита, застойной печени). Животным контрольной группы одновременно с подопытными животными вводился физиологический раствор в дозе, соответствующей их массе тела. Выведение животных из эксперимента осуществлялось под эфирным наркозом на 60-е сутки после введения последней дозы препарата.

Образцами для исследования служил миокард левого желудочка экспериментальных животных. В работе использован электронно-микроскопический метод исследования [11]. Срезы готовили на ультрамикротоме LKB-8800 (Швеция) и просматривали в электронном микроскопе JEM-100 CX (Jeol, Япония). Морфометрический анализ электронограмм осуществлялся с использованием программ обработки данных «ImageJ» (США). Оценивали количество митохондриальных профилей на срезах, среднюю площадь одной митохондрии на срезе (мкм^2), соотношения общих площадей сечений митохондрий и миофибрилл на срезе к общей площади КМЦ, которые определяют объемную долю митохондрий и миофибрилл в объеме КМЦ (%), количество межмитохондриальных контактов (ММК) на 100 митохондрий, площадь поперечного сечения капилляров миокарда (мкм^2). Выполнен расчет показателя энергетической обеспеченности КМЦ, равный отношению объемной доли митохондрий к объемной доле миофибрилл. Полученные результаты обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Достоверными считали различия между контрольной и опытной группами при значениях $p < 0,05$ (Mann-Whitney U-test). Данные представлены в виде $Me [Q1; Q3]$, где Me – медиана, $Q1$ – первый квартиль или 25-й процентиль, $Q3$ – третий квартиль или 75-й процентиль.

Результаты и обсуждение

Ультраструктура миокарда крыс контрольной группы соответствовала таковой у мелких грызунов: миофибрилярные пучки располагались параллельными рядами вдоль длинной оси КМЦ, между ними находились плотно упакованные митохондрии, а также небольшие везикулы агранулярной саркоплазматической сети и трубочки Т-системы на уровне Z-дисков. Ядра КМЦ были продолговатой формы, содержали преимущественно эухроматин, одно-два ядрышка нуклеолономного строения. В околоядерном пространстве выявлялись компоненты комплекса Гольджи, а также короткие трубочки эндоплазматического ретикулума. Многочисленные митохондрии в саркоплазме КМЦ соединялись между собой посредством хорошо выраженных ММК (рис. 1). Известно, что ММК осуществляют передачу энергии в форме электрического потенциала по мембранам объединенных митохондрий, благодаря чему возможно быстрое распространение энергии в клетке [8].

Микроциркуляторное русло миокарда контрольных крыс на электронно-микроскопическом уровне было представлено в основном капиллярами с непрерывной эндотелиальной выстилкой и сплошной хорошо выраженной базальной мембраной. Строма миокарда образована тонкими пучками коллагеновых волокон. Среди клеточных элементов соединительной ткани преобладали неактивные фибробласты, тесно прилегающие к сарколемме КМЦ.

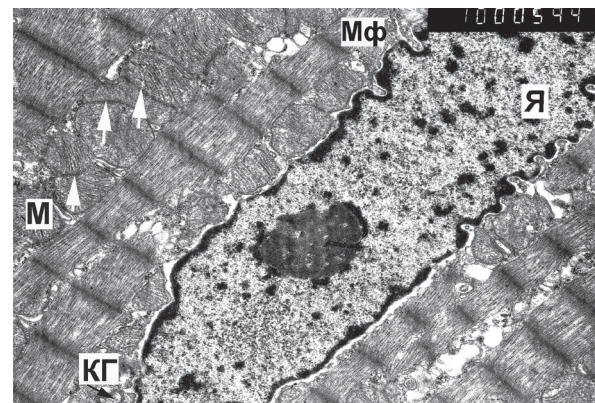


Рисунок 1. – Субмикроскопическая организация кардиомиоцита миокарда крысы контрольной группы. М – митохондрии; Мф – миофибриллы; Я – ядро; КГ – комплекс Гольджи; межмитохондриальные контакты указаны стрелками. Электронограмма, $\times 10000$

Figure 1. – Submicroscopic organization of rat myocardial cardiomyocyte of control group. M – mitochondria; Mf – myofibrils; N – nucleus; GA – Golgi apparatus; intermitochondrial contacts are indicated by arrows. Electronogramma, $\times 10000$

Электронно-микроскопический анализ миокарда левого желудочка крыс с ДОКС-индуцированной КМП на 60-е сутки эксперимента во всех случаях выявил перестройку структурных компонентов сердечной мышцы, сопровождающихся альтеративными и компенсаторно-приспособительными процессами в КМЦ, сосудах микроциркуляторного русла и интерстиции. В 90% (9/10) наблюдений ядра КМЦ были уменьшены в размерах, имели неправильную форму с множеством инвагинаций и выростов ядерной мембраны. Во всех анализируемых случаях (100%, 10/10) хроматин конденсировался, определялся хорошо выраженный слой осмио-

фильного хроматина возле внутреннего листка ядерной оболочки с крупными глыбками гетерохроматина в центре ядра. В перинуклеарной зоне визуализировались скопления митохондрий и вторичных лизосом. В 50% (5/10) случаев обнаружены ядра с признаками кариорексиса (рис. 2). В большинстве ядер (60%, 6/10) выявлялись ядрышки с фрагментацией нуклеолонемы, фрагменты которой имели плотное фибриллярное строение.

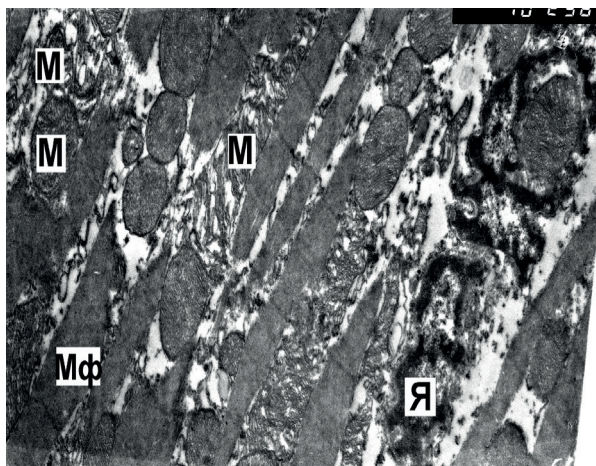


Рисунок 2. – Диффузное истончение миофибрилл и кариорексис ядра в кардиомиоците миокарда опытной крысы на 60-е сутки эксперимента. М – митохондрии; Мф – миофибриллы; Я – ядро. Электронограмма, $\times 10000$

Figure 2. – Diffuse thinning of myofibrils and karyorrhexis of the nucleus in the cardiomyocyte of the myocardium of an experimental rat on the 60th day of the experiment. M – mitochondries; Mf – myofibrils; N – nucleus. Electronogramma, $\times 10000$

На 60-е сутки в опытной группе крыс отмечалось снижение общего объема сократительного аппарата вследствие диффузного истончения и разволокнения миофибрилл вплоть до образования очагов миоцитолита (рис. 2). В большей степени были лизированы I-полосы, незначительной деструкции подвергались саркомеры в области вставочных дисков. В 60% (6/10) случаев в КМЦ выявлены контрактурные повреждения миофибрилл в виде усиления анизотропии и укорочения I-дисков. В ряде мышечных клеток (40%, 4/10) отмечалось нарушение упорядоченного расположения миофибрилл и дезориентация пучков миофиламентов внутри саркомеров, что свидетельствовало о нарушении архитектоники миокарда.

Субмикроскопический анализ показал, что структура большинства митохондрий (7/10, 70%) претерпевала незначительные изменения. Органеллы имели округлую форму, плотный темный матрикс, сохраненные митохондриальные мембраны и неравномерно расширенные кристы. Локализовались митохондрии в основном цепочками в межфибрилярном пространстве либо образовывали гроздевидные скопления между миофибриллами и вокруг ядра. В 30%

(3/10) наблюдений визуализировались ультраструктурные изменения митохондрий умеренной степени выраженности. В измененных органеллах матрикс просветлялся, происходила диффузная или локальная деструкция крист вплоть до полного разрушения всех крист с гомогенизацией содержимого органелл. В матриксе отдельных митохондрий выявлялись включения в виде замкнутых полостей, ограниченных электронно-плотными мембранами. Часть органелл была трансформирована в аутофагические тельца в виде миелиноподобных структур.

К 60-м суткам эксперимента во всех исследуемых случаях (100%, 10/10) в КМЦ миокарда наблюдались выраженные изменения саркоплазматической сети в виде гиперплазии и дилатации канальцев, что указывало на нарушения внутриклеточного транспорта метаболизируемых продуктов, которые накапливались в расширенных канальцах и цистернах сети. В отдельных мышечных клетках визуализировались расширения трубочек и каналов T-системы. В 80% (8/10) наблюдений в ряде сердечных миоцитов отмечалась высокая интенсивность протекания катаболических процессов, что проявлялось избыточным накоплением лизосом, аутофагосом, липофусциновых телец и ламеллярных образований в их саркоплазме. В подсарколеммальных пространствах КМЦ обнаруживались огромные миелиноподобные структуры, представляющие собой обособленные участки саркоплазмы, состоящие из электронно-плотного слоистого вещества (рис. 3). В 30% (3/10) случаев выявлялись разрыхление, деформация и фраг-

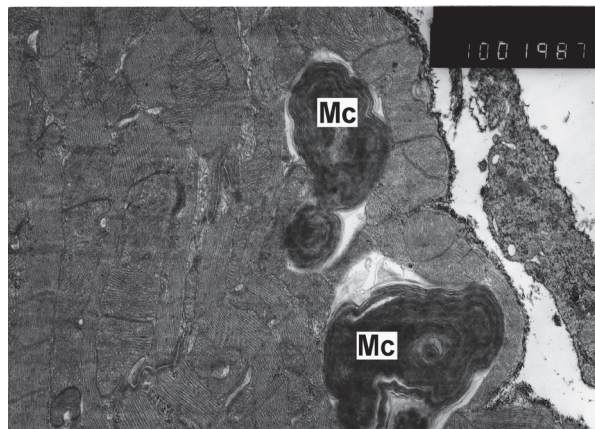


Рисунок 3. – Очаговая дегградация саркоплазмы кардиомиоцита миокарда путем аутофагии у крысы опытной группы. Mc – миелиноподобная структура. Электронограмма, $\times 10000$

Figure 3. – Focal degradation of sarcoplasm of myocardial cardiomyocyte by autophagy in an experimental rat. Ms – myelin-like structure. Electronogramma, $\times 10000$

ментация сарколеммы с последующим выходом фрагментов мембран и продуктов диссоциации органелл КМЦ в межклеточное и перикапиллярное пространства. В некоторых мышечных клетках (70%, 7/10) при сохранении целостности сарколеммы отмечалась выраженная гофрированность и отечность субсарколеммального про-

странства, при этом периферический отек саркоплазмы КМЦ сочетался с лизисом митохондрий и миофибрилл.

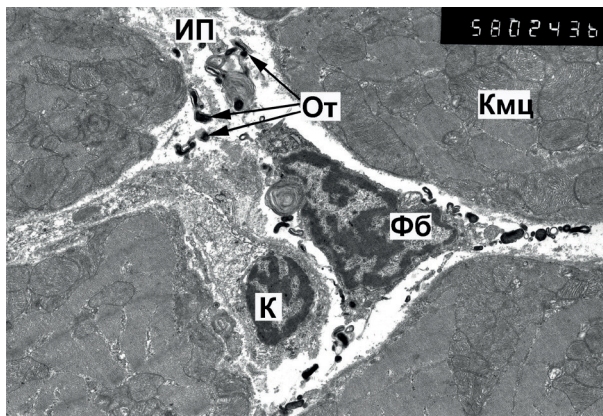


Рисунок 4. – Разрушение фибробласта в интерстиции миокарда опытной крысы на 60-е сутки эксперимента. КМЦ – кардиомиоцит; ИП – интерстициальное пространство; К – капилляр; От – остаточное тельце;

Фб – фибробласт. Электронограмма, $\times 5800$

Figure 4. – Damage of fibroblast in the myocardial interstitium of an experimental rat on the 60th day of the experiment. Cmc – cardiomyocyte; IS – interstitial space; C – capillary; Rb – residual body; Fb – fibroblast. Electronogram, $\times 5800$

Цитоплазма эндотелиоцитов была электронно-прозрачна и просветлена за счет отека и разрушения внутриклеточных органелл. В некоторых клетках визуализировались ламеллярные структуры, что свидетельствовало об аутофагических процессах. Количество микропиноцитозных везикул в эндотелиоцитах разных капилляров существенно варьировало, причем в капиллярах закрытого типа их число было меньше. Эндотелиальные клетки в 60% случаев (6/10) характеризовались повышенным образованием цитоплазматических отростков и инвагинаций плазмолеммы, вдающихся далеко в просвет микрососудов. Отмечалось истончение сосудистой стенки ряда капилляров. В последних был выражен микроклатоз (90%, 9/10) за счет суживания в просвете микроворсинок, фрагментов сосудистой стенки, которые вместе с разрушенными элементами крови заполняли просвет сосудов, выключая их из кровотока. Базальная мембрана кровеносных капилляров была разрыхлена, имела диффузно расположенные участки деструкции (60%, 6/10). Встречались как зоны истончения, так и участки ее утолщения. Перикапиллярное пространство резко просветлялось, в нем обнаруживались миелоноподобные и остаточные тела (рис. 4). Встречались микрососуды, в просвете которых наблюдался сладж эритроцитов (60%, 6/10). Иногда визуализировались лизированные эритроциты, когда сохранялись лишь их контуры в виде петель. Одновременно выявлялись микрососуды, в просвете которых обнаруживались лимфоциты.

На 60-е сутки после моделирования доксорубициновой КМП наблюдались изменения и интерстициального пространства миокарда. Дезорганизация соединительной ткани харак-

теризовалась отеком основного вещества в результате прогрессирования эндотелиальной дисфункции на фоне токсического действия ДОКС. Наряду с деградацией внеклеточного матрикса миокарда происходил рост коллагеновой сети, приводящий к развитию интерстициального и периваскулярного фиброза. Клеточные элементы интерстициальной ткани были представлены в основном дифференцированными зрелыми фибробластами, активно синтезирующими коллаген. Указанные клетки отличались крупными размерами, имели вытянутые овальные ядра с большими ядрышками. В цитоплазме визуализировались расширенные компоненты гранулярной эндоплазматической сети, местами сильно дилатированные, с образованием лакун. Выявлялся хорошо выраженный комплекс Гольджи с множеством везикулярных структур. Наряду с функционально активными фибробластами в отдельных полях зрения встречались клетки фибробластического ряда с выраженными деструктивными изменениями, часть из которых подвергалась распаду (рис. 4). Данные клетки содержали большое количество фагосом и фрагментов дегенерирующих органелл в виде ламеллярных телец, что свидетельствовало об активации лизосомального внутриклеточного аппарата в ответ на токсическое действие ДОКС. Митохондрии увеличивались в размерах и набухали, их матрикс становился электронно-прозрачным. В периферических участках клеток наблюдался отрыв фрагментов цитоплазмы с внутриклеточным содержанием в окружающее пространство. При этом в интерстиции выявлялись многочисленные скопления ламеллярных структур разрушенных органелл и электронно-плотных остаточных телец. В межклеточных пространствах и вблизи сосудов определялись также единичные лимфоциты.

Морфометрический анализ ультраструктурных изменений миокарда крыс на 60-е сутки после развития ДОКС-индуцированной КМП показал достоверное снижение ($p < 0,01$) объемной доли миофибрилл в клетках миокарда (33,53 [27,36; 42,09]% против 51,71 [47,35; 54,94]% в контроле). Относительная разность выборочных медиан при этом составила 35,2%.

Объемная доля митохондрий в КМЦ составила 33,13 [26,29; 40,01%], что статистически не отличалось от контрольных значений (36,02 [32,35; 40,12]%) ($p > 0,05$). Отношение объемной доли митохондрий к объемной доле миофибрилл в опытной группе (1,04 [0,76; 1,36]) было на 46,5% достоверно выше контрольных показателей (0,71 [0,60; 0,82]) ($p < 0,01$), что свидетельствовало о повышенной энергетической обеспеченности сократительного миокарда. Медиана площади митохондрий по сравнению с контролем значительно уменьшилась (на 35%), что составило 0,39 [0,35; 0,44] μm^2 (в контрольной группе – 0,6 [0,54; 0,65] μm^2) ($p < 0,01$). Одновременно наблюдалось достоверное повышение (на 22,6%) количества митохондриальных профилей (38 [33; 43], в контрольной группе – 31 [28; 34]) ($p < 0,01$) и на 6,9% количества ММК (38,5

[32; 46], в контрольной группе – 36 [34; 41]), но без статистически значимых различий ($p > 0,05$). Ультраструктурная реорганизация сосудов микроциркуляторного русла миокарда в исследуемой группе грызунов характеризовалась сужением их просвета, что находило отражение в значимом снижении площади поперечного сечения капилляров миокарда на 4,84 мкм² (5,3 [1,59; 10,05] мкм²) по сравнению с группой контроля (10,14 [8,27; 12,99] мкм²) ($p < 0,05$).

Следовательно, на 60-е сутки после развития ДОКС-индуцированной КМП в миокарде грызунов развивались альтеративные и компенсаторно-приспособительные процессы как на внутриклеточном, так и на внеклеточном уровнях. Поражения КМЦ характеризовались повреждением ядерного компартмента с увеличением количества ядер в состоянии кариорексиса и доли фрагментированных ядрышек и сократительного аппарата вплоть до образования очагов миоцитолита, что сопровождалось достоверным снижением объемной доли миофибрилл в клетках. Необратимые изменения ряда мышечных клеток сопровождалось разрывом сарколеммы с разрушением мембран внутриклеточных органелл и признаками некротической и аутофагической гибели клеток. С другой стороны, статистически значимое увеличение показателя энергетической обеспеченности КМЦ в опытной группе крыс наряду с достоверным увеличением количества митохондриальных профилей и ММК на срезах указывало на компенсаторную внутриклеточную регенерацию КМЦ. Дилатация каналов Т-системы ряда КМЦ также стало компенсаторным изменением, необходимым для обеспечения оптимального соотношения между объемом миоцита и площадью поверхности КМЦ.

Реорганизация сосудов микроциркуляторного русла миокарда характеризовалась ультра-

структурными изменениями капилляров со значимым снижением площади их поперечного сечения вследствие, с одной стороны, гиперплазии органелл и гипертрофии ядер эндотелиоцитов, с другой стороны – отека, разрушения эндотелиальных клеток и нарастания аутофагических и преднекротических процессов. Нарушение проницаемости стенки капилляров приводило к развитию интерстициального отека, а в сочетании с альтерацией эндотелиоцитов – к развитию метаболических нарушений в КМЦ. Наряду с деградацией внеклеточного матрикса миокарда происходил рост коллагеновой сети, приводящий к развитию интерстициального и периваскулярного фиброза.

Выводы

Поражения миокарда крыс на 60-е сутки после развития ДОКС-индуцированной КМП характеризовались:

1) альтеративными изменениями сократительного аппарата и ядерного компартмента КМЦ, активацией аутофагической и некротической гибели клеток и компенсаторной гиперплазией митохондрий с дилатацией каналов Т-системы;

2) разнообразием реактивных изменений эндотелия капилляров в виде гипертрофии ядер и гиперплазии органелл в одних эндотелиальных клетках наряду с внутриклеточным отеком и разрушением органелл в других, что сопровождалось значимым снижением площади поперечного сечения капилляров;

3) активацией фибробластов с формированием интерстициального и периваскулярного фиброза;

4) активацией процессов аутофагии в КМЦ, клетках фибробластического ряда и эндотелии капилляров.

Литература

1. Clinical Cancer Advances 2020: Annual Report on Progress against Cancer from the American Society of Clinical Oncology / M. J. Markham [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2020. – Vol. 38, № 10. – P. 1081-1101. – doi: 10.1200/JCO.19.03141.
2. Kalyanaraman, B. Teaching the basics of the mechanism of doxorubicin-induced cardiotoxicity: Have we been barking up the wrong tree? / B. Kalyanaraman // Redox biology. – 2020. – Vol. 29. – Art. 101394. – doi: 10.1016/j.redox.2019.101394.
3. Anthracycline-induced cardiomyopathy: cellular and molecular mechanisms / K. Dadson [et al.] // Clinical Science. – 2020. – Vol. 134, № 13. – P. 1859-1885. – doi: 10.1042/CS20190653.
4. Underlying causes and long-term survival in patients with initially unexplained cardiomyopathy / G. M. Felker [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2000. – Vol. 342, № 15. – P. 1077-1084. – doi: 10.1056/NEJM200004133421502.
5. Molecular mechanisms of cardiomyocyte death in drug-induced cardiotoxicity / W. Ma [et al.] // Front. Cell Dev. Biol. – 2020. – Vol. 8. – Art. 434. – doi: 10.3389/fcell.2020.00434.
6. Dose dependent cardiac effects of doxorubicin in Wistar rats: a biochemical and histopathological analysis / J. A. N.

Sandamali [et al.] // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. – 2019. – Vol. 10, № 6. – P. 2700-2710. – doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.10(6).2700-10.

7. Analysis of models of doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats and mice. A modern view from the perspective of the pathophysiological and the clinician / E. Y. Podyacheva [et al.] // Frontiers in Pharmacology. – 2021. – Vol. 12. – Art. 670479. – doi: 10.3389/fphar.2021.670479.
8. Doxorubicin targets multiple players: a new view of an old problem / D. Cappetta [et al.] // Pharmacol. Res. – 2018. – Vol. 127. – P. 4-14. – doi: 10.1016/j.phrs.2017.03.016.
9. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes [Electronic resource] : Explanatory report, Strasbourg, 18.03.1986 / Council of Europe. – Strasbourg : Council of Europe Publ., 1987. – (European treaty series ; № 123). – Mode of access: <http://www.worldlii.org/int/other/treaties/COETSER/1986/1.html>. – Date of access: 12.09.2021.
10. Effect of fermented Cordyceps sinensis on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats / R. Wu [et al.] // Molecular Medicine Reports. – 2018. – Vol. 18, № 3. – P. 3229-3241. – doi: 10.3892/mmr.2018.9310.
11. Боголепов, Н. Н. Методы электронно-микроскопического исследования мозга / Н. Н. Боголепов. – Москва : [б. и.], 1976. – 72 с.

References

1. Markham MJ, Wachter K, Agarwal N, Bertagnolli MM, Chang SM, Dale W, Diefenbach CSM, Rodriguez-Galindo C, George DJ, Gilligan TD, Harvey RD, Johnson ML, Kimple RJ, Knoll MA, LoConte N, Maki RG, Meisel JL, Meyerhardt JA, Pennell NA, Rocque GB, Sabel MS, Schilsky RL, Schneider BJ, Tap WD, Uzzo RG, et al. Clinical Cancer Advances 2020: Annual Report on Progress against Cancer from the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol*. 2020;38(10):1081-1101. doi: 10.1200/JCO.19.03141.
2. Kalyanaraman B. Teaching the basics of the mechanism of doxorubicin-induced cardiotoxicity: Have we been barking up the wrong tree? *Redox biology*. 2020;29:101394. doi: 10.1016/j.redox.2019.101394.
3. Dadson K, Calvillo-Argüelles O, Thavendiranathan P, Billia F. Anthracycline-induced cardiomyopathy: cellular and molecular mechanisms. *Clin Sci*. 2020;134(13):1859-1885. doi: 10.1042/CS20190653.
4. Felker GM, Thompson RE, Hare JM, Hruban RH, Clemetson DE, Howard DL, Baughman KL, Kasper EK. Underlying causes and long-term survival in patients with initially unexplained cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2000;342(15):1077-1084. doi: 10.1056/NEJM200004133421502.
5. Ma W, Wei S, Zhang B, Li W. Molecular mechanisms of cardiomyocyte death in drug-induced cardiotoxicity. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:434. doi: 10.3389/fcell.2020.00434.
6. Sandamali JAN, Hewawasam RP, Jayatilaka KAPW, Mudduwa LKB. Dose dependent cardiac effects of doxorubicin in wistar rats: a biochemical and histopathological analysis. *IJPSR*. 2019;10(6):2700-2710. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.10(6).2700-10.
7. Podyacheva EY, Kushnareva EA, Karpov AA, Toropova YG. Analysis of models of doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats and mice. A modern view from the perspective of the pathophysiological and the clinician. *Front Pharmacol*. 2021;12:670479. doi: 10.3389/fphar.2021.670479.
8. Cappetta D, Rossi F, Piegari E, Quaini F, Berrino L, Urbanek K, De Angelis A. Doxorubicin targets multiple players: a new view of an old problem. *Pharmacol. Res*. 2018;127:4-14. doi: 10.1016/j.phrs.2017.03.016.
9. Council of Europe. Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes [Internet]. Explanatory report 18 Mar 1986. Strasbourg: Council of Europe Publ; 1987. (European treaty series; no. 123). Available from: <http://www.worldlii.org/int/other/treaties/COETSER/1986/1.html>
10. Wu R, Yao P, Wang H, Gao Y, Yu H, Wang L, Cui X, Xu X, Gao J. Effect of fermented Cordyceps sinensis on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Mol Med Rep*. 2018;18(3):3229-3241. doi: 10.3892/mmr.2018.9310.
11. Bogolepov NN. Metody jelektronno-mikroskopicheskogo issledovanija mozga [Methods of electron microscopic study of brain]. Moskva; 1976. 72 p. (Russian).

ULTRASTRUCTURAL REORGANIZATION OF THE MYOCARDIUM ON THE 60TH DAY AFTER DOXORUBICIN-INDUCED CARDIOMYOPATHY IN RATS

E. V. Fiodarava

Institute of Physiology of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus

Background. To assess the cardiotoxic effects of doxorubicin, it is of great importance to elucidate the nature and severity of tissue and cell damage, their ultrastructural changes, as well as to elucidate the features of myocardial remodeling in such conditions.

Objective. The aim of the study was a qualitative and quantitative analysis of ultrastructural changes in the myocardium on the 60th day after doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats.

Material and methods. Cardiomyopathy in rats was induced by doxorubicin given at a cumulative dose of 15 mg/kg for 14 days. The animals were removed from the experiment on the 60th day after last administered dose of the medicine. An electron microscopic research method was used. Ultrastructural analysis was performed using a JEM-100 CX microscope, and morphometric evaluation was done using the ImageJ data processing software.

Results. Ultrastructural disorders of the myocardium of rats on the 60th day after doxorubicin-induced cardiomyopathy were characterized by: alterative changes of contractile apparatus and nuclear compartment of cardiomyocytes, activation of autophagic and necrotic cell death and compensatory mitochondria hyperplasia with T-system channels dilation; a variety of reactive changes of capillary endothelium in the form of nuclear hypertrophy and organelle hyperplasia in some endothelial cells along with intracellular edema and destruction of organelles in others, which was accompanied by a significant decrease in cross-sectional area of capillaries; activation of fibroblasts with a formation of interstitial and perivascular fibrosis; activation of autophagy processes in cardiomyocytes, fibroblastic cells and capillary endothelium.

Conclusions. The established ultrastructural changes in the rat's myocardium on the 60th day after the doxorubicin-induced cardiomyopathy indicate the complex effect of metabolic and angiogenic mechanisms of pathology development. Activation of autophagy processes plays an important role in myocardial reorganization in the late stages of doxorubicin myocardial damage.

Keywords: doxorubicin-induced cardiomyopathy, ultrastructure, myocardium, reorganization, cell death, autophagy.

For citation: Fiodarava EV. Ultrastructural reorganization of the myocardium on the 60th day after doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2021;19(6):668-674. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2021-19-6-668-674>.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The author declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено в рамках диссертационной работы «Ультраструктурные механизмы и закономерности реорганизации миокарда при некоторых формах кардиомиопатий».

Financing. The study was performed within the framework of the dissertation "Ultrastructural mechanisms and patterns of myocardial reorganization in some forms of cardiomyopathies".

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Об авторе / About the author

Фёдорова Екатерина Викторовна / Fiodarava Ekaterina, e-mail: fedorovaekaterin@gmail.com, ORCID: 0000-0003-3592-6252.

Поступила / Received: 18.10.2021

Принята к публикации / Accepted for publication: 24.11.2021